



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL ROMATOİD ARTRİT MODELİNDE YÜZME EGZERSİZİNİN
ETKİLERİNİN VE MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUĞÇE YAVAŞ DURASILLI

Tez Danışmanı

PROF. DR. MUSTAFA EDREMİTLİOĞLU

ÇANAKKALE – 2022



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL ROMATOİD ARTRİT MODELİNDE YÜZME EGZERSİZİNİN
ETKİLERİNİN VE MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUĞÇE YAVAŞ DURASILLI

Tez Danışmanı

PROF. DR. MUSTAFA EDREMİTLİOĞLU

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 120S402

ÇANAKKALE – 2022



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Tuğçe YAVAŞ DURASILLI tarafından Prof. Dr. Mustafa EDREMİTLİOĞLU yönetiminde hazırlanan ve **25/01/2022** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Deneysel Romatoid Artrit Modelinde Yüzme Egzersizinin Etkilerinin Ve Mekanizmasının Araştırılması**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Fizyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS YETERLİK TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Mustafa EDREMİTLİOĞLU

(Danışman)

Prof. Dr. Vural KÜÇÜKATAY

Doç. Dr. Hüseyin Avni EROĞLU

.....

.....

.....

Tez No : 10446594

Tez Savunma Tarihi : 25/01/2022

.....
Doç. Dr. YENER PAZARCIK
Enstitü Müdürü

.././20..

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

(İmza)

Tuğçe YAVAŞ DURASILLI

(Tarih) .././20..

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince gerek derslerde gerekse zorlu tez sürecimde kıymetli bilgi ve deneyimleriyle yolumu aydınlatan; akademik hayatımda kendime örnek aldığım değerli danışman hocam Prof. Dr. Mustafa EDREMİTLİOĞLU'na,

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi birikimlerinden yararlandığım Fizyoloji Ana Bilim Dalı'ndaki değerli hocalarım Prof. Dr. Metehan UZUN ve Doç. Dr. Hüseyin Avni EROĞLU'na,

Tezimin deneysel aşamalarında büyük katkılar sunarak bilgisini ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Coşkun ZATERİ'ye,

Tezimin biyokimyasal analizlerinde yardımcı olan Biyokimya Ana Bilim Dalı'ndan kıymetli hocam Prof. Dr. Dilek Ülker ÇAKIR'a,

Çalışmamın histopatolojik analizlerinde yardımcı olan Çukurova Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'ndan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Leman SENCAR'a ve çalışmamın western blot analizinde yardımcı olan Akdeniz Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'ndan değerli hocam Öğr. Gör. Dr. Esmâ KIRIMLIOĞLU'na,

Tez sürecimin her aşamasında, bilgi ve tecrübelerini içtenlikle benimle paylaşarak bana en büyük desteği veren sevgili Öğr. Gör. Pınar YÜKSEL'e,

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli Arş. Gör. Mehmet Akif OVALI'ya,

Tezimin her aşamasındaki katkıları ve destekleri ile bu süreci kolaylaştıran başta Ufuk DEMİR ve Cemre AYDEĞER olmak üzere tüm Fizyoloji Ana Bilim Dalı'ndaki arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca aldığım her kararda, zorlandığım her durumda koşulsuz yanımda olan annem, babam, kardeşim ve eşime

Teşekkürlerimi sunarım.

Tuğçe YAVAŞ DURASILLI

Çanakkale, Ocak 2022

ÖZET

DENEYSEL ROMATOİD ARTRİT MODELİNDE YÜZME EGZERSİZİNİN ETKİLERİNİN VE MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI

Tuğçe YAVAŞ DURASILLI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa EDREMİTLİOĞLU

25/01/2022, 69

Bu çalışmada deneysel romatoid artrit (RA) modelinde yüzme egzersizinin, hastalığın gelişimi ve şiddetini nasıl etkilediği incelenmiştir. Bu amaçla 80 adet Wistar Albino sıçan kullanılmış ve bu sıçanlar aşağıdaki şekilde 3 gruba ayrılmıştır:

1. Kontrol grubu
2. Artrit grubu
3. Artrit + Egzersiz grubu

Complete Freud's Adjuvant (CFA) kullanılarak sıçanlarda adjuvanla uyarılan artrit (AIA) modeli oluşturulmuştur. Adjuvanın uygulandığı gün RA'nın pre-klinik döneminin başladığı kabul edilerek, Artrit + Egzersiz grubundaki sıçanlara yüzme egzersizi yaptırılmaya başlanmıştır. Yüzme egzersizi haftada 5 gün, günde 1 saat olacak şekilde 6 hafta boyunca devam etmiştir. Egzersiz protokolünün bitiminden 48 saat sonra, yani çalışmanın 42. gününde hayvanlar anestezi altında iken abdominal aortadan tek kullanımlık enjektör ile kan alınarak sakrifiye edilmiştir. Alınan kan örneklerinden plazma leptin, ve matriks metalloproteinaz (MMP) aktiviteleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. Eklem dokuları da hücresel infiltrasyon, pannus oluşumu ve kemik rezorpsiyonu açısından histopatolojik olarak incelenmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre yüzme egzersizinin, klinik skorlama ve pençe çapı ölçümleri ile hastalığın klinik seyrinde iyileşme sağladığı tespit edilmiştir. Radyolojik ve histopatolojik bulgular da egzersizin eklem, kemik ve yumuşak dokudaki hasarı azalttığını göstererek klinik skor bulgularını desteklemiştir. Aynı zamanda egzersizin artrit

sebepler olduğu kilo kaybı üzerinde de iyileştirici etkisi saptanmıştır. Plazma leptin, MMP-1, MMP-3 ve MMP-8 düzeylerinde anlamlı bir fark bulunamamasına karşın MMP-13 düzeyi egzersiz yapan sıçanlarda diğer gruplara göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar deneysel artrit modelinde düzenli yüzme egzersizi uygulamasının, hastalığın şiddetini belirgin olarak azalttığını göstermiştir. Romatoid artrit hastalarının yaşam kalitesini artırmak için yüzme egzersizinin iyi bir seçenek olduğunu söylemek mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Egzersiz, Artrit, Leptin, Matriks metalloproteinaz, Yüzme.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS AND MECHANISM OF SWIMMING EXERCISE IN EXPERIMENTAL RHEUMATOID ARTHRITIS MODEL

Tuğçe YAVAŞ DURASILLI

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Department of Physiology Master's Thesis

Advisor: Prof. Dr. Mustafa EDREMİTLİOĞLU

25/01/2022, 69

In this study, it was investigated how swimming exercise affects the development and severity of the disease in an experimental rheumatoid arthritis (RA) model. For this purpose, 80 Wistar Albino rats were used and these rats were divided into 3 groups as follows:

1. Control group
2. Arthritis group
3. Arthritis + Exercise group

The adjuvant-induced arthritis (AIA) model was created in rats using Complete Freud's Adjuvant (CFA). It was accepted that the pre-clinical period of RA started on the day the adjuvant was applied, and swimming exercise was started for the rats in the Arthritis + Exercise group. Swimming exercise continued for 6 weeks, 5 days a week, 1 hour a day. 48 hours after the end of the exercise protocol, that is, on the 42nd day of the study, the animals were sacrificed by drawing blood from the abdominal aorta with a disposable syringe while under anesthesia. Plasma leptin and matrix metalloproteinase (MMP) activities from blood samples were determined by ELISA method. Joint tissues were also examined histopathologically for cellular infiltration, pannus formation and bone resorption.

According to the results obtained from the study, it was determined that swimming exercise improved the clinical course of the disease with clinical scoring and paw diameter measurements. Radiological and histopathological findings also supported the clinical score findings by showing that exercise reduces damage in joints, bones and soft tissue. At the same time, exercise has been found to have a curative effect on weight loss caused by

arthritis. Although no significant difference was found in plasma leptin, MMP-1, MMP-3 and MMP-8 levels, MMP-13 levels were found to be significantly lower in exercised rats compared to other groups.

The results obtained from the study showed that regular swimming exercise practice significantly reduced the severity of the disease in the experimental arthritis model. It is possible to say that swimming exercise is a good option to improve the quality of life of rheumatoid arthritis patients.

Keywords: Exercise, Arthritis, Leptin, Matrix metalloproteinase, Swimming.



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1

1.1. Romatoid Artrit.....	2
1.1.1. Romatoid Artritin Tarihiçesi	3
1.1.2. Romatoid Artritin Epidemiyolojisi.....	4
1.1.3. Romatoid Artritin Etiyolojisi	5
1.1.4. Romatoid Artritin Patofizyolojisi.....	7
1.1.5. Romatoid Artritin Tanısı ve Bulguları.....	10
1.1.6. Romatoid Artritte Tedavi Yaklaşımları	13
1.2. Egzersiz.....	14
1.2.1. Fiziksel Aktivite ve Egzersiz.....	14
1.2.2. Yüzme Egzersizi	15
1.3. Leptin.....	15
1.3.1. Leptinin Yapısı.....	16
1.3.2. Leptin Reseptörleri.....	17
1.3.3. Leptinin Reseptör Aktivitesi	17
1.3.4. Leptinin Biyolojik Fonksiyonları.....	18
1.4. Matriks Metalloproteinazlar	20

İKİNCİ BÖLÜM
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 22

2.1.	Romatoid Artrit ve Egzersiz.....	22
2.2.	Romatoid Artrit ve Leptin.....	23
2.3.	Egzersiz ve Leptin.....	24

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA YÖNTEMİ 27

3.1.	Deney Hayvanlarının Seçimi ve Gruplandırılması.....	27
3.2.	Deneysel Romatoid Artrit Modelinin Oluşturulması.....	28
3.3.	Egzersiz Protokolü.....	28
3.4.	Veri Toplama Yöntemi.....	30
3.4.1.	Ağırlık Ölçümü.....	30
3.4.2.	Pençe Ölçümü.....	30
3.4.3.	Görsel Artrit Skorlaması.....	30
3.4.4.	Artritin Radyolojik Değerlendirmesi.....	31
3.4.5.	Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Alınması.....	31
3.4.6.	Histopatolojik Değerlendirme.....	32
3.4.7.	Biyokimyasal Değerlendirme.....	34
3.4.8.	Western Blot.....	36
3.4.9.	İstatistik.....	37

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA BULGULARI 38

4.1.	Vücut Ağırlığı Bulguları.....	38
4.2.	Pençe Çapı Ölçümündeki Değişiklikler.....	39
4.3.	Klinik Görsel Artrit Skorundaki Değişiklikler.....	40
4.4.	Radyolojik Bulgular.....	41
4.5.	Histopatolojik Bulgular.....	42
4.5.1.	Hücrel İnfiltrasyon Değerlerindeki Değişiklikler.....	42
4.5.2.	Pannus Oluşumu.....	43

4.5.3.	Kemik Rezorbsiyonu Üzerindeki Değişiklikler.....	44
4.6.	Biyokimyasal Bulgular.....	46
4.6.1.	Leptin, MMP-1, MMP-3, MMP-8 ve MMP-13 Düzeylerinin Belirlenmesi.....	46
4.6.2.	Eritrosit Sedimentasyon Hızındaki Değişiklikler.....	47
4.7.	Western Blot Analizi Bulguları.....	48

BEŞİNCİ BÖLÜM
TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER 50

5.1.	Tartışma.....	51
5.2.	Sonuç ve Öneriler.....	56
KAYNAKÇA		58
EKLER		I
EK 1. ETİK KURUL ONAY FORMU		I

SİMGELER VE KISALTMALAR

RA	Romatoid artrit
T _H 1	Yardımcı T hücresi-1
T _H 2	Yardımcı T hücresi-2
TNF- α	Tümör nekroz faktör-alfa
IL-1	İnterlökin-1
IL-2	İnterlökin-2
IL-5	İnterlökin-5
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
IL-17	İnterlökin-17
IFN- γ	İnterferon-gama
MMP	Matriks metalloproteinaz
Ig	İmmunoglobulin
RF	Romatoid faktör
ACPA	Anti-sitrüline protein antikoru
PTPN22	Protein tirozin fosfataz non-reseptör tip 22
PADI4	Peptidil arjinin deaminaz 4
CTLA4	Sitotoksik T lenfosit antijen 4
Fc γ Rs	Ig G için Fc reseptörleri
ACR	Amerikan Romatoloji Koleji
EULAR	Avrupa Romatizma ile Mücadele Ligi
ERA	Erken romatoid artrit
SLE	Sistemik lupus eritematozus
DMARD	Hastalığı modifiye eden anti-romatizmal ilaçlar
LEPR	Leptin reseptörü
JAK	Janus kinaz
STAT	Transkripsiyonun sinyal ileticileri ve aktivatörleri
POMC	Pro-opiomelanokortin
CART	Kokain-amfetaminle düzenlenen transkript
NPY	Nöropeptid Y
AgRP	Agouti ilgili nöropeptid

TIMP	Doğal doku inhibitörleri
LPS	Lipopolisakkarit
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
Treg	Regülatör T hücresi
mTreg	Bellek regülatör T hücresi
mTeff	Efektör bellek regülatör T hücresi
CFA	Complete Freud's Adjuvant
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
HRP	Yabanturbu peroksidaz enzimi
TMB	Tetra metil benzidin
OD	Optik dansite
ESR	Eritrosit sedimentasyon hızı
SH	Standart hata
AIA	Adjuvanla uyarılan artrit
CIA	Kollajenle uyarılan artrit
COMP	Kıkırdak oligomerik matriks proteini
CRP	Serum C-reaktif protein

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Matriks metalloproteinazların sınıflandırılması	20
Tablo 2	Deney hayvanlarının gruplandırılması	28
Tablo 3	Işık mikroskopik doku takip işlemi	32
Tablo 4	ELISA standartlarının hazırlanması	35
Tablo 5	Gruplara ait haftalık ağırlık değişimi verileri	38
Tablo 6	Gruplara ait pençe çap ölçümü verileri	39
Tablo 7	Gruplara ait radyolojik bulgular	42
Tablo 8	Gruplara ait histopatolojik bulgular	44
Tablo 9	Gruplara ait leptin, MMP-1, MMP-3, MMP-8 ve MMP-13 düzeyleri	46
Tablo 10	Ara dönemdeki deneklere ait leptin, MMP-1, MMP-3, MMP-8 ve MMP-13 düzeyleri	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Bir Gencin portresi, Sandro Botticelli. Ünlü ressamın eserinde parmak eklemlerinde artrit görünümü	4
Şekil 2	RA'nın etiopatogenezinde rol alan genetik ve çevresel faktörler	6
Şekil 3	Romatoid artritte inflamasyonlu bir eklemin genel anatomik özellikleri	8
Şekil 4	Kuşu boynu ve düğme iliği deformitesi	11
Şekil 5	Halluks valgus deformitesi	12
Şekil 6	Leptinin üç boyutlu yapısı	16
Şekil 7	Leptinin reseptör aktivitesi	18
Şekil 8	Yüzme egzersizi seansına ait bir görüntü	29
Şekil 9	Çalışmaya ait zaman çizelgesi	29
Şekil 10	Deneklerin ağırlık değişimlerinin gösterimi	39
Şekil 11	Grupların görsel artrit skorlamasının karşılaştırılması	41
Şekil 12	Deneklerin radyografi görüntülerinden örnekler	42
Şekil 13	Grupların hücresel infiltrasyon değerlerinin karşılaştırılması	43
Şekil 14	Grupların pannus oluşumu değerlerinin karşılaştırılması	43
Şekil 15	Grupların kemik rezorpsiyonu değerlerinin karşılaştırılması	44
Şekil 16	Artrit grubundan bir sıçana ait histopatolojik görüntü	45
Şekil 17	Artrit + Egzersiz grubundan bir sıçana ait histopatolojik görüntü	45
Şekil 18	Kontrol grubundan bir sıçana ait histopatolojik görüntü	45
Şekil 19	Eritrosit sedimentasyon hızı	48
Şekil 20	STAT3'ün western blot analiz sonucu	49
Şekil 21	pSTAT3'ün western blot analiz sonucu	49
Şekil 22	Western blot analizinin bantlaşma görüntüleri.	50

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Romatooid artrit (RA), yaygın olarak görülen kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Dünya nüfusunun %0,5- %1'inde görülmektedir (Tanoka, 2020). Klinik olarak hastalığın semptomları erken dönem ve geç dönemde önemli farklılıklar göstermektedir. Hastalar erken dönemde yorgunluk, hassas ve şişmiş eklemler ve sabah tutukluğu gibi genel hastalık semptomları gösterirken; yetersiz tedavi edilen geç dönemdeki hastalarda bu semptomların yanı sıra plevral efüzyonlar, akciğer nodülleri, vaskülit, hareket açıklığı kaybı da görülebilmektedir. Kronik inflamatuvar durumun yol açtığı bu sistemik semptomlar mortaliteyi artırmaktadır (Lin vd., 2020).

RA'de hastalığın aktivitesini kontrol edebilmek ve zararlı etkilerini yavaşlatmak için hastalık modifiye edici anti-romatizmal ilaç (DMARD) olarak bilinen ilaçlar kullanılmaktadır (Morinobu, 2020). Ancak, bu farmakolojik tedavinin fiziksel aktivite ile kombine edilmesi gerektiğini söyleyen çalışmalar vardır (Peres vd., 2017; Pope, 2020).

RA ve egzersiz ilişkisi literatürde pek çok çalışmaya konu olmaktadır. Bu çalışmalar genel olarak RA'lı hastaların hangi tür egzersizleri yapacağı ve bu egzersizlerin yoğunluklarının nasıl olması gerektiği sorularına cevap aramaktadırlar. Spesifik olarak kasın büyümesini uyarmak ve fiziksel zindeliği artırmak için yapılan bisiklet, hızlı yürüme, ağırlık aktarma egzersizleri yüksek yoğunluğa sahip dinamik egzersizler olup, eklem hasarına neden olabilmektedir. Dinamik egzersizler ile karşılaştırıldığında eklem üzerine daha az stres bindiren eklem hareket açıklığı ve germe egzersizleri ile izometrik egzersizler RA hastalarında daha fazla tercih edilmektedir (Van den Ende vd., 1996). Eklem üzerine az stres bindiren egzersizlerin başında gelen yüzme egzersizinin, RA hastalarında aerobik kapasiteyi ve kas gücünü artırdığı, bunun yanı sıra bağışıklık hücrelerinin düzenlenmesinde de etkili olduğu ileri sürülmüştür (Navarro vd., 2010).

1994 yılında ilk adipokin olarak keşfedilen leptinin, RA patogenezinde kritik rol oynadığını söyleyen çalışmalar mevcuttur (Mac Donald vd., 2019). İştahın düzenlenmesinde

önemli rolü olduğu bilinen leptin, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde de oldukça etkilidir. Doğal katil hücrelerinin sitotoksitesini ve granüositlerin, makrofajların, dendritik hücrelerin aktivasyonunu artırarak inflamasyonu şiddetlendirmektedir (Francisco vd., 2019). Leptin, T hücrelerinin yardımcı T hücresi-1 (T_{H1}) yönünde farklılaşmasını sağlayıp, bu hücrelerden tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), interlökin-6 (IL-6), interferon-gama (IFN- γ), interlökin-17 (IL-17) gibi proinflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu artırırken; yardımcı T hücresi-2 (T_{H2}) hücreleri üzerinde güçlü bir inhibitör etki göstermektedir. Yani; T_{H1}/T_{H2} dengesini, RA'da görüldüğü gibi, T_{H1} lehine bozmaktadır. Bu sebeple leptin, proinflamatuvar bir adipokin olarak kabul edilmektedir (Del Prete vd., 2014).

Literatürde leptin ile egzersiz ilişkisini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmaların büyük bir çoğunluğu egzersizin, özellikle yüzme gibi aerobik kapasiteyi artıran egzersizlerin, leptin seviyesini azalttığını ileri sürmektedir (Becic vd., 2018; Fedewa vd., 2018; Sun vd., 2019; Yu vd., 2017). Ancak bu çalışmaların aksine, egzersizin leptin seviyesini artırdığını ileri süren çalışmalar da mevcuttur (Higa vd., 2012; Uysal vd., 2017).

Leptinin proinflamatuvar bir sitokin gibi davrandığı göz önüne alındığında, RA'da egzersizin fiziksel fonksiyonun gelişmesi ve ağrı, yorgunluk, depresyon gibi semptomlarda düzelmeye sağlanması yanında, leptin seviyelerini etkileyerek anti-inflamatuvar etki ortaya çıkaracağı öngörülebilir.

Tüm bunların ışığında çalışmanın amacı:

1. Egzersizin deneysel RA modelinde artrit gelişimi ve şiddetine etkisini incelemek,
2. Egzersizin plazma leptin ve RA patogenezinde etkili olan matriks metalloproteinazların (MMP) düzeylerine etkisini incelemektir.

1.1. Romatoid Artrit

RA, kıkırdak ve kemik hasarının yanı sıra sakatlığa da neden olabilen kronik, inflamatuvar eklem hastalığıdır. Öncelikli olarak eklemleri tutar, ancak romatoid nodüller, pulmoner tutulum veya vaskülit gibi eklem dışı belirtileri ve sistemik komorbiditeleri içeren

bir sendrom olarak düşünölmelidir. RA, hem birey hem de toplum için önemli zorluklar yaratan kronik bir hastalıktır. Birey için bu zorluklar kas iskelet sistemindeki problemlere eşlik eden fiziksel fonksiyonda ve yaşam kalitesindeki düşüş iken; toplum için ise medikal bakım maliyetlerinin yanı sıra çalışma kapasitesi ve toplumsal katılımındaki düşüşü içermektedir. Hem bireysel hem toplumsal etkilenimin yüksek olduğu bu hastalıkta; erken tanı, tedaviyi acilen başlatma ve inflamasyon kontrolü ve sonuçta ortaya çıkan hasarı azaltmak veya önlemek için yeni tedavi stratejileri geliştirme çabası oldukça önemlidir (Smolen vd., 2016).

1.1.1. Romatoid Artrit'in Tarihçesi

Üç bin yıl önce yaşayan Amerika yerlilerinin vücutlarında RA ile uyumlu değişikliklerin bulunması, bu hastalığın eski çağlardan beri var olduğunu ve modern bir hastalık olmadığını göstermektedir (Rolleston ve Bart, 1925; Storey vd., 1994). Sir Alfred Garrod, ilk defa gut hastalığı ile diğer artritik durumları birbirinden ayırmıştır. Gut hastalığına sahip insanların kanında ürik asit bulunduğunu ancak diğerlerinde bulunmadığını göstermiştir. Böylece 1859 yılında gut dışında görölen artritik problemler, Sir Alfred Garrod tarafından “romatoid gut” olarak tanımlanmıştır. 1890 yılında ise Alfred Garrod'un oğlu Archibald Garrod tarafından yayımlanan bir kitapta, insan vücudundaki etkisini daha iyi anlattığı gerekçesi ile bu hastalık için “romatoid artrit” ismi kullanılmıştır (Entezami vd., 2011).

Bu bilim insanların çalışmalarının yanı sıra RA'nın eski çağlardan beri var olan bir hastalık olduğunu anlamamızda ünlü ressamın eserlerinin de önemli rolü vardır. Peter Paul Rubens, Jacob Jordaens, Sandro Botticelli gibi sanatçıların eserlerinde özellikle el bileği ve parmak eklemlerindeki artrit tutulumları resmedilmiştir (Entezami vd., 2011).



Şekil 1. Bir Gencin Portresi, Sandro Botticelli. Ünlü ressamın eserinde parmak eklemlerinde artrit görünümü

(<https://www.sanatinoykusu.com/deniz-kabugunun-icinden-cikan-venusun-yaraticisi-sandro-botticelli/> Erişim tarihi: 27.10.2021).

1.1.2. Romatoid Artrit'in Epidemiyolojisi

RA'nın Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da prevalansı %0,5-1'dir. Ancak RA'nın insidansı ve prevalansı zaman içinde toplumlar arasında değişiklik gösterebilir. Kuzey yarım kürede; kuzeyden güneye ve kentsel alanlardan kırsal alanlara gidildikçe hastalığın görülme sıklığı azalmaktadır. Bazı yerli Amerikalı kabilelerde prevalans oldukça yüksektir. Kadınlarda görülme sıklığı erkeklerdekinin en az iki katıdır. Hastalık her yaşta ortaya çıkabilmekle birlikte insidansının en yüksek olduğu yaş 50'dir (Kvien, 2004; Smolen vd., 2016).

Ülkemizde RA prevalansı ile ilgili ilk çalışma 1968 yılında İstanbul'da yapılmıştır. Ancak çalışmaya katılan popülasyonun %70'inin Balkanlar'dan yeni göçen insanlardan oluşması çalışmanın Türkiye'yi tam olarak temsil etmediğini düşündürmüştür. 2006 yılında yayımlanan bir başka çalışmada, RA prevalansı İzmir bölgesinde %0,36 olarak bulunmuştur (Akkoc ve Akar, 2006).

1.1.3. Romatoid Artrit'in Etiyolojisi

RA; immün bozukluk sebebi ile eklemlerde inflamasyon ve doku hasarı ile sonuçlanan, hem genetik hem de çevresel faktörlerin etiyopatogenezde rol oynadığı multifaktöryel bir hastalıktır (Taylor ve Narayan, 2018).

Genetik Faktörler

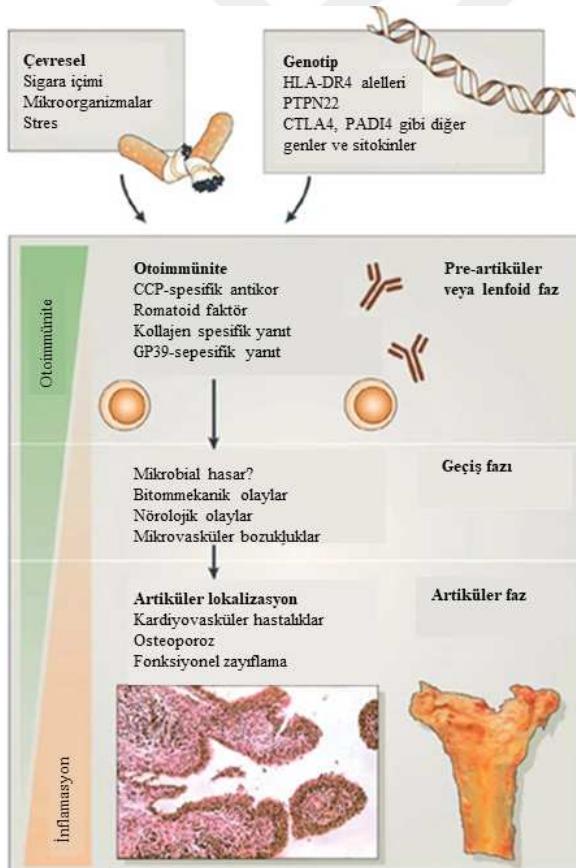
Genetik faktörlerin RA'nın etiyolojisinde önemli bir rol oynadığı literatürde açıkça belirtilmiştir. RA hastalarının birinci derece akrabalarında, özellikle romatoid faktör (RF) pozitif ise, RA'nın görülme sıklığında bir artış olduğu saptanmıştır. Tek yumurta ikizleri ile yapılan çalışmalarda, ikizlerden birinde hastalık varsa diğersinin hasta olma riskinin %30-50 arttığı saptanmıştır. Bu bulgu genetik olmayan faktörlerin de hastalık patogenezine katkıda bulunabileceğini göstermiştir (Harris vd., 2006; Taylor ve Narayan, 2018).

RA ile ilgili yapılan genetik çalışmalarda, hastalık ile ilişkili olduğu düşünülen pek çok genetik lokus tanımlanmıştır. İnsan lökosit geni olarak bilinen HLA geninin HLA-DR4 allelleri, PTPN22 (protein tirozin fosfataz non-reseptör tip 22), PADI4 (peptidil arjinin deaminaz 4), CTLA4 (sitotoksik T lenfosit antijen 4) ve FcγRs (Ig G için Fc reseptörleri) bu genetik lokuslardan bazılarıdır. Bunlar arasında RA ile en önemli ilişki HLA-DR4 allelleri arasında saptanmıştır. HLA-DR4 geni en az 22 allelden oluşmaktadır ve bu allellerden RA ile ilişkili bulunanların hepsinde, 70-74. aminoasitlerin diziliminin glutamin – lösin – arjinin – alanin- alanin şeklinde olduğu görülmektedir. Bu bölüm 'ortak epitop' olarak isimlendirilmiştir. Ortak epitopun varlığının, hastalığın destrüktif etkileri ile ilişkili olduğu

ve sigara kullanımı ile bağlantılı olarak anti-sitrüline protein antikoru (ACPA) pozitif RA gelişimi riskini artırdığı kanıtlanmıştır (Bowes ve Barton, 2008; McInnes ve Schett, 2007).

Çevresel Faktörler

RA'nın etiopatogenezinde genetik faktörlerin yanında çevresel faktörlerin varlığının da önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Çok sayıda mikroorganizmanın genetik yatkınlığı bulunan bireylerde hastalık gelişimi riskini artırdığı bulunmakla birlikte sigara kullanımı HLA-DR4 pozitif bireylerde hastalık gelişiminde halen en önemli çevresel risk faktörü olarak bilinmektedir (McInnes ve Schett, 2007). Sigara kullanımı özellikle seropozitif olarak adlandırılan ACPA ve RF' nin pozitif olduğu RA ile ilişkili bulunmuştur (Pedersen vd., 2006).

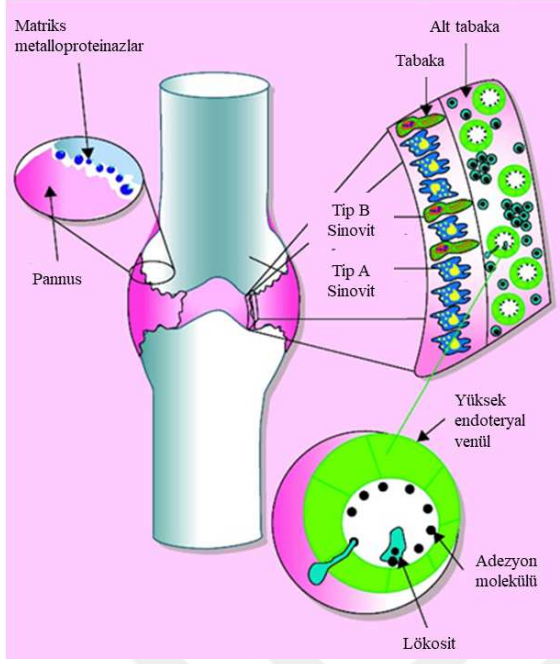


Şekil 2. RA'nın etiopatogenezinde rol alan genetik ve çevresel faktörler (McInnes ve Schett, 2007).

Ağız boşluğu, üst solunum yolu ve bağırsağın mukozal yüzeylerinde patojen mikroorganizmalar bulunabilmektedir. Bu mikroorganizmaların bağışıklık sistemini RA'ya yatkınlık geliştirebilecek şekilde değiştirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Örneğin RA ve periodontit arasında Porphyromonas gingivalis bakterisinin neden olduğu bir ilişki tespit edilmiştir. Bunun dışında Human parvovirus B19, rubella virüs, human retrovirus 5, hepatit B virüsü, Epstein–Barr virüsü, borrelia burgdorferi, mycoplasma, mycobacterium tuberculosis, escherichia coli gibi mikroorganizmaların da genetik yatkınlığı bulunan bireylerde hastalık gelişimini etkileyebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak tüm bunlar devam eden araştırmaların konusu olup; hastalık ile ilişkileri açıklanmaya çalışılmaktadır (Jethwa ve Abraham, 2017).

1.1.4. RA'nın Patofizyolojisi

RA patofizyolojisinin merkezinde sinovyum inflamasyonu yer almaktadır. Sinovyal tabakanın iki hücre katmanı bulunmaktadır. Bunlardan ilki intimal lining tabakası adı da verilen iç tabaka, diğeri ise sublining tabakası adı verilen dış tabakadır. İntimal lining tabakası, makrofaj benzeri sinoviyositler (Tip A) ve fibroblast benzeri sinoviyositler (Tip B)'den oluşmaktadır. Kemik iliğinden köken alan Tip A hücreleri IL-1, TNF- α gibi RA patogeneğinde önemli sitokinleri salgılayanın yanı sıra immün sistem hücrelerinin göç etmesinde etkili olan anjiyogeneze de sorumludur. Oluşan yeni kan damarları kıkırdak ve kemik komşuluğunda daha derin alanlara ilerledikçe daha fazla hasar oluşur. Mezenkimal kökenli Tip B hücreleri ise sitokinler, MMP ve araziidonik asit metabolitleri gibi pek çok inflamatuvar ve yıkım mediyatörlerini sentezlerler. Bu moleküllerin sentezlenip salgılanmasını sağlayarak kıkırdak ve kemik yıkımında birincil rol oynarlar (Lee ve Weinblatt, 2001).



Şekil 3. Romatoid artritte inflamasyonlu bir eklemın genel anatomik özellikleri (Lee ve Weinblatt, 2001).

Hastalığın erken döneminde sinovyumda değişiklikler başlar ve hastalığın kronikleşmesiyle birlikte de bu değişiklikler farklılaşır. Tip A ve Tip B sinoviyositler sinovyumun kısa süre içinde hiperplastik bir görünüme ulaşmasını sağlar. İntimal lining tabakasında bu değişimler olurken, sublining tabakasında da CD4+ T lenfositler, B lenfositler, makrofajlar ve plazma hücrelerinin yoğun infiltrasyonu ile hücre sayısı ve içeriğinde çarpıcı değişiklikler görülür. Giderek hipertrofik hale gelen sinovyal doku lokal olarak kemik ve kıkırdak dokulara doğru invaze olmaya başlayan karakteristik pannus dokusunu oluşturur. Pannus, histolojik olarak sinovyal dokudan farklı özellikte yapılıdır. Yüksek seviyelerde MMP üreten mononükleer hücreler ve fibroblast benzeri hücreler içerir. Eklem kıkırdığının, subkondral kemik yapının, tendon ve ligamentlerin aşınmasına neden olur (Lee ve Weinblatt, 2001).

Hastalığın merkezindeki sinovyal inflamasyonu neyin tetiklediği bilinmemektedir. İnflamatuvar sürecin yardımcı T lenfositler adıyla da bilinen CD4+ T lenfositlerin sinovyal dokudaki antijenleri tanımları sonucu başladığı ileri sürülmektedir. CD4+ T lenfositler

antijen ile doğrudan ilişki kuramaz, dendritik hücreler gibi antijen sunucu hücrelerin antijeni yakalayıp işleyerek hücre yüzeyinde sunması ile antijeni tanırlar. Böylece aktive olan yardımcı T lenfositler (CD4+) interferon gama (IFN- γ), IL-2, IL-17 gibi sitokinleri sentezleyerek; diğer T lenfosit hücrelerini, makrofajları ve fibroblastları uyarır. IL-2 otokrin büyüme faktörü görevi görerek aktif T lenfositlerin klonal çoğalmasında rol oynar. CD4+ T lenfositlerinin aktive ettiği makrofajlardan ise IL-1 ve TNF- α gibi RA patogenezinde oldukça önemli olan sitokinler sentezlenmektedir (Yang vd., 2019).

B lenfositler, yardımcı T lenfositlerin aktive etmesi ile plazma hücrelerine dönüşmektedir. Plazma hücrelerinden de immunoglobulin (Ig), RF ve ACPA salgılanır ve bu Ig'ler sinovyal membran, sinovyal sıvı ve eklem kıkırdağındaki antijenlerle birleşerek immün kompleksleri oluştururlar. İmmün komplekslerin oluşumuyla eklem boşluğunda kompleman aktivasyonu yolu ile kemotaktik faktörler sentezlenir. Bu kemotaktik faktörler damar geçirgenliğini artırarak polimorfonükleer lökositlerin ve monositlerin toplanmasına neden olur. Kemotaksik sinyaller T lenfositlerine nereye gitmeleri gerektiğini bildirir (Yang vd., 2019; Weyand, 2000; Volkov ve Schie, 2019).

RA'daki fonksiyon kaybı eklem kıkırdağındaki geri dönüşümsüz hasarın bir sonucudur. Sağlıklı eklem kıkırdağı, oldukça organize bir kollajen ve proteoglikan ağından oluşur. Proteoglikanlar, hücresel tabakanın oluşmasında rol alan ve çeşitli hücre dışı moleküllere bağlanan, glikozaminoglikanlar olarak adlandırılan kovalent bağlı özel polisakkarit zincirleri içeren bir glikoprotein grubudur. Tip II kollajen fibrilleri kıkırdak içerisinde en çok bulunan kollajenlerdir. Proteoglikan matriks içinde rastgele konumlandırılmışlardır ve matrikse dayanıklılık sağlarlar. Fizyolojik koşullarda eklemdeki matriks proteinlerinin sentezi ve yıkımı sitokinler ve büyüme hormonları tarafından dengede tutulmaktadır. Ancak RA'da bu denge yıkım lehine bozulur. Makrofajlardan salınan IL-1 ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinler pannusta bulunan fibroblast benzeri sinoviyositleri uyararak matriks metalloproteinazlar olarak bilinen ve kıkırdak hasarında önemli rol oynayan yıkıcı enzimlerin salınmasına neden olur (Burrage ve Mix, 2006).

1.1.5. Romaoid Artrit'in Tanısı ve Bulguları

Kronik, otoimmün bir hastalık olan RA'da, eklem hasarını ve fiziksel sakatlığı önlemek için erken tanı ve tedavi oldukça önemlidir. RA, başlangıçta genellikle az sayıda şişmiş eklem, sabah tutukluğu, yorgunluk gibi spesifik olmayan yapısal semptomlarla kendini göstermektedir. Erken dönemde eklem tutulumu asimetrik olabilir ve poliartiküler olmayabilir. Tipik simetrik poliartrit hastalığın ilerleyen dönemlerinde görülmektedir. Bu nedenle tanının erken dönemde konulabilmesi oldukça zordur (Burmester ve Pope, 2017).

Son yıllarda RA'nın erken dönemde belirlenebilmesine yardımcı yeni biyobelirteçler ve RA için geliştirilen yeni sınıflandırma kriterleri ile erken dönemde tanı konulabilmesine ilişkin gelişmeler kaydedilmiştir (Atzeni vd., 2017).

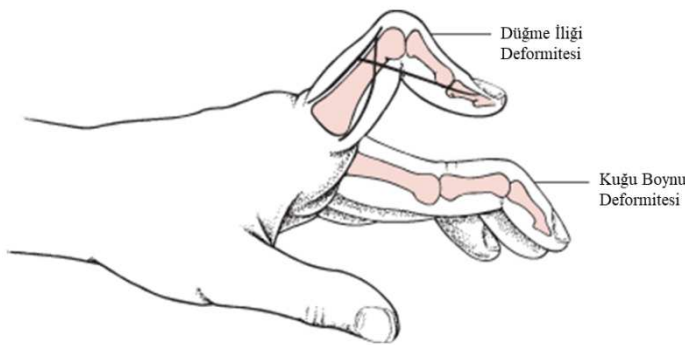
RA'da altın tanı kriteri yoktur. Klinik pratikte RA tanısı koymak için 1987 Amerikan Romatoloji Koleji (ACR) sınıflandırma kriterleri yaygın olarak kullanılmaktadır ancak; bu kriterler RA'nın erken tanısı için duyarlı değildir. 1987 ACR tanı kriterlerinin RA'nın erken tanısındaki düşük değerini iyileştirmek için, ACR ve Avrupa Romatizma ile Mücadele Ligi (EULAR) birlikte 2010 yılında RA için yeni sınıflandırma kriterleri geliştirmişlerdir. Bu kriterler, 1987 ACR kriterlerine göre daha duyarlı olmakla birlikte özgünlüğünün düşük olması sebebiyle gereksiz tanı konulmasına yol açmaktadır. 2014 yılına gelindiğinde ise Erken RA (ERA) kriterleri adında yeni bir sınıflandırma önerilmiştir. Bu yeni sınıflandırma sabah tutukluğu, poliartrit, el eklemlerinin artrit, pozitif RF ve pozitif ACPA gibi kriterleri içermektedir (Atzeni vd., 2017).

Romatoid faktör, insan Ig G moleküllerinin Fc bölgesine karşı gelişen antikordur. İlk kez 1940 yılında RA'lı hastaların serumlarında saptanmıştır. RA hastalarının %70-80'inde pozitif olduğu gösterilmiştir. Pozitif ve yüksek titreye sahip hastalarda hastalığın daha ağır seyrettiği ve romatoid nodüllerin daha sık görüldüğü bulunmuştur. Ancak RF bu hastalık için spesifik değildir. Sistemik lupus eritematozoz (SLE), skleroderma, gut gibi başka romatizmal hastalıklarda görülebildiği gibi AIDS, influenza gibi viral enfeksiyonlar ile

tüberküloz, lepra gibi kronik bakteriyel enfeksiyonlarda da görülebilir (Shmerling ve Delbanco, 1991).

RA'nın erken dönemde belirlenebilmesi için önemli olan bir diğer biyobelirteç ACPA'dır. Bu biyobelirteç RA'nın kesin ve erken tanısında yararlı olmanın yanında hastalığın takibinde de kritik öneme sahiptir. ACPA, klinik semptomlar kaydedilmeden çok önce gelişir ve hastalar erken dönemde ACPA pozitif ve negatif olmak üzere ikiye ayrılırlar. Zamanla ACPA pozitif grupta daha fazla kemik erozyonu gelişir ve hastalık daha şiddetli ilerler. Özellikle sigara kullanımı gibi çevresel faktörler ACPA gelişimi riskini artırır (Atzeni vd., 2017).

RA'nın klinik görünümü her hastada farklı olabilmektedir ancak; sinsi başlangıçlı bir ağrı ve küçük eklemlerin simetrik şişliği en sık görülen bulgulardır. Erken dönem RA'da, radyolojik görüntülerde bir değişiklik olmaksızın el ve ayaklardaki küçük eklemleri tutan simetrik poliartrit görülebilmektedir. En sık tutulan eklemler; metakarpofalangeal, proksimal interfalangeal ve el bileği eklemleridir. Bu eklemlerde başlayan sinovit, palpasyonda karakteristik bir şişme ve hareket bozukluğu olarak görülmektedir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde çeşitli deformiteler görülebilmektedir. Parmak eklemlerinde ve tendonlarında yaygın olarak görülen "düğme iliği deformitesi" ve "kuğu boynu deformitesi" örnek olarak verilebilir (Littlejohn ve Monrad, 2018).



Şekil 4. Kuğu boynu ve düğme iliği deformitesi.

(<https://www.msmanuals.com/professional/musculoskeletal-and-connective-tissue-disorders/hand-disorders/swan-neck-deformity>. Erişim Tarihi: 06.11.2021).

Metatarsofalangeal eklemlerin sinoviti, radyolojik görüntülerde erozyonların görülmeye başladığı eklemlerden ilki olması ile RA'nın işareti olma özelliği taşımaktadır. Metatarsofalangeal eklemin etkilenimi ağrılı ve sakatlayıcı olabilmektedir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde valgus deformitesi ve düz tabanlık problemleri görülebilmektedir (Littlejohn ve Monrad, 2018).



Şekil 5. Halluks valgus deformitesi

(https://www.physio-pedia.com/Hallux_Valgus Erişim Tarihi: 06.11.2021).

Hastaların %70-80'inde diz eklemi tutulumu görülmektedir. Hastalığın erken döneminde hedef eklem olmasa da ilerleyen dönemlerde belirgin tutulum gösterebilmektedir (Grassi vd., 1998).

Sakroiliak ve lomber omurga eklemleri nadiren tutulur. Bu eklemler ankilozan spondilit gibi seronegatif spondilartropatilerin hedef eklemleridir. Bunların dışında RA'da eklem dışı tutulumlar da görülebilmektedir. Romatoid nodüller, romatoid vaskülit, akciğer tutulumu ve kardiyak tutulum bunlardan bazılarıdır (Grassi vd., 1998).

1.1.6. Romatoid Artrit'te Tedavi Yaklaşımları

RA tanısı 1990'lara kadar; ilerleyici eklem hasarı, azalmış yaşam beklentisi, erken işsizlik ve önemli sakatlıklara yol açarak yıkıcı sonuçlara neden olmuştur. O dönemlerde tedavideki ana hedef semptomların giderilmesi olmaktadır. Tedavi, yatak istirahati ve non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlarla başlamaktadır. Hastalığın ilerlemesini takiben DMARD tedaviye eklenmektedir. DMARD grubu ilaçların da sentetik ve biyolojik çeşitleri bulunmaktadır. Bunların yanı sıra janus kinaz (JAK) inhibitörleri de anti-romatizmal etki için kullanılmaktadır (Burmester ve Pope, 2017).

Bugün, herhangi bir hastalık durumunda tedavinin amacı öncelikle remisyona ulaşmaktır. Remisyona ulaşma ihtimalinin olmadığı durumlarda ise mümkün olan en düşük hastalık aktivitesine ulaşmak hedeflenmektedir. RA'da tedavi, akciğer ve kardiyak tutulumlar gibi sistemik tutulumları önlemenin yanı sıra; eklem hasarı ve sakatlıktan da kaçınmayı amaçlamaktadır (Burmester ve Pope, 2017).

Literatüre bakıldığında RA tedavisi ile ilgili çalışmaların sayısının oldukça fazla olduğu görülmektedir. Erken dönemde tanı konulmasının ve tedaviye başlanmasının önemi pek çok çalışmada vurgulanmıştır (Wen ve Chai, 2021). Tedavide romatolog, fizik tedavi hekimi, fizyoterapist, diyetisyen ve psikolog gibi farklı disiplinlerden profesyonellerin bir arada olduğu multidisipliner bir yaklaşım önerilmektedir. Bu yaklaşımın hastaların fiziksel ve psikososyal durumlarında olumlu etkiler yarattığı bildirilmiştir (Meesters vd., 2013).

DMARD grubunda yer alan çeşitli ilaçların hastalığın seyrinde klinik ve radyolojik olarak önemli kazanımlar sağladığı gerçeğine rağmen hastaların önemli bir kısmı fiziksel, duygusal ve sosyal işlev sorunları bildirmektedir. Bu sebeple farmakolojik tedavilerin yanı sıra farmakolojik olmayan tedavi seçenekleri de önerilmektedir. Bunlar terapötik hasta eğitimi, egzersiz, ortez ve diyet düzenlemelerini içeren tedavilerdir (Küçükdeveci, 2019).

Terapötik hasta eğitimi ile bireylerin hastalıklarını ve tedavisini tanıyıp anlaması ve hastalığın getirdiği problemlerle baş edebilmeyi öğrenmesi hedeflenir. Farmakolojik olmayan tedavinin en önemli bileşeni olan fiziksel egzersiz eğitimine geçmeden önce böyle bir eğitimin verilmesi tedaviden alınacak yararın artmasını sağlamaktadır (Küçükdeveci, 2019).

1.2. Egzersiz

1.2.1. Fiziksel Aktivite ve Egzersiz

Pedersen ve Saltin'in 2015 yılında yayımladıkları derlemede, RA'nın da dahil olduğu 26 farklı kronik hastalığın tedavisinde ilaç olarak egzersizi reçetelemenin önemi vurgulanmaktadır. Egzersiz tedavisinin medikal tedavi kadar, bazı durumlarda daha da fazla etkili olduğu bildirilmektedir (Pedersen ve Saltin, 2015).

Fiziksel aktivite, “enerji harcanması ile sonuçlanan ve iskelet kasları tarafından meydana getirilen herhangi bir hareket” olarak tanımlanır. Egzersiz ise planlı ve tekrar gerektiren aktiviteler bütünü olup fiziksel aktivitenin bir alt kategorisidir. Egzersiz fiziksel zindeliği geliştirmeyi hedefler. Terapötik egzersiz ise, belirli fonksiyonel sağlık problemlerini çözmeyi amaçlayan spesifik egzersizlerdir (Osthoff vd., 2018).

Fiziksel aktivite ve egzersiz RA'da non-farmakolojik tedavinin önemli bileşenleridir (Küçükdeveci, 2019). RA'lı hastaların tedavisinde egzersizin şiddetinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Spesifik olarak kasın büyümesini uyarmak ve fiziksel zindeliği arttırmak için yapılan bisiklet egzersizleri, hızlı yürüme egzersizleri ve dizlerin bükülmesiyle ağırlık aktarma şeklinde yapılan egzersizler gibi yüksek yoğunluğa sahip dinamik egzersizler eklem hasarına neden olabilmektedir. Bu yüzden nispeten eklem üzerine daha az stres bindiren eklem hareket açıklığı egzersizleri, izometrik egzersizler, germe egzersizleri gibi ağırlıksız egzersizler tercih edilebilir (Van den Ende vd., 1996).

RA'lı hastalar için egzersiz programları her hastanın kısıtlılıkları göz önünde bulundurularak, eklemi koruyan ve enerji korunumunu sağlayan egzersizleri içermelidir. Güvenli ve etkinliğinin yüksek olması sebebiyle yüzme egzersizi sıklıkla önerilmektedir (Siqueira vd., 2017). Yüzme, artrit hastaları için ideal bir aerobik egzersizdir. Yüzme egzersizinin RA'lı hastalarda kas gücünü ve aerobik kapasiteyi artırmasının yanı sıra bağışıklık hücrelerinin düzenlenmesinde de etkili olduğu bulunmuştur (Navarro vd., 2010).

1.2.2. Yüzme Egzersizi

Yüzme, uzun zamandır popüler olan rekreasyonel bir aktivitedir ancak son zamanlarda kardiyovasküler sağlığın sürdürülmesinde ve iyileştirilmesinde de etkili bir seçenek olarak görülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yüzme, en popüler spor aktivitesi olarak yürümenin ardından ikinci sırada yer almaktadır (Lazar vd., 2013).

Yüzme egzersizinin kronik hastalıklarda etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur. Osteoartritli ve RA'lı hastalarda yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre; yüzme egzersizi eklem ağrısı ve sertliğini azaltmada, fiziksel fonksiyonu ve yaşam kalitesini iyileştirmede etkilidir. Bunların yanı sıra propriosepsiyonun ve eklem stabilitesinin iyileştirilmesine katkı sağlamaktadır. Ayrıca anti-inflamatuvar etkileri bulunmaktadır (Alkatan vd., 2016; Else vd., 2016; Lambova, 2018).

1.3. Leptin

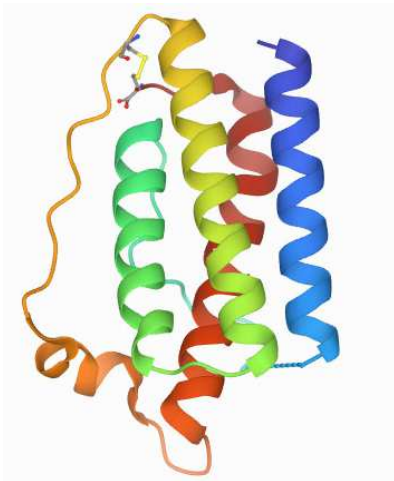
Yağ dokusu, kahverengi ve beyaz olmak üzere iki çeşit ile kategorize edilmektedir. Kahverengi yağ dokusu yetişkin bir insan vücudunda düşük seviyede görülürken beyaz yağ dokusu yüksek seviyede görülmektedir. Literatürde pek çok çalışma beyaz yağ dokusunun metabolik olarak aktif sekreteruar bir endokrin organ olduğunu vurgulamaktadır (Proença vd., 2014; Vazquez-Vela vd., 2008). Beyaz yağ dokusu adipokin ve sitokin üreten, salgılayan hücreler içermektedir (Rajesh ve Sarkar, 2021). Yağ dokudan salgılanan leptin, adiponektin,

visfatin, vaspin, RBP4, apelin, omentin, lipokalin gibi birçok farklı adipokin tanımlanmıştır. Bu adipokinler arasından ilk tanımlanan ise leptindir (Fasshauer ve Bluher, 2015).

1.3.1. Leptinin Yapısı

Yunanca “leptos” kelimesinden gelen leptin, Friedman ve ekibi tarafından 1994 yılında ilk adipokin olarak keşfedilmiştir. 16 kDa ağırlığa sahip, 167 amino asit büyüklüğünde peptid yapıda bir hormondur. Leptin geni (LEP veya ob) kromozom 7q31.3 üzerinde bulunmaktadır ve ratlardaki obez geninin (ob) insanlardaki homologudur (Dornbush ve Aeddula, 2020; Münzberg ve Morrison, 2015). İnsan leptin geni fare ve rat leptin geni ile sırasıyla %84 ve %83 oranında benzerlik göstermektedir (Houseknecht ve Portocarrero, 1998).

Leptin dörtlü sarmal bir yapıya sahiptir ve yapısal özelliklerinden dolayı helikal sitokin ailesi üyelerine benzetilmektedir. Kanda serbest ve proteine bağlı olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Leptinin aktivitesinden serbest formunun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Obez bireylerde serumdaki leptinin büyük bir kısmı serbest formdadır (Aslan vd., 2004).



Şekil 6. Leptinin üç boyutlu yapısı

(<http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1AX8> Erişim Tarihi: 10.05.2021).

Ağırlıklı olarak yağ dokusunda üretilen ve buradan dolaşıma verilen leptin, plasenta, ovaryumlar, epitel doku, kemik iliği ve lenfoid dokuda da düşük miktarda üretilebilmektedir (Paz-Filho vd., 2012). Leptin ekspresyonu ve sekresyonunu düzenleyen pek çok faktör bulunmaktadır. İnflamatuvar sitokinler, glukokortikoidler ve insülin bunlardan bazılarıdır (Münzberg ve Morrison, 2015).

1.3.2. Leptin Reseptörü

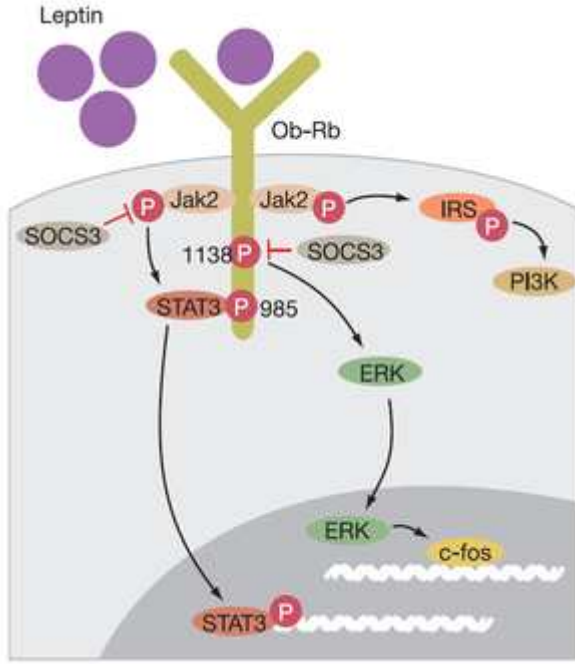
Leptin fizyolojik aktivitesini sınıf 1 sitokin reseptör ailesinin bir üyesi olan leptin reseptörü (LEPR) ile gerçekleştirmektedir. İnsan leptin reseptör geni kromozom 1 üzerinde bulunmaktadır (Snoussi vd., 2006). Leptin reseptörünün aynı hücre dışı bağlanma alanlarına sahip ancak sitoplazmik alanlarının uzunluğu farklı olan altı tane izoformu vardır. Bu izoformlar; tek uzun izoform olan Ob-Rb, dört kısa form (Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Rf) ve solubl form olan Ob-Re'dir. Uzun izoform olan Ob-Rb temel olarak normal leptin aktivasyonuna ve kritik ikinci haberci yollarının aktivasyonuna aracılık etmektedir (Münzberg ve Morrison, 2015).

1.3.3. Leptinin Reseptör Aktivitesi

Leptin hem merkezi sinir sisteminde hem de periferde yer alan reseptörleri aracılığı ile çeşitli fizyolojik etkilerini ortaya koymaktadır (Sweeney, 2002). Leptin reseptörleri insanlarda hücre dışında Trp-Ser-Xaa-Trp-Ser amino asit dizisini içerirken, sitoplazmik alanda JAK ve transkripsiyonun sinyal iletilicileri ve aktivatörleri (STAT) etkileşimi gösteren bölgelere sahiptirler. JAK/STAT sinyal yolu reseptördeki spesifik serin ve tirozin bölgelerinin fosforillenmesi ile aktive olmaktadır. Leptin, reseptörüne bağlandığında Ob-Rb ilişkili JAK2 ile fosforilasyona uğrayarak aktive olur ve aktif olan tirozin, reseptörün sitoplazmik kısmını fosforile eder. JAK2 aktive edildiğinde üç tirozin kalıntısı (Tyr985, Tyr1077, Tyr1138) fosforile edilir. Her bir tirozin fosforilasyon bölgesi diğer farklı sinyalizasyon proteinlerini içerir. Bu proteinler STAT3 gibi STAT üyesi proteinlerdir. Sitoplazmik alanda membrana en uzak noktadaki fosforillenmiş olan tirozinlerin dördüncüsü

(Tyr-1138) STAT3'ü aktive eder (Garofalo ve Surmacz, 2006; Kwon vd., 2016). Böylece leptin, JAK2/STAT3 yolağını kullanarak pek çok biyolojik etkisini gösterir.

Leptin reseptörü JAK/STAT yolağına ek olarak ERK1/2, p38, JNK, PKC gibi farklı yolakları da kullanır (Scotece ve Mobasher, 2015).



Şekil 7. Leptinin reseptör aktivitesi (<https://www.enzolifesciences.com/platforms/cellular-analysis/metabolism/obesity-adipokines/leptin/> Erişim tarihi: 04.12.2021).

1.3.4. Leptinin Biyolojik Fonksiyonları

Leptin salgılandıktan sonra yağ dokuda depolanan toplam vücut enerjisinin ve enerji alımındaki akut değişikliklerin önemli bir belirteci olarak kanda hareket eder. Kısa leptin reseptörü izoformu ile kan beyin bariyerini geçerek aktivitelerinin çoğunluğunu gerçekleştirdiği hipotalamusa geçer. Spesifik olarak supraoptik nükleus, paraventriküler nükleus, periventriküler nükleus, arkuat nükleus ve lateral hipotalamus üzerinde etki eder. Hipotalamusta pro-opiomelanokortin (POMC) ve kokain-amfetaminle düzenlenen transkript (CART) adlarıyla bilinen anaroksijenik peptidleri sentezleyen nöronları aktive ederek

kompleks bir etkileşime girer. Bu etkileşimle eş zamanlı olarak nöropeptid Y (NPY) ve agouti ilgili nöropeptid (AgRP) salgılayan oroksijenik nöronların aktivitesini baskılar. Leptinin hipotalamustaki bu etkisi ile, majör oroksijenik hormon olan ghrelinin etkisini dengelemekten sorumlu olduğu anlaşılmaktadır (Triantafyllou vd., 2016).

Leptinin iştahı düzenlemedeki anahtar rolünün yanı sıra üreme, glikoz homeostazı, hematopoez, anjiyogenez, osteogenez, yara iyileşmesi ve inflamasyon gibi immün ve endokrin sistemde de çeşitli rolleri vardır (Paz-Filho vd., 2012). Leptinin memelilerdeki bağışıklığı düzenleyici rolü makrofaj ve monositlerin fagositik, inflamatuvar ve sitotoksik aktiviteleri üzerindeki uyarıcı etkisi ile 21. yüzyılın başlarında ortaya çıkmıştır. Ardından leptinin bağışıklık sistemi ile ilişkisini daha kapsamlı bir şekilde inceleyen çalışmalarda fagositik hücrelerin yanı sıra B ve T lenfositlerin de proliferasyonunu ve farklılaşmasını kontrol ettiği bulunmuştur. Leptinin makrofajların, antijen sunumunda önemli dendritik hücrelerin, doğal katil hücrelerinin, nötrofillerin, eozinofillerin ve bazofillerin işlevlerini düzenlemesinin yanı sıra; CD4⁺T, Th17, CD8⁺T ve B hücrelerinin de sayılarında ve hayatta kalımlarında artış sağladığı bildirilmiştir. Leptin, kültürlenmiş monosit hücrelerinde TNF- α ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin ve reaktif oksijen türlerinin üretimini uyarır. Makrofajlar tarafından kemokinlerin üretimini uyarır ve Th1/Th2 dengesini Th1 yönünde değiştirir. Fernández-Riejos ve arkadaşlarının 2010 yılında yayımladıkları bir çalışmada enfeksiyonlarla birlikte leptin seviyesinin arttığı bildirilmiş ve bu durum araştırmacılara leptinin konak savunmasında koruyucu rolünün olduğunu düşündürmüştür. Pro-inflamatuvar bir adipokin olarak kabul edilen leptin, bağışıklık sisteminin güçlü bir düzenleyicisidir.

Multiple skleroz, SLE, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklar yüksek plazma leptin düzeyine sahiptirler. Bu hastalıkların leptin ile ilişkisini konu alan çalışmalar literatürde mevcuttur. Wang ve arkadaşları 2021 yılında yayımladıkları bir çalışmada leptinin RA üzerindeki anahtar rollerini derlemişlerdir. Leptin RA patogenezinde önemli olan T hücrelerinin aktivasyonu, proliferasyonu ve sitokin üretiminde uyarıcı etkiye sahiptir. Leptin yokluğunda total CD4⁺T hücreleri azalır. Leptin, Th1 hücrelerinden inflamatuvar sitokinlerin salınımını artırır. RA'da eklem inflamasyonu ve kemik hasarı gelişiminde kritik

rol oynayan sinovyal makrofajlardan TNF- α , IL-6 gibi sitokinlerin sekresyonunu artırır. RA'da eklem hasarında önemli rolü olan fibroblast benzeri sinoviyositlerin migrasyon kapasitesini artırır. RA hastalarında plazma leptin seviyesi yüksektir ve leptin seviyesi ile hastalık şiddeti arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (Bakshi vd., 2021; Chen vd., 2021; Del Prete vd., 2014; Fernández-Riejos vd., 2010; Procaccini vd., 2017; Wang vd., 2021).

1.4. Matriks Metalloproteinazlar

İlk olarak 1960'larda bir kurbağada bulunarak tanımlanan MMP'ler ekstrasellüler matriks bileşenlerini yıkıma uğratan çinko bağımlı nötral endopeptidaz ailesidir. MMP'ler hücre proliferasyonu, göçü ve farklılaşmasını desteklemelerinin yanı sıra hücre apoptozu, anjiyogenez, doku tamiri ve immün yanıtta da önemli rol oynarlar. MMP aktivitesi ve ekspresyonundaki değişiklikler hamilelik ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik süreçlerde meydana gelirken ateroskleroz, anevrizma gibi kardiyovasküler hastalıklarda, osteoartrit gibi kas iskelet sistemini etkileyen hastalıklarda ve çeşitli kanserlerde de gözlenmiştir.

MMP'ler genellikle substratlarına ve yapısal alanlarının organizasyonuna göre 6 grupta sınıflandırılırlar (Burrage vd., 2006; Cui ve Hu, 2017). Bu sınıflandırma Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1.

Matriks metalloproteinazların sınıflandırılması (Öncel, 2012).

Sınıfı	İçeriği
1 Kollajenazlar	MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18
2 Jelatinazlar	MMP-2, MMP-9
3 Stromelisinler	MMP-3, MMP-10, MMP-11
4 Matrilisinler	MMP-7, MMP-26
5 Membran Tip	MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25
6 Diğerleri	MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-23, MMP-27, MMP-28

MMP'ler pek çok farklı hücre ve doku tarafından üretilirler. Fibroblastlar, osteoblastlar, endotel hücreler, vasküler düz kas hücreleri, makrofajlar, nötrofiller ve lenfositler de dahil olmak üzere bağ dokusu, proinflamatuvar ve uteroplasental hücreler tarafından salgılanırlar. Bu enzimlerin doğal doku inhibitörleri (TIMP) ise dokularda MMP aktivitesinin lokal kontrolünden sorumludur. MMP aktivitesini inhibe ederek ekstrasellüler matriks yıkımını kısıtlamaktadırlar (Nagase vd., 2006).

RA patogeneğinde, özellikle kıkırdak yıkımında MMP'lerin büyük rolü olduğu düşünülmektedir. Fibroblast benzeri sinoviyositlerden büyük miktarda salınan MMP-1, MMP-3, MMP-9 ve MMP-13'ün kıkırdak yıkımıyla ilişkisi bulunmuştur. MMP-8'in tip 1 kollajen yıkımını başlatmada anahtar rol oynadığı ve RA ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca MMP-8, nötrofillerin infiltrasyonunda da önemli rol oynamaktadır. RA'lı hastaların sinovyal dokusunda MMP-1 ve MMP-8 bulunmuştur (Kalva vd., 2014; Sorsa vd., 1992; Withrow vd., 2016).

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

RA ilerleyici eklem hasarı, ağrı, yorgunluk, hareketlilikte azalma ve günlük yaşam aktivitelerini gerçekleştirmede zorluğa yol açmanın yanı sıra erken ölümlere de neden olan, klinik gidişi alevlenme ve kısmi remisyonlarla seyreden, sistemik, otoimmün, yangısal bir hastalıktır (Kvien, 2004). Hastalığın patogenezi halen tam olarak aydınlatılamamakla birlikte, hiç şüphesiz, bağışıklık sistemi RA'nın oluşmasında temel rolü oynamaktadır (Miossec ve Van den Berg, 1997). Hastalığın patogenezi aydınlatılabilmek ve hastalara etkin tedavi yöntemleri sunabilmek için pek çok çalışma yapılmaktadır.

2.1. Romatoid Artrit ve Egzersiz

Egzersiz, özellikle kronik hastalığı bulunan bireylerde yaşam boyu sağlık için önemli bir bileşendir. Vücut fonksiyonlarının korunması ve genel mobilite açısından büyük katkı sağlar. İnflamatuvar artritler de dahil olmak üzere pek çok hastalıkta anti-inflamatuvar etkileri görülmektedir (Burghardt vd., 2019).

Artrit modeli oluşturulan sıçanlara 6 hafta yüzme egzersizi yaptırılan deneysel bir çalışmada, yüzme egzersizinin aktif lenfositler ve makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu engellediği bulunmuştur (Navarro vd., 2010).

Alkatan ve arkadaşlarının osteoartrit tanılı 48 sedanter yetişkin birey ile yaptıkları 3 ay süren çalışma sonucunda ise düzenli yüzme egzersizinin eklem ağrısı ve sertliğini azalttığı; kas gücü ve fonksiyonel kapasiteyi geliştirdiği bulunmuştur (Alkatan vd., 2016).

RA'lı bireylerle 2019 yılında yapılan bir başka çalışmada düşük yoğunluklu egzersizlerin fiziksel fonksiyonu geliştirdiği ve ağrı, depresyon, yorgunluk gibi semptomları azaltmada faydalı olduğu bulunmuştur (Greysen vd., 2019).

Kelley ve arkadaşları tarafından yapılan bir meta-analiz çalışmasında düzenli egzersizin artrit hastalığına sahip bireylerde depresyonu azalttığına ilişkin veriler bulunmaktadır (Kelley vd., 2018).

RA'lı hastalarda 12 ay boyunca el kasları için güçlendirme egzersizlerinin yapıldığı bir çalışmada, egzersiz yapan gruptaki hastalar egzersiz yapmayan kontrol grubundaki hastalara göre fonksiyonel olarak iyileşme göstermişlerdir. Bu sonuçlar da bize egzersizin düzenli olarak uzun süre yapılmasının artrit semptomlarında azalmaya yol açtığını göstermektedir (Williamson vd., 2017).

2.2. Romatoid Artrit ve Leptin

Adipoz dokudan salgılanan ve iştahı düzenlemede önemli görevi olan leptin, bağışıklık sisteminin de güçlü bir düzenleyicisidir. Reseptörü aracılığı ile bağışıklık ve inflamasyon kontrolüne yardımcı olur (Del Prete vd., 2014).

Leptin doğal ve edinsel bağışıklığı oluşturan tüm hücreleri etkilemektedir. Doğal bağışıklıkta doğal katil (NK) hücrelerinin sitotoksitesini ve granülositlerin, makrofajların, dendritik hücrelerin aktivasyonunu artırarak inflamasyonu şiddetlendirir (Francisco vd., 2019).

Leptin, T hücrelerinin T_H1 yönünde farklılaşmasını sağlar ve bu hücrelerden $TNF-\alpha$, IL-6, $IFN-\gamma$ ve IL-17 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu artırırken, T_H2 hücreler üzerinde güçlü bir inhibitör etki gösterir. Yani T_H1 / T_H2 dengesini, aynen RA'da görüldüğü gibi, T_H1 lehine bozar. Bu yüzden pro-inflamatuvar bir adipokin olarak kabul edilir (Del Prete vd., 2014).

Yapılan klinik bir çalışmada leptinin RA'da JAK/STAT yolağını kullanarak IL-8 üretimini artırdığı bulunmuştur. IL-8 anjiyogenezi kolaylaştırarak ve kemotaksiyi uyararak

immün yanıtın düzenlenmesinde rol oynaması sebebi ile eklem hasarının gelişmesinde önemlidir (Cao vd., 2016).

Leptin, ob reseptörü aracılığı ile IL-1, lipopolisakkarit (LPS) ve TNF- α gibi enfeksiyöz ve inflamatuvar uyarıcılar ile birlikte immün yanıtı tetikler (de Souza Fatel vd., 2018).

2.3. Egzersiz ve Leptin

Fiziksel egzersizin, kilo kaybına neden olmadığı durumlarda bile yağ dokusu üzerinde özellikle de visseral yağ dokusunda önemli etkileri bulunmaktadır. Pre-diyabetik ve diyabetik bireylerin katılımcı olduğu, en az 4 hafta süren egzersiz programlarını içeren 22 çalışmanın dahil olduğu bir meta-analiz çalışmasında fiziksel egzersizin, özellikle yüzme gibi aerobik egzersizlerin adiponektin seviyesini artırırken leptin seviyesini azalttığı kaydedilmiştir (Becic vd., 2018).

Fiziksel egzersiz ağrı tedavisinde destekleyici olarak kullanılmaktadır. Nöroma ağrısı modeli oluşturulan sıçanlarda 5 haftalık yüzme egzersizinin ağrı davranışlarını iyileştirdiği ve leptin seviyesini azalttığı bulunmuştur (Sun vd., 2019).

Fedewa vd.'nin kronik egzersiz eğitiminin leptin üzerindeki etkisini inceleyen randomize kontrollü çalışmaların sistematik derlemesini ve meta-analizini yaptıkları bu çalışmada, 2 hafta süren egzersiz eğitiminin leptin seviyesi üzerine etkilerinin kantitatif olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. 1998-2016 yılları arasında yayınlanan 72 makaleden çıkarılan 107 etkinin kümülatif sonuçları, kronik egzersiz eğitiminin leptin düzeylerini etkili bir şekilde azaltabileceğini göstermiştir. Ayrıca yayınlanan bu 72 makaledeki egzersiz eğitimlerinin %51.4'ünü aerobik egzersizler oluşturmuştur (Fedewa vd., 2018).

Yu vd.'nin yaptığı bir meta-analiz çalışmasında, obez ve aşırı kilolu bireylerde egzersizin serum leptin ve adiponektin seviyelerine olan etkisini araştıran makaleler

derlenmiştir. 1980-2015 yılları arasındaki 40 çalışmadan 24'ünde egzersizin leptin üzerine etkisi incelenmiştir. Bu derlemeden elde edilen sonuçlara göre egzersizin, özellikle aerobik egzersizin, serum leptin seviyesini düşürmede önemli bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Yu vd., 2017).

Benatti vd.'nin çalışmasında endurans eğitiminin leptin seviyesi ve onun yağ dokudaki gen ekspresyonu üzerine etkisini değerlendirmek ve bunların insülin, vücut kompozisyonu ve enerji alımı ile aralarındaki ilişkiyi incelemek amaçlanmıştır. Çalışmada erkek sıçanlar sedanter ve egzersiz gruplarına ayrılmış ve egzersiz grubuna 9 hafta yüzme egzersizi yaptırılmıştır. Egzersiz yapan sıçan grubunda leptin seviyesi %56 daha düşük bulunmuştur. Bunun yanı sıra yüzme egzersizinin yağ dokunun gen ekspresyonu üzerine etkisi bulunamamıştır (Benatti vd., 2008).

Egzersizin leptin seviyesini azalttığına ilişkin çok sayıdaki çalışmaya karşın bunun tam tersini ileri süren çalışmalar da mevcuttur. Higa vd.'nin çalışmasında fiziksel egzersiz yaptırılan farelerde vücut ağırlığı ile beyaz yağ dokusu ve beyaz yağ dokusunun gen ekspresyonu arasındaki ilişki incelenmiştir. 4 haftalık yüzme egzersiz programı sonunda egzersiz yapmayan farelerin yapanlara göre daha fazla vücut ağırlığına sahip olduğu belirlenmiştir. Egzersiz yapanlar diğerlerine göre daha yüksek serum leptin konsantrasyonuna sahip olarak bulunmuştur (Higa vd., 2012).

Uysal vd.'nin çalışmasında ise düzenli aerobik egzersizin hipokampus ve prefrontal kortekste leptin ve leptin reseptörünün ekspresyon düzeyleri üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca, aerobik egzersizle birlikte hipokampusta arttığı bilinen insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) seviyeleri ile de leptin seviyelerinin korelasyonuna bakılmıştır. Egzersizle birlikte leptin ve IGF-1 seviyelerinde artış saptanmıştır. Egzersiz yapan dişi sıçanlarda kandaki leptin düzeyi artarken erkek sıçanlarda değişmemiştir. Erkek sıçanlarda ise egzersizle birlikte IGF-1 artışı olmuştur. Hipokampusta leptin ile IGF-1 ve leptin reseptörü ile IGF-1 arasında güçlü bir korelasyon bulunmuştur (Uysal vd., 2017).

Egzersiz ile leptin arasındaki ilişkiyi inceleyen bazı çalışmalarda bağışıklık sisteminin nasıl etkilendiği de araştırılmıştır. Dorneles vd'.nin yaptığı bir çalışmada egzersiz ile elde edilen kardiyorespiratuar zindeliğin farklı seviyeleri ile, obez ve zayıf insanlarda sitokinlerin sistemik seviyeleri, CD4+ T hücrelerinin alttıpleri ve monositlerin periferal frekansı incelenmiştir. Ayrıca IL-6, IL-10, IL-17a, IL-33, leptin ve TNF- α seviyelerinin de değerlendirildiği bu çalışmada obez kişilerdeki leptin seviyesi beklenildiği üzere zayıf kişilere göre daha fazla bulunmuştur. Çalışmadan elde edilen veriler, yüksek kardiyorespiratuar zindeliğin Treg (regülatör T hücresi) ve mTreg (bellek regülatör T hücresi) hücrelerinde obezite ile ilişkili düşüşün yanı sıra orta düzey monositlerin, klasik olmayan monositlerin ve mTeff (efektör bellek regülatör T hücresi) hücrelerinin daha yüksek oranlarını önlemede önemli bir belirleyici olduğunu göstermiştir (Dorneles vd., 2019). Fang vd.'nin yaptığı çalışmada yüzme egzersizinin yüksek yağlı diyetin neden olduğu aort fonksiyon bozukluğunu önleyebileceği ve bununla ilgili değişikliklerin oksidatif stresin, proinflamatuvar sitokinlerin/adipokinlerin azalması ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Yüksek yağlı diyet leptin ve resistin gibi proinflamatuvar adipokinleri artırırken, 16 haftalık yüzme egzersizi yüksek yağlı diyetin oluşturduğu bu etkiyi azaltmıştır. Egzersiz ayrıca IL-6 ve IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerinin ekspresyonlarını da azaltıcı etki göstermiştir (Fang ve Tang, 2017).

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA YÖNTEMİ

Bu çalışma için Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığından onay alınmıştır (02.09.2019 tarih ve 2019/06-04 sayılı karar). 120S402 numaralı kod ile “1002 Hızlı Destek Programı” kapsamında Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir. Çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (ÇOMÜDAM)’nde yapılmıştır.

3.1. Deneysel Hayvanlarının Seçimi ve Gruplandırılması

Çalışmada kullanılan 80 adet Wistar cinsi 7-8 haftalık sıçan Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi’nden temin edilmiştir. Hayvanlar çalışma süresi boyunca 22 °C sıcaklığa ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsü otomasyonuna sahip bir ortamda barındırılmıştır. Deneysel hayvanlarının beslenmesinde standart ticari pelet yem ve musluk suyu kullanılmıştır.

Çalışmamızda hayvanlar rastgele olarak 3 gruba ayrılmıştır. Bu gruplar Tablo 2’de gösterilmiştir. Her kafeste aynı gruptan 3 hayvan bulundurulmuş ve her hayvana verilen numara kuyruklarına yazılmıştır. Kontrol grubunda yer alan hayvanlara herhangi bir işlem yapılmamıştır. Artrit grubunda yer alan hayvanlarda yalnızca artrit modeli oluşturulurken; Artrit + Egzersiz grubundaki hayvanlarda artrit modeli oluşturulduktan sonra yüzme egzersiz protokolleri uygulanmıştır. Kontrol grubundan 5 hayvan, Artrit ve Artrit + Egzersiz gruplarından 10’ar hayvan çalışmanın ara döneminde (21.gün) biyokimyasal analizler için feda edilmiştir.

Tablo 2.

Deney hayvanlarının gruplandırılması.

Gruplar	Yapılan İşlemler
Kontrol Grubu (n=20)	Herhangi bir işlem yapılmamıştır.
Artrit Grubu (n=30)	Artrit modeli oluşturulmuştur.
Artrit + Egzersiz Grubu (n=30)	Artrit modeli oluşturulup, egzersiz yaptırılmıştır.

3.2. Deneysel Romatoid Artrit Modelinin Oluşturulması

Deneysel romatoid artrit modeli oluşturmak için ısı ile öldürülmüş mikobakterium tüberküloz H37Ra içeren Complete Freud's Adjuvant (CFA) kullanılmıştır. RA modeli oluşturulacak hayvanlara 10 mg/ml yoğunluğa sahip 100 µl CFA kuyruk dibinden intradermal olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyonun yapıldığı gün çalışmanın 0. günü olarak kabul edilmiştir (Banda vd., 2009).

3.3. Egzersiz Protokolü

Artrit + Egzersiz grubunda yer alan sıçanlara suya ve çevresel koşullara alışmaları için çalışmaya başlamadan önce alıştırma egzersizleri yaptırılmıştır. Alıştırma egzersizleri günde 10 dakika yüzme egzersizi şeklinde olmuş ve 5 gün boyunca yaptırılmıştır. Alıştırma egzersizlerinin bitiminden sonra CFA enjeksiyonunun yapıldığı gün RA'nın pre-klinik döneminin başladığı kabul edilmiştir ve aynı gün yüzme egzersiz protokolü uygulanmaya başlanmıştır. Artrit + Egzersiz grubunda yer alan hayvanlara haftada 5 gün, günde 1 saat olacak şekilde 6 hafta boyunca yüzme egzersizi yaptırılmıştır (Navarro vd., 2010).

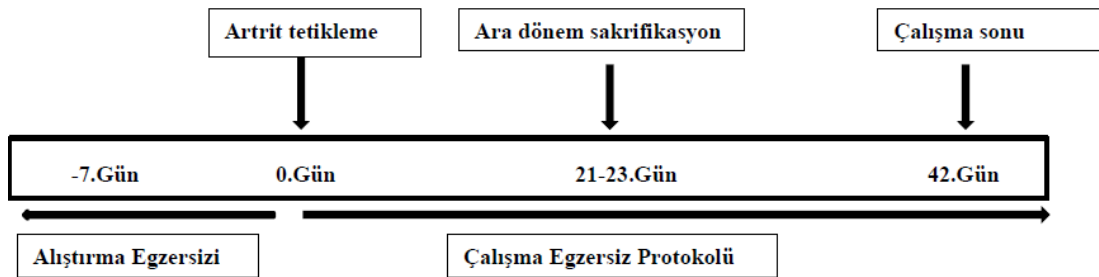
3.3.1. Yüzme Egzersizinin Yapılışı

Yüzme egzersizleri, eni 67,5 cm boyu 94 cm ve yüksekliği 64 cm olan polipropilen hammaddeden yapılmış dikdörtgen bir havuzda yaptırılmıştır. Havuz, her hayvanın ayrı bir bölmede yüzmesi için 8 eşit bölmeye ayrılmıştır. Suyun sıcaklığı termometre ile ölçülerek

ayarlanmış; egzersiz boyunca 30-32 °C aralığında olması sağlanmıştır. Egzersiz için hazırlanan havuza hayvanlar her biri ayrı bir bölmede olacak şekilde bırakılmıştır. Su yüzeyinde askıda kalan veya havuzun kenarlarına tutunmaya çalışan hayvanlar el ile yapılan müdahalelerle uyarılmış ve yüzmeye motive edilmişlerdir. Egzersiz seansının bitiminden sonra hayvanlar içerisinde havlu bulunan kafeslere alınarak bir ısı kaynağı yardımıyla kurutulmuştur. Kuruyan hayvanlar kendi kafeslerine alınmışlardır. Her egzersiz seansının ardından havuz boşaltılmıştır.



Şekil 8. Yüzme egzersizi seansına ait bir görüntü.



Şekil 9.Çalışmaya ait zaman çizelgesi.

3.4. Veri Toplama Yöntemi

3.4.1. Ağırlık Ölçümü

Çalışmada yer alan tüm hayvanların ağırlıkları haftada bir kez ölçülmüştür. Ölçümler her hafta aynı gün olacak şekilde planlanmıştır.

3.4.2. Pençe Çap Ölçümü

Çalışmada yer alan tüm hayvanların sağ ve sol pençe çaplarının ölçümü dijital kumpas ile yapılmıştır. Haftada bir gün, aynı araştırmacı tarafından ölçümler yapılmıştır.

3.4.3. Görsel Artrit Skorlaması

Artritin klinik şiddetini ve egzersiz protokolünün klinik şiddete olan etkisini değerlendirebilmek için “görsel hastalık şiddeti skorlama” yöntemi kullanılmıştır. Artrit modeli geliştirmek için indüksiyonun yapıldığı, çalışmanın 0. günü olarak kabul edilen günden itibaren çalışma sonuna kadar her gün skorlama yapılmıştır. Hayvanların her pençesi incelenerek 0-4 arasında puanlandırılmıştır. Maksimum puan 16 olacak şekilde, her hayvan için artrit klinik şiddeti, pençelerinin aldığı puanların toplanması ile elde edilmiştir. Puanlama kriterleri aşağıda belirtilen şekildedir:

0= şişlik veya kızarıklık yok;

1= ayak bileği eklemi veya tarsal kemiklerle sınırlı hafif kızarıklık ve şişlik;

2= ayak bileğinden tarsallara doğru hafif şişlik ve kızarıklık;

3= ayak bileğinden metatarsal eklemlere doğru ılıman şişlik ve kızarıklık;

4= ayak bileği, ayak ve parmakları kapsayacak şekilde şiddetli şişlik ve kızarıklık veya ekstremitenin ankilozu (Snehalatha vd., 2013).

Çalışma süresince tüm skorlamalar hayvanların hangi gruplara ait olduklarını bilmeyen iki araştırmacı tarafından çift kör bakış açısıyla yapılmıştır.

3.4.4. Artritin Radyolojik Değerlendirilmesi

Çalışmanın sonlandırılacağı günden bir gün önce hayvanların tüm ekstremitelerinin radyografi görüntüleri alınmıştır. Bu radyografiler bir GE Medical Systems Senographe Essential ADS_56.21.3 52 mA mamografi cihazı ile, 52 mA, 32 kv'de anteroposterior olacak şekilde kaydedilmiştir. İşleme başlamadan önce hayvanlara 100mg/kg ketamin, 10 mg/kg ksilazin ile anestezi yapılmıştır. Bir büyütme ekipmanı kullanılarak hayvana 32 cm mesafeden odaklanıp, hayvanla dedektör arasında 18,5 cm mesafe bırakılarak radyografi alınmıştır.

Elde edilen görüntüler; şişlik, osteoporoz, kırık kaybı, heterotopik ossifikasyon, periosteal yeni kemik formasyonu parametreleri açısından değerlendirilmiş ve 0-3 arasında puanlandırılmıştır (0: Negatif veya normal, 1: Hafif etkilenmiş, 2: Orta etkilenmiş, 3: Ciddi etkilenmiş). Bu değerlendirme, hayvanlara yapılan uygulamaları bilmeyen bir radyoloji uzmanı tarafından yapılmıştır (Ackerman vd., 1979).

3.4.5. Deneyin Sonlandırılması ve Örneklerin Alınması

Egzersiz protokolünün bitiminden 48 saat sonra, yani çalışmanın 42. gününde (ara dönem için 21.gününde) hayvanlara 100 mg/kg ketamine hydrochloride ve 10 mg/kg ksilazin anestezisi yapılmıştır. Hayvanlar anestezi altında iken abdominal aortadan tek kullanımlık enjektör ile kan alınarak sakrifiye edilmiştir. Alınan kanın 3 ml'si EDTA'lı hemogram tüplerine alınarak, aynı saat içinde 3000 RPM'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra plazmalar ayrılarak daha sonra yapılacak biyokimyasal analizler için -40 °C'de saklanmıştır. Alınan kanın 1 ml'si ise eritrosit sedimentasyon hızını belirlemek üzere hemen kullanılmıştır.

3.4.6. Histopatolojik Değerlendirme

Çalışmanın sonunda hayvanlardan kan alındıktan sonra arka pençeleri çıkartılıp %10 tamponlu nötral formalin çözeltilisine konulmuştur. Artrit geliştirilen sıçanlarda yüzme egzersizinin hücrel infiltrasyon, pannus oluşumu ve kemik erozyonuna etkisi histopatolojik inceleme ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla hayvanlardan alınan pençe örnekleri %10 tamponlu nötral formalin çözeltilisinde bir hafta boyunca tespit edilmiş, bir haftanın sonunda akarsuda 8 saat boyunca yıkanmıştır. Daha sonra dokular dekalsifikasyon işlemi için %25'lik formik asit içine alınmıştır. Dekalsifikasyon solüsyonu günlük olarak değiştirilmiştir. Dekalsifikasyon işlemi sonunda formik asitin giderilmesi amacı ile dokular 8 saat boyunca akarsuda yıkanmıştır. Ardından dokular 0,35 M sodyum sülfat içine alınarak üç gün bekletilmiştir. Üç günün sonunda dokular akarsuda 8 saat yıkanmıştır. Daha sonra dokulardaki suyu uzaklaştırmak amacı ile derecesi giderek artan etil alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilmiştir. Dekalsifikasyon işleminin ardından dokulara Leica TP 1020 Oteteknikon cihazı ile tabloda belirtilen doku takip yöntemi kullanılmıştır.

Tablo 3.

Işık mikroskopik doku takip işlemi

Sırasıyla Doku Takibi Aşamaları		
Sıcaklık	Yapılan uygulama	Süresi
Oda sıcaklığında	%90'lik etil alkol	1 saat 30 dakika
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat
Oda sıcaklığında	Saf alkol	1 saat 30 dakika
Oda sıcaklığında	Saf alkol+ksilol	1 saat
Oda sıcaklığında	Ksilol	1 saat
Oda sıcaklığında	Ksilol	1 saat 30 dakika
60°C'de	Parafin	1 saat
60°C'de	Parafin	1 saat 30 dakika

Blok haline getirilen dokulardan Thermo Scientific Shandon Finesse 325 marka mikrotomla 5 mikron kalınlığında kesitler alınmıştır. Alınan kesitler deparafinize edilip hematoksilen-eozin ile boyandıktan sonra kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlar Olympus BX53 ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları alınmıştır.

İnceleme sırasında her kesit hücreyel infiltrasyon, pannus oluşumu ve kemik rezorbsiyonu bakımından ayrı ayrı değeriendirilip 0-5 arasında puanlandırılmıştır (Banda vd., 2009). Elde edilen sonuçların toplamı her hayvan için artrit histopatolojik şiddetini temsil etmiştir. Skorlama kriterleri aşağıda belirtilen şekildedir:

Hücreyel infiltrasyon

- 1= Periartriküler dokuda hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonu
- 2= İlmli infiltrasyon
- 3= Orta düzey infiltrasyon ve orta düzey ödem
- 4= Belirgin ödem ve belirgin infiltrasyon
- 5= şiddetli ödem ve şiddetli infiltrasyon

Pannus oluşumu

- 0= Normal
- 1= Kıkırdak ve subkondrol kemiğin marjinal bölgesine pannusun hafif infiltrasyonu
- 2= Etkilenen eklemdede kortikal ve medullar kemikte önemsiz yıkım ile marjinal bölgede ılmli infiltrasyon
- 3= Etkilenen eklemdede orta düzey sert doku hasarı ve orta düzey infiltrasyon
- 4= Eklemi çoğı bölgesini etkileyen belirgin infiltrasyon ve eklem yapısında belirgin bozulma
- 5= Tüm eklemi etkileyen, tam veya tama yakın eklem yapısında bozulma ile ilişkili şiddetli inflamasyon

Kemik rezorbsiyonu

0= Normal kemik

1= Hafif (Distal tibiyanın trabeküler veya kortikal bölgesinde, düşük büyütme kolayca görülmeyen, küçük rezorbsiyon bölgeleri ve çok nadir osteoklast);

2= İlimli (distal tibiyanın trabeküler veya kortikal bölgesinde, düşük büyütme kolayca görülmeyen, pek çok alanda rezorbsiyon bölgeleri ve daha fazla osteoklast);

3= Orta düzey (kortekste tam kat defektler olmaksızın, medullar trabeküler ve kortikal kemikte belirgin rezorbsiyon; medullar trabekülde bir miktar kayıp; düşük büyütmede belirgin lezyon; daha fazla osteoklast);

4= Belirgin (kortikal kemikte tam kat kayıp; distal tibiada medullar kemikte belirgin kayıp; çok sayıda osteoklast;küçük tarsal kemiklerde rezorbsiyon yok);

5= Şiddetli (kortikal kemikte tam kat kayıp; distal tibiada medullar kemik kaybı; çok sayıda osteoklast; küçük tarsal kemiklerde rezorbsiyon)

3.4.7. Biyokimyasal Değerlendirme

ELISA Yöntemi ile Plazmada Leptin ve MMP'lerin Düzeyinin Belirlenmesi

Bağışıklık sistemi ile ilişkili olan leptinin ve RA'da kırıkta hasarında önemli rol oynayan MMP'lerin (1,3,8,13) plazmadaki miktarını ölçmek için çalışmada Bioassay Technology Laboratory Kit (leptin katalog no: ELK1244; MMP-1 katalog no: ELK2542; MMP-3 katalog no: ELK2536; MMP-8 katalog no: ELK2532; MMP-13 katalog no: ELK2538) kullanılmıştır.

Sandwich tipte bir ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) kiti olan Bioassay Technology Laboratory ELISA Kiti ile plazmadan leptin ve MMP'lerin düzeyinin ölçümü Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

Çalışmaya başlamadan önce -40 °C de saklanan örnekler 10-20 dakika oda ısısına gelene kadar bekletilmiş ve ardından 20 dakika 2000-3000 rpm’de santrifüj edilmiştir

1-Öncelikle kuyucuklar, 20X yıkama solüsyonu, örnek dilüent antibody diluent, HRP konjugat dilüent, TMB substrat solüsyonu ve stop solüsyonu oda ısısına getirilmiştir.

2-Örnek dilüenti ile standartlar Tablo 4’te belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

Tablo 4. ELISA standartlarının hazırlanması

Standart Numarası	İçerik	Yoğunluk
5 (S5)	120 µl Orijinal Standart + 120 µl Standart diluent	64 ng/ml
4 (S4)	120 µl S5 + 120 µl Standart diluent	32 ng/ml
3 (S3)	120 µl S4 + 120 µl Standart diluent	16 ng/ml
2 (S2)	120 µl S3 + 120 µl Standart diluent	8 ng/ml
1 (S1)	120 µl S2 + 120 µl Standart diluent	4 ng/ml

Beş tane propilen tüp sırası ile 64 ng/ml, 32 ng/ml, 16 ng/ml, 8 ng/ml ve 4 ng/ml olarak etiketlenmiştir. Yukarıda da görüldüğü gibi 5.standarttan 1.standarda kadar standart dilüentle dilüsyonlar yapılmış ve bu işlem son tüpe kadar tekrarlanmıştır.

3-Hazırlanan standartlardan 50 µl daha önceden ticari olarak leptin, MMP-1, MMP-3, MMP-8 ve MMP-13 ile kaplanmış standart kuyucuklara yüklenmiştir.

4-Örnek kuyucuklarına 40 µl örnek eklenip üzerine 10 µl ilgili antibody eklenmiştir. Kör kontrol kuyucuğuna dokunmadan hem örnek kuyucuklarına hem de standart kuyucuklarına 50 µl streptavidin-HRP eklenmiştir. Karıştırılıp 37°C de 60 dakika inkübe edilmek üzere plate üzeri plate koruyucu ile örtülmüştür.

5-Wash buffer ile plaka 5 kez yıkanmıştır. Örnekteki leptin ve MMP’lere bağlanmış antikorların kuyucuklardan uzaklaşması sağlanmıştır. Kuyucuklarda bulunan leptin ve MMP’lere bağlı olan antikorların ise kuyucuklarda kalması sağlanmıştır.

6-Her bir kuyucuğa önce 50 µl substrat A solüsyonu ve sonra 50 µl substrat B solüsyonu eklenmiştir. Karanlıkta 37°C de 10 dakika plağın üzeri kapatılarak inkübe edilmiştir.

7- Her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklenerek mavi rengin yeşile dönüşü gözlenmiştir.

8- Stop solüsyonunun eklenmesinden sonra 30 dakika içinde 450 nm’de mikroplate okuyucu kullanılarak her bir kuyucuk için absorbanlar OD (Optik dansite) ile saptandı. Örnekteki leptin ve MMP’lerin konsantrasyonunun tespiti için, hazırlanmış “kalibrasyon eğrisi” kullanılmıştır. Sonuçlar mililitrede nanogram (ng/mL) olarak ifade edilmiştir.

Westerngren Yöntemiyle Sedimentasyon Ölçümü

Çalışmanın sonunda alınan kan örneklerinin 1’er ml’si, sodyum sitratlı ESR/VSG sedimentasyon tüplerine aktarılmıştır. Tüpler alt üst edilerek sodyum sitrat ile kanın homojen bir şekilde karışması sağlanmış ve sedimentasyon askısına yerleştirilmişlerdir. Bu işlemin ardından ESR/VSG sedimentasyon pipeti tüpün içine daldırılmış ve yavaşça tüpün tabanına doğru bastırılarak içindeki kanın pipetin “0” işaretine kadar çıkması sağlanmıştır. Bu işlemin yapıldığı saat not edilmiş, 30 ve 60. dakikalarda kaç birim çöktükleri kaydedilmiştir.

3.4.8. Western Blot Analizi ile Leptin Reseptörünün Aktivitesinin Belirlenmesi

Leptinin Ob-Rb olarak bilinen reseptörüne bağlanması çeşitli hücre içi sinyal ileti yollarının aktif hale gelmesine neden olmaktadır. JAK2/ STAT3 ise bu yollardan en önemlisi olup, leptinin reseptörüne bağlanması sonucu hücre içinde inaktif şekilde bulunan STAT3 proteini fosforlanarak (pSTAT3) aktif hale gelir. Bu nedenle pSTAT3 artışı, leptinin etkin olduğunun göstergesidir. Bu çalışmada sinovyal doku örneklerindeki fosforlanmış STAT3 (pSTAT3) ve STAT3 western blot analiziyle belirlenmiştir. Bu amaçla 1X protein ekstraksiyon solüsyonu ile hücrelerden proteinlerin çıkarılması sağlanmış ve akabinde örnekler mikrosantrifüj tüpüne alınıp oda ısısında 5 dakika tutulduktan sonra 13000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant fraksiyonu yeni bir tüpe aktarılmıştır. Elde edilen fraksiyon içerisindeki total protein konsantrasyonu Bradford yöntemiyle belirlenmiştir. Elde edilen protein solüsyonlarından 20 µg ağırlığında solüsyon, DTT içeren indirgeyici Laemmli Jel-elektroforez yükleme tamponuyla karıştırılarak 95- 100 °C de 5 dakika bekletildikten sonra soğutulmuş ve %7,5’lik SDS-PAGE jele yüklenmiştir. SDS-PAGE yöntemiyle jel

içinde ayrıştırılmış proteinler elektro-blotlama yöntemiyle nitroseluloz membrana transfer edilmiştir. Aktarma işlemi gerçekleştirildikten sonra membran oda sıcaklığında bir saat 25 ml bloklama tamponu (%5 yağsız süt tozu, 20 mM Tris, 150 mM NaCl, %0,1 Tween 20, pH7,4) içerisinde bekletilmiştir ve bu işlemin ardından 15 ml yıkama tamponu (20 mM Tris, 150 mM NaCl, %0,1 Tween 20, pH 7,4) içerisinde 10 dakika süreyle 3 sefer yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonrasında membran, birincil pSTAT3 Tyr705 monoklonal fare antikorunu, antikor solüsyonu (1:1000 seyreltilmiş antikor bloklama tamponu) içerisine alınmış ve oda sıcaklığında 2 saat tutulmuştur. Sonrasında membran tekrar üç kez 10 dakika boyunca yıkama tamponu içerisinde yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra membran ikincil antikor solüsyonu (1:5000 seyreltilmiş HRP bağlı anti-mouse IgG antikorunu tamponu) içerisine alınarak oda sıcaklığında hafif çalkalama ile bir saat bekletilmiştir. Membran sonra tekrar yıkama tamponu ile üç kez yıkanmıştır. Yıkamadan sonra membran üzerine HRP substrat solüsyonu mikropipet ile dökülerek 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Western blotun görüntülenmesi ve analizi Licor C-digit sistemi ile gerçekleştirilmiştir. STAT3, pozitif ve negatif kontrol western blot analizi de yukarıda anlatılan şekilde yapılmıştır.

3.9. İstatistik

Çalışmada elde edilen veriler \pm standart hata (SH) olarak belirtilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılık düzeyleri “SPSS for Windows version 16” istatistik paket programı kullanılarak belirlenmiştir. Çoklu grup karşılaştırması Kruskal-Wallis testi ile yapılmıştır. İki grup arasındaki karşılaştırmada ise Mann-Whitney U-testi kullanılmıştır. Elde edilen veriler yorumlanırken $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada; kontrol, artrit ve artrit + egzersiz olmak üzere üç farklı grup oluşturulmuştur. Çalışma süresi boyunca her hafta, haftada bir kez vücut ağırlıkları ve pençe çapları ölçülmüştür. Klinik olarak görsel artrit şiddeti her gün değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda alınan kan ve doku örneklerinden ise biyokimyasal ve histopatolojik analizler yapılmıştır.

4.1. Vücut Ağırlığı Bulguları

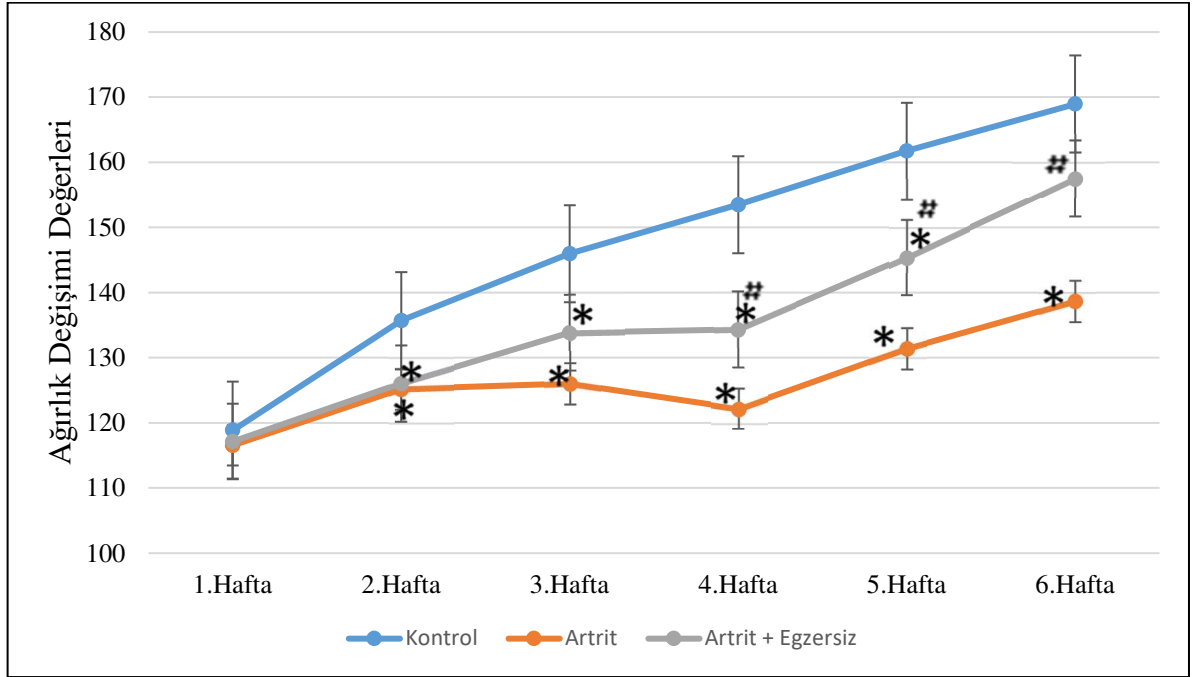
Tüm gruplarda yer alan sıçanların çalışma boyunca haftalık ağırlık ölçümlerindeki değişiklikler tablo 5'te yer almaktadır.

Tablo 5.

Gruplara ait haftalık ağırlık değişimi verileri (gr).

	Kontrol	Artrit	Artrit + Egzersiz
1. Hafta	118,90 ± 2,00	116,58 ± 2,37	117,16 ± 1,45
2. Hafta	135,71 ± 4,10	125,21 ± 2,58*	126,08 ± 2,43*
3. Hafta	145,98 ± 4,78	126,06 ± 3,70*	133,87 ± 2,70*
4. Hafta	153,51 ± 5,20	122,23 ± 3,78*	134,35 ± 3,68*#
5. Hafta	161,73 ± 5,29	131,40 ± 4,14*	145,43 ± 4,06*#
6. Hafta	168,97 ± 5,94	138,70 ± 3,85*	157,54 ± 3,74#

(*: p<0,05 kontrol grubuna göre ; #: p<0,05 artrit grubuna göre).



Şekil 10. Deneklerin ağırlık değişimlerinin gösterimi (*:Kontrol grubuna göre; #:Artrit grubuna göre. $p < 0,05$).

4.2. Pençe Çapı Ölçümündeki Değişiklikler

Tüm gruplarda yer alan sıçanların pençe çap ölçümlerindeki yüzdelik değişiklikler Tablo 6’da verilmiştir. Artrit grubunda yer alan sıçanların pençe çaplarında; Artrit + Egzersiz ve Kontrol gruplarına göre anlamlı farklılıklar saptanmıştır.

Tablo 6.

Gruplara ait pençe çap ölçümü verileri.

		Kontrol	Artrit	Artrit + Egzersiz
SOL ARKA PENÇE	Birinci haftaya göre			
	2.Hafta	100,69 ± 1,54	100,47 ± 1,24	100,65 ± 1,62
	3.Hafta	104,96 ± 1,21	139,93 ± 10,21*	118,98 ± 7,72*
	4.Hafta	103,48 ± 1,80	167,22 ± 12,61*	131,94 ± 9,22*#

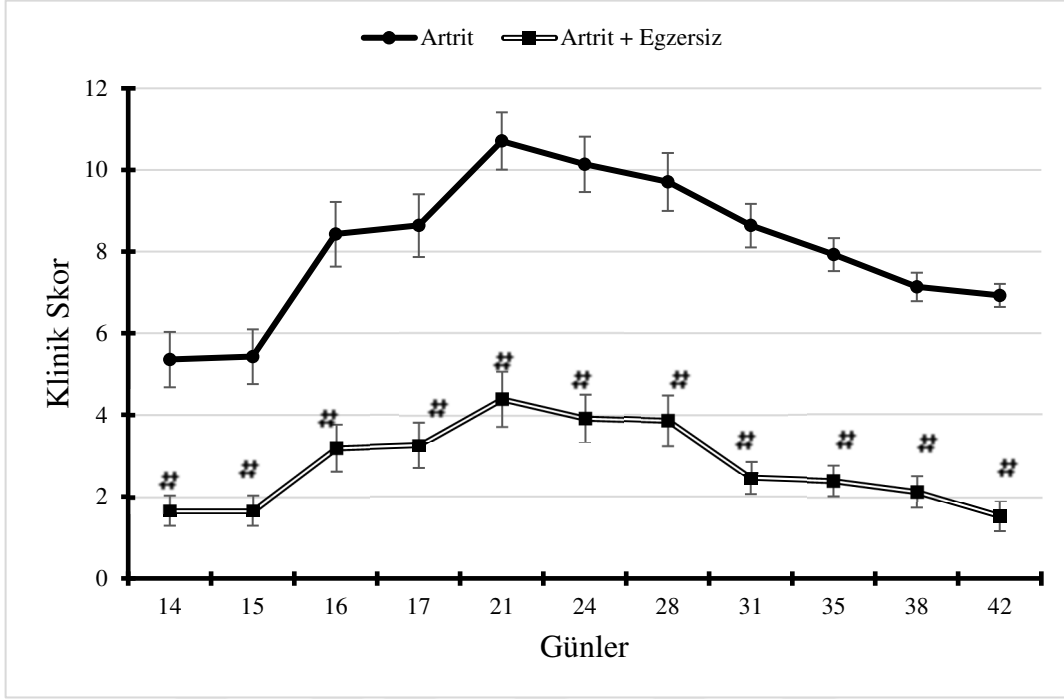
Tablo 6'nın devamı

	5.Hafta	103,98 ± 2,11	153,13 ± 9,07*	123,45 ± 8,60 [#]
	6.Hafta	103,58 ± 1,06	151,51 ± 10,84*	119,48 ± 8,64 [#]
	7.Hafta	104,32 ± 1,74	153,46 ± 10,47*	114,14 ± 6,13 [#]
SAĞ ARKA PENÇE Birinci haftaya göre % değişim	2.Hafta	99,68 ± 0,76	101,42 ± 1,42	100,40 ± 1,27
	3.Hafta	100,95 ± 1,54	134,31 ± 10,34*	114,42 ± 6,51
	4.Hafta	103,82 ± 1,43	162,49 ± 10,27*	125,18 ± 8,11 [#]
	5.Hafta	104,60 ± 1,43	146,57 ± 6,52*	121,21 ± 6,72 [#]
	6.Hafta	101,51 ± 1,30	149,58 ± 8,64*	115,88 ± 7,02 [#]
	7.Hafta	102,56 ± 2,78	139,72 ± 5,40*	115,90 ± 6,45 [#]

(* : p<0,05 kontrol grubuna göre ; # : p<0,05 artrit grubuna göre).

4.3. Klinik Görsel Artrit Skorundaki Değişiklikler

Çalışma boyunca artrit klinik şiddeti ve egzersizin artrit şiddetine etkisi görsel hastalık şiddeti skorlama yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme hayvanların hangi grupta olduğunu bilmeyen iki araştırmacı tarafından çift kör şekilde yapılmıştır. Artrit indüksiyonundan sonraki 14. günde Kontrol (00 ± 00), Artrit (5,36 ± 1,35) ve Artrit + Egzersiz (1,67 ± 0,74) grupları arasında görsel artrit skorları anlamlı olarak farklı bulunmuştur. 14. günden itibaren çalışmanın sonu olan 42. güne kadar gruplar arasındaki anlamlı farklılığın devam ettiği bulunmuştur.



Şekil 11. Grupların görsel artrit skorlamasının karşılaştırılması ($p < 0,05$ #: Artrit grubuna göre).

2.4. Radyolojik Bulgular

Çalışmanın sonlandırılacağı günden bir gün önce hayvanların tüm ekstremitelerinin radyografik görüntüleri alınmış ve ardından bu görüntüler; yumuşak doku şişliği, kartilaj kaybı, osteoporoz, erozyon ve heterotopik ossifikasyon, periosteal yeni kemik oluşumu parametreleri kullanılarak biri Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon uzmanı diğeri Radyoloji uzmanı olan iki araştırmacı tarafından değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonucunda tüm parametrelerde Artrit ve Artrit + Egzersiz grubu arasında anlamlı farklılık bulunmuştur.

Tablo 7.

Gruplara ait radyolojik bulgular

	Artrit	Artrit + Egzersiz
Yumuşak Doku Şişliği	2,43 ± 0,29	0,93 ± 0,33 [#]
Kartilaj Kaybı	1,86 ± 0,28	0,73 ± 0,27 [#]
Osteoporoz	2,00 ± 0,28	0,73 ± 0,28 [#]
Erozyon	1,71 ± 0,29	0,53 ± 0,24 [#]
Heterotopik Ossifikasyon	2,00 ± 0,31	0,40 ± 0,24 [#]
Periosteal Yeni Kemik Oluşumu	2,43 ± 0,29	0,73 ± 0,28 [#]
Radyolojik Skor	1,86 ± 0,25	0,60 ± 0,24 [#]

([#]: p<0,05 artrit grubuna göre).

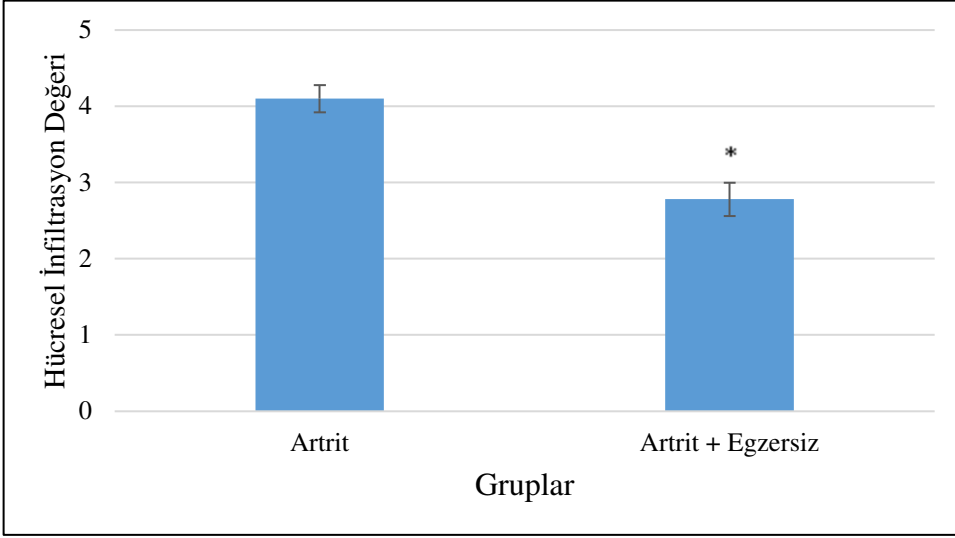


Şekil 12. A: Kontrol grubunda yer alan; B: Artrit + Egzersiz grubunda yer alan; C: Artrit grubunda yer alan deneklerin radyografi görüntülerinden örnekler.

2.5. Histopatolojik Bulgular

2.5.1.1. Hücresel İnfiltrasyon Değerlerindeki Değişiklikler

Kontrol, artrit ve artrit + egzersiz gruplarından çalışmanın sonunda elde edilen arka pençe örnekleri histopatolojik olarak incelendiğinde hücresel infiltrasyon değerleri artrit grubunda $4,10 \pm 0,18$, artrit + egzersiz grubunda $2,78 \pm 0,22$ bulunmuştur. Artrit ve artrit + egzersiz grubunda bulunan bu değerler anlamlı olarak farklılık göstermiştir ($p=0,001$).

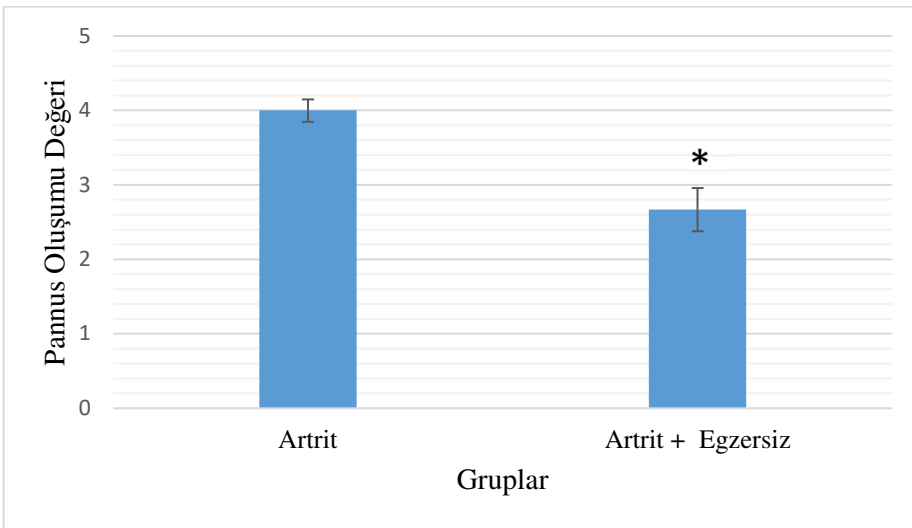


Şekil 13. Grupların hücresel infiltrasyon değerlerinin karşılaştırılması

(*: Artrit grubuna göre ; $p < 0,05$).

2.5.2. Pannus Oluşumu

Kontrol, Artrit ve Artrit + Egzersiz gruplarından çalışmanın sonunda elde edilen arka pençe örnekleri histopatolojik olarak incelendiğinde pannus oluşumu değerleri artrit grubunda $4,00 \pm 0,15$, artrit + egzersiz grubunda $2,67 \pm 0,29$ bulunmuştur. Artrit ve Artrit + Egzersiz grubunda bulunan bu değerler anlamlı olarak farklılık göstermiştir ($p=0,001$)

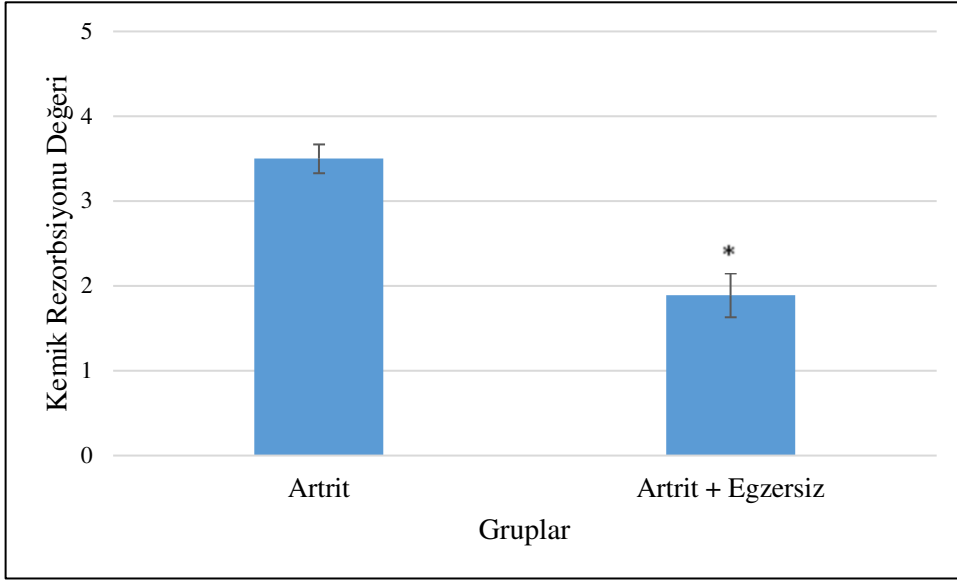


Şekil 14. Grupların pannus oluşumu değerlerinin karşılaştırılması

(*: Artrit grubuna göre; $p < 0,05$).

2.5.3. Kemik Rezorbsiyonu Üzerindeki Değişiklikler

Kontrol, Artrit ve Artrit + Egzersiz gruplarından çalışmanın sonunda elde edilen arka pençe örnekleri histopatolojik olarak incelendiğinde kemik rezorbsiyonundaki değişim değerleri Artrit grubunda $3,50 \pm 0,17$, Artrit + Egzersiz grubunda $1,89 \pm 0,26$ bulunmuştur. Artrit ve Artrit + Egzersiz grubunda bulunan bu değerler anlamlı olarak farklılık göstermiştir ($p=0,001$).



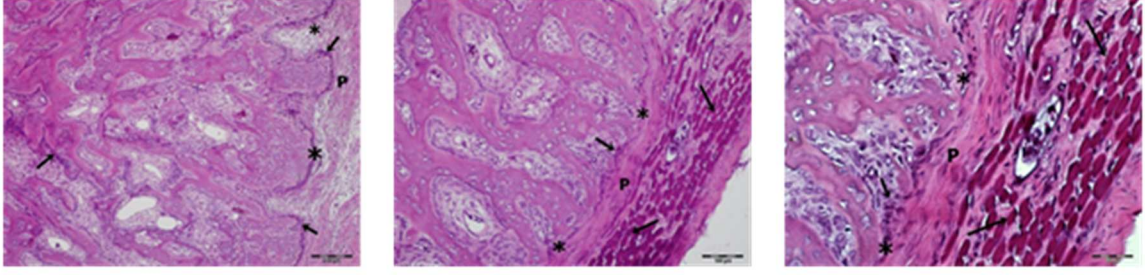
Şekil 15. Grupların kemik rezorbsiyonu değerlerinin karşılaştırılması (*: Artrit grubuna göre ; $p<0,05$)

Tablo 8.

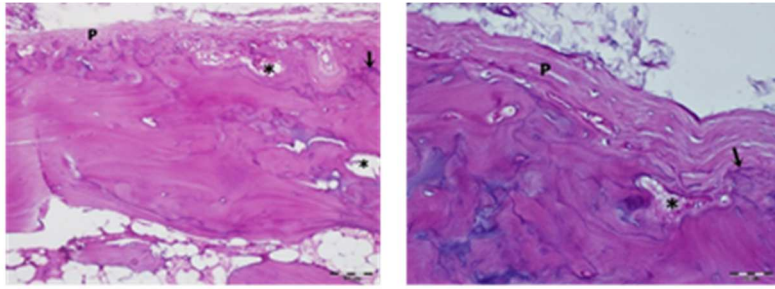
Gruplara ait histopatolojik bulgular.

	Artrit	Artrit + Egzersiz
Hücrel İnfiltrasyon	$4,10 \pm 0,18$	$2,78 \pm 0,22^{\#}$
Pannus Oluşumu	$4,00 \pm 0,15$	$2,67 \pm 0,29^{\#}$
Kemik Rezorbsiyonu	$3,50 \pm 0,17$	$1,89 \pm 0,26^{\#}$
Toplam Histopatolojik Skor	$11,60 \pm 0,43$	$7,33 \pm 0,71^{\#}$

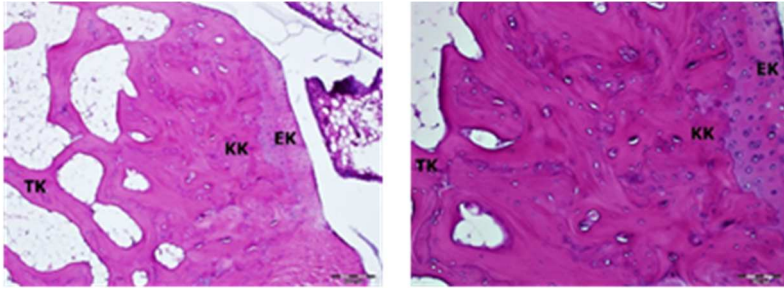
(#: $p<0,05$ artrit grubuna göre).



Şekil 16. Artrit grubundan bir sıçana ait histopatolojik görüntü. Şiddetli infiltrasyon alanları (ok), eklem yapısında bozulma, kıkırdak ve kompakt kemikte kayıp (*) görüldü. P:Pannus.



Şekil 17. Artrit + egzersiz grubundan bir sıçana ait histopatolojik görüntü. Hafif düzeyde infiltrasyon alanları (ok), eklemden ve kortikal kemikte orta düzeyde doku hasarı (*) görüldü. P:Pannus.



Şekil 18. Kontrol grubundan bir sıçana ait histopatolojik görüntü. Eklem kıkırdağı (EK) ve eklem kıkırdağının hemen altında bulunan kompakt kemik (KK) ve trabeküler kemik (TK) tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu görüldü.

2.6. Biyokimyasal Bulgular

2.6.1. Leptin, MMP-1, MMP-3, MMP-8 ve MMP-13 Düzeylerinin Belirlenmesi

Çalışma sonunda (42.gün) alınan kan örnekleri ile yapılan analiz sonucunda leptin, MMP-1, MMP-3, MMP-8 ve MMP-13'ün düzeyleri belirlenmiştir. Kontrol, artrit ve artrit + egzersiz gruplarında leptin, MMP-1, ve MMP-3 düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p < 0,05$). MMP-8 miktarı; kontrol grubunda $673,78 \pm 73,34$, artrit grubunda $819,10 \pm 34,59$ ve artrit + egzersiz grubunda $817,44 \pm 62,36$ olarak bulunmuştur. Artrit ve artrit + egzersiz grubundaki değerler kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazladır (sırasıyla $p=0,019$; $p=0,025$). MMP-13 miktarı ise ; kontrol grubunda $927,91 \pm 32,37$, artrit grubunda $896,25 \pm 15,41$ ve artrit + egzersiz grubunda $686,90 \pm 62,14$ olarak bulunmuştur. Artrit + egzersiz grubunun değeri hem kontrol grubuna göre hem de artrit grubuna göre anlamlı olarak az bulunmuştur (sırasıyla $p=0,004$; $p=0,002$).

Çalışmanın ara döneminde (21.gün) alınan kan örnekleri ile yapılan analiz sonucunda leptin, MMP-1, MMP-3, MMP-8 ve MMP-13 düzeyleri belirlenmiştir. Artrit + egzersiz grubunda MMP-8 düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,003$). Artrit + egzersiz grubunda MMP-3 ve MMP-8 düzeyleri artrit grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0,023$; $p=0,008$).

Tablo 9.

Gruplara ait leptin, MMP-1, MMP-3, MMP-8 ve MMP-13 düzeyleri.

ÇALIŞMA SONU (42.GÜN)			
	Kontrol	Artrit	Artrit + Egzersiz
Leptin (ng/ ml)	$929,65 \pm 32,44$	$873,00 \pm 14,82$	$976,05 \pm 108,61$
MMP1 (ng/ ml)	$854,40 \pm 10,45$	$852,12 \pm 22,26$	$726,26 \pm 53,79$

Tablo 9'un devamı

MMP3 (ng/ ml)	884,28± 31,51	891,42± 13,76	873,56± 60,26
MMP8 (ng/ ml)	637,78± 73,34	819,10± 34,59*	817,44± 62,36*
MMP13 (ng/ml)	927,91± 32,37	896,25± 15,41	686,90± 62,14*#

(*: Kontrol grubuna göre, p<0,05 ; #: Artrit grubuna göre, p<0,05).

Tablo 10. Ara dönemdeki deneklere ait leptin, MMP-1,MMP-3, MMP-8 ve MMP-13 düzeyleri.

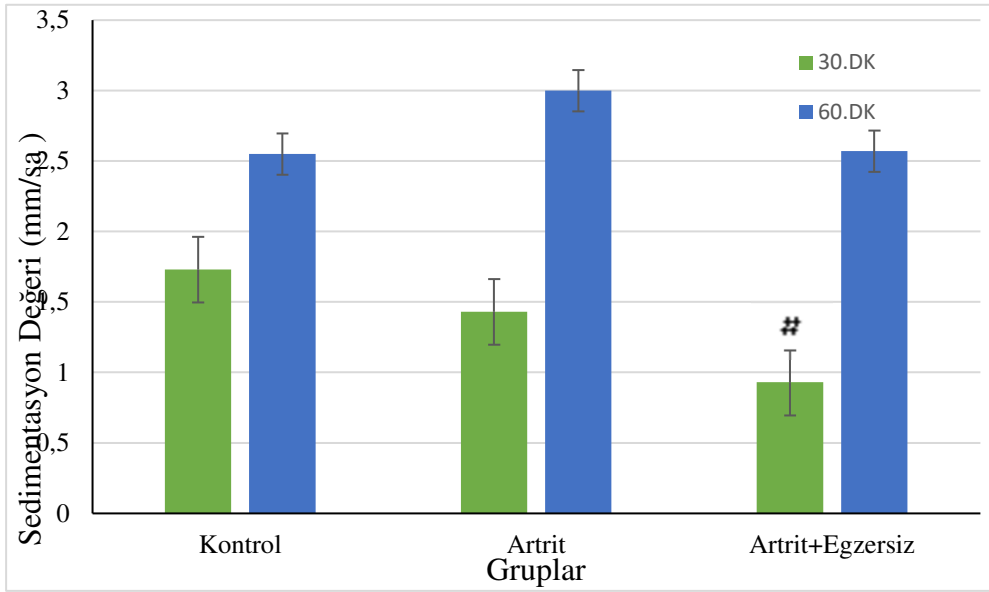
ARA DÖNEM (21.GÜN)			
	Kontrol	A-Artrit	A- Artrit + Egzersiz
Leptin (ng/ ml)	929,65± 32,44	897,91± 18,13	910,89± 34,63
MMP1 (ng/ ml)	854,40± 10,45	846,81± 9,93	926,94± 66,63
MMP3 (ng/ ml)	884,28± 31,51	855,39± 10,85	926,86± 30,06#
MMP8 (ng/ ml)	637,78± 73,34	672,71± 69,39	939,32± 24,57*#
MMP13 (ng/ml)	927,91± 32,37	931,93± 34,03	932,94± 64,62

(*: Kontrol grubuna göre, p<0,05; #: Artrit grubuna göre, p<0,05)

2.6.2.Eritrosit Sedimentasyon Hızındaki Değişiklikler

Çalışmanın sonunda gruplardan elde edilen 30. ve 60. dakika sedimentasyon değerleri mm/sa cinsinden kaydedilmiştir. 30. dakikadaki değerlere bakıldığında kontrol grubu 1,73 ±0,40 mm/sa, artrit grubu 1,43 ± 0,17 mm/sa ve artrit + egzersiz grubu 0,93 ± 0,12 mm/sa olarak bulunmuştur. 60. dakikadaki değerler ise kontrol grubu 2,55 ± 0,41 mm/sa, artrit grubu 3,00 ± 0,71 mm/sa ve artrit + egzersiz grubu 2,57 ± 0,88 mm/sa

şeklindedir. Bu değerlere bakıldığında artrit + egzersiz grubu, artrit grubuna göre 30. dakikada anlamlı olarak farklılık göstermiştir ($p=0,024$).

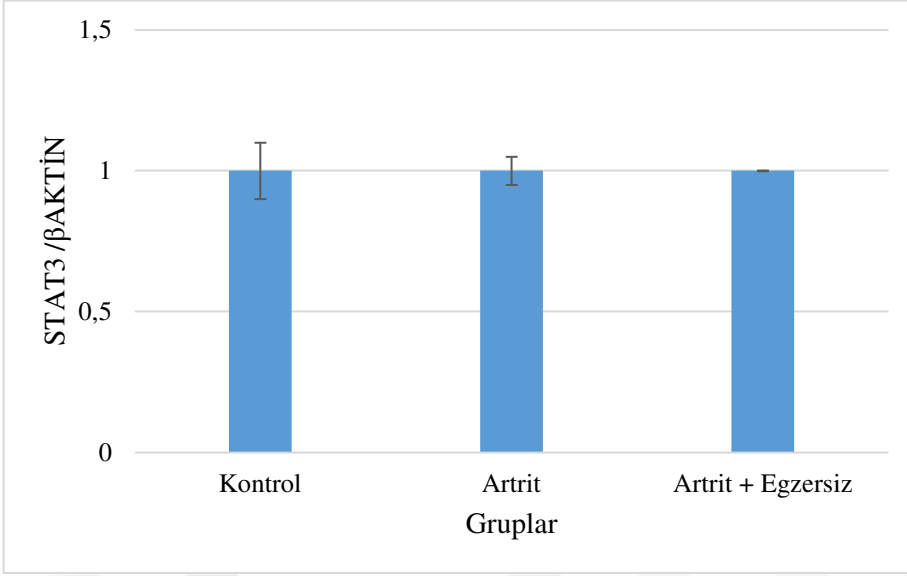


Şekil 19. Eritrosit Sedimentasyon Hızı

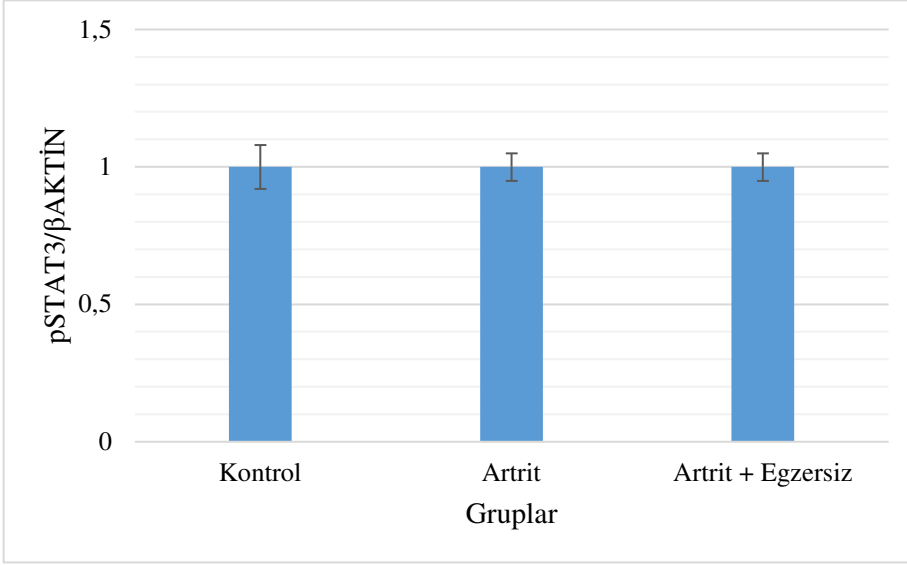
(#: Artrit grubuna göre, $p<0,05$).

2.7. Western Blot Analizi Bulguları

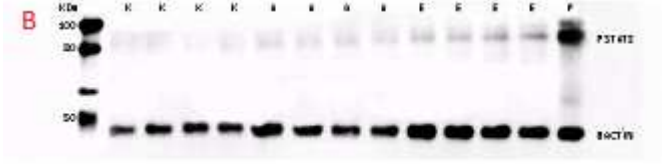
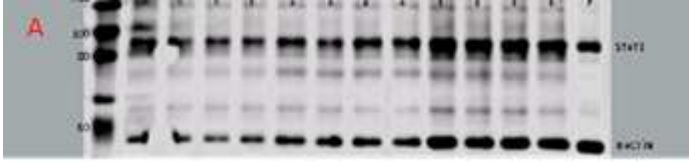
Çalışma sonunda alınan sinovyal doku örneklerindeki STAT3 ve pSTAT3 western blot analizi ile belirlenmiştir. Şekil 20 ve 21’de görüldüğü üzere her ikisi için de Artrit ve Artrit + Egzersiz grupları arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır.



Şekil 20. STAT3'ün western blot analiz sonucu



Şekil 21. pSTAT3'ün western blot analiz sonucu



Şekil 22. Western blot analizinin bantlaşma görüntüleri. A: STAT3 için bantlaşma görüntüsü. B: pSTAT3 için bantlaşma görüntüsü.

BEŞİNCİ BÖLÜM

TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER

5.1. Tartışma

Bu çalışmanın ana bulgusu yüzme egzersizinin, bizim uyguladığımız protokolde, sıçanlardaki adjuvan ile uyarılan artrit (AIA) modelinde ortaya çıkan artrit şiddetini azaltması ve uzun dönemde artrit iyileşmesine belirgin katkı sağlamasıdır.

Deney hayvanlarında artrit geliştirmek için pek çok model kullanılmaktadır. Adjuvan ile uyarılan artrit (AIA), kollajen ile uyarılan artrit (CIA), kıkırdak oligomerik matriks proteini (COMP) ile uyarılan artrit modelleri bunlardan bazılarıdır. Biz bu çalışmada sıçanlarda artrit geliştirmek için AIA modelini tercih ettik. Bu modelde RA'nın gelişme hızının yüksek olduğu bilinmektedir. Sıçanlara adjuvan uygulanmasından 10-14 gün sonra artrit semptomları görülmeye başlamaktadır. Eklem inflamasyonu, kıkırdak ve kemik erozyonu gibi patolojik özellikleri ile bu artrit modeli, insanda görülen RA'ya benzemektedir. Ankiloz gibi kalıcı eklem malformasyonları gelişebilmektedir. İnflamasyonlu eklemlerde aktifleşen T hücreleri de tespit edilmektedir. Hümorale ve hücre aracılı bağışıklığı incelemeye uygun bir modeldir (Choudhary vd., 2018; McNamee vd., 2015). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak adjuvan uygulamasının 14.gününde artrit bulguları ortaya çıkmıştır.

Egzersiz, uygun şekilde yapıldığında fiziksel zindeliği geliştirmenin yanında hastalıkları önlemede ve tedavi etmede etkilidir. Farmakolojik tedavinin doğal bir alternatifidir. Egzersizin türü, zamanı, sıklığı ve yoğunluğu hastalıklar üzerindeki tedavi edici etkisini değiştirmektedir. Yüzme egzersizi için yoğunluk, yapılan egzersiz süresi ile ölçülmektedir. 20-59 dk/gün düşük yoğunluk, 60-89 dk/gün orta yoğunluk ve ≥ 90 dk/gün yüksek yoğunluk olarak kabul edilmektedir (Guo vd., 2020). RA'da yüksek şiddetli egzersizin eklem hasarına sebep olarak hastalık aktivitesini artırdığı bilinmektedir. Bu yüzden egzersizlerin eklem üstüne daha az stres bindirerek eklemi koruması önemlidir. Orta

şiddette yapılan yüzme egzersizi RA'lı hastalar için güvenlidir (Siqueira vd., 2017; Van den Ende vd., 1996).

Biz çalışmamızda aerobik bir egzersiz olan yüzme egzersizini, orta yoğunlukta 6 hafta uyguladık. Yüzme egzersizinin RA'lı hastalarda aerobik kapasiteyi ve kas gücünü artırmasının yanı sıra bağışıklık sistemini de düzenlediği gösterilmiştir. Bağışıklık sistemini TNF- α , IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinleri azaltıp; IL-4, IL-5 gibi anti-inflamatuvar sitokinleri artırarak düzenleyebileceği pek çok çalışmada gösterilmiştir (Fujii vd., 2019; Ghiasi vd., 2016; Pedersen ve Saltin, 2015; Shirvani vd., 2021). Hastalığın meydana getirdiği ağrı, eklem sertliği, kas gücü kaybı gibi pek çok semptomu iyileştirerek yaşam kalitesini artırmada etkili olduğu bulunmuştur (Alkatan vd., 2016; Else vd., 2016; Navarro vd., 2010).

Çalışmamızda Artrit ve Artrit + Egzersiz gruplarının görsel klinik skorlama bulgularına bakıldığında adjuvan uygulamasının 14.gününden itibaren belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Egzersiz yapan gruptaki sıçanların görsel klinik skorları artrit grubundakilere göre anlamlı olarak daha azdır ($p < 0,05$). Aynı zamanda sıçanların pençe çaplarında meydana gelen değişikliklere bakıldığında; görsel klinik skorlama bulguları ile uyumlu olduğu görülmüştür. Çalışmamızda artrit indüksiyonundan bir hafta sonra sağ ve sol ayak bileği çapı dijital bir kumpas yardımı ile ölçülmüştür. Daha sonraki haftalarda yapılan ölçümler ilk ölçüm değerine göre % olarak ifade edilmiştir. Artrit grubundaki sıçanların pençe çaplarındaki değişim değerleri çalışma boyunca kontrol grubundan yüksek seyretmiştir. Öte yandan Artrit + Egzersiz grubu artrit grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Casanova-Vallve vd., (2020) yapmış oldukları çalışmada artrit modeli oluşturdukları sıçanlarda modelin 14.gününden sonra pençe çaplarında artış olduğunu kaydetmişlerdir. Abdelmawgoud ve Saleh, (2018)'in çalışmalarında da artrit modeli oluşturulan sıçanlar benzer şekilde pençe çaplarında artış göstermiştir. Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak artrit modeli oluşturulan sıçanların pençe çapları artmıştır. Düzenli olarak yapılan yüzme egzersizinin ise eklemlerde meydana gelen ödemi azalttığını söylemek mümkündür.

Çalışmamızda sakrifikasyondan bir gün önce (41.gün) sıçanların tüm ekstremitelerini içeren radyografi görüntüleri alınarak değerlendirilmiştir ve elde edilen sonuçlar görsel

klirik skorlamayı doğrular niteliktedir. Radyografi öncelikle inflamasyonun varlığını değerlendirmek için önemlidir. Hastalığın ileri evrelerinde ise yapısal değişiklikleri anlamamızı sağlamaktadır (Hürsoy, 2016). Değerlendirilen tüm parametreler (yumuşak doku şişliği, kartilaj kaybı, osteoporoz, erozyon, heterotopik ossifikasyon, periostal yeni kemik oluşumu) Artrit + Egzersiz grubunda, Artrit grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu sonuç, düzenli yapılan yüzme egzersizinin artrit neden olduğu kırık ve kemik hasarı üzerindeki iyileştirici etkisini göstermiştir.

Pençe çapındaki değişiklikler, görsel klinik skorlama ve radyolojik bulgular birbirini desteklerken; eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Oysa ki ESR, inflamatuvar aktivitenin en sık kullanılan laboratuvar bulgusudur (Miller vd., 1979). Gohil vd., (2017)'ın çalışmalarında sıçanlarda AIA modeli oluşturulmuş; 21.günde ESR ve serum C-reaktif protein (CRP) değerleri ölçülmüştür. Artrit modeli geliştirilen gruptaki ESR ve CRP değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Cai vd., (2006)'nın yaptıkları çalışmada adjuvan ile artrit modeli oluşturdukları sıçanlarda, adjuvan uygulamasından sonraki 0, 6, 12, 18, 24 ve 30.günlerde kuyruk arterinden kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örneklerinin analizinden elde edilen verilere göre; 12. güne kadar ESR değerleri artmış ve 12.günde en yüksek değerine ulaşmıştır. Ancak 12.günden sonra bu değer giderek azalmıştır. Biz çalışmamızda ESR'ye 42. günde baktık. Artritin alevlenme döneminin bitmesi sebebi ile ESR değerleri normale dönmüş olabilir.

Artritin vücut ağırlığını azalttığını gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (SanMiguel vd., 2016 ; Taksande vd., 2017). Kronik bir hastalık olan artritteki kilo kaybının sebebi IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin fazlalığı ile ilişkilendirilmektedir (Santo vd., 2018). Çalışmamızda tüm gruptaki haftalık ağırlık değişimlerini kaydettik. Elde ettiğimiz verilere göre artrit modeli oluşturulan sıçanlarda ağırlık değişimi 2. haftadan itibaren Kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Ancak çalışmanın sonunda egzersiz yapan artritli sıçanlar kontrol grubu ile benzer değerlere sahipken; egzersiz yapmayan artritli sıçanlarda kilo kaybı görülmektedir. Bu sonuç bize düzenli yapılan yüzme egzersizinin sadece eklemlerdeki artrit bulgularını iyileştirmekle kalmayıp; kronik hastalıklarda görülen kilo kaybının da önüne geçerek daha önemli bir etki yarattığını göstermiştir. Egzersizin bu etkiyi iskelet kas kütlelerini değiştirerek yapmış olması muhtemeldir. İskelet kas kütleleri,

vücut ağırlığının üçte birinden daha fazlasını oluşturmaktadır. Artrit gelişimi ile birlikte artan inflamasyon, ağrı, eklem hasarı gibi semptomların yanı sıra kas kütlelerinde ve gücünde azalma görülmektedir (Andonian ve Huffman, 2020). Egzersizin artritli sıçanlarda kas kütlelerini artırarak kilo kaybını yavaşlattığı düşünülebilir. Aynı zamanda artritli sıçanlarda kaşeksi sendromu da görülebilmektedir. Bu sendrom ile birlikte yorgunluk, halsizlik, iştahsızlık artmaktadır. Kaşeksi sendromunun sıçanların yem tüketimi üzerinde etkili olması mümkündür. (Taksande vd., 2017). Egzersiz, artrit klinik şiddetini iyileştirmekle birlikte sıçanlardaki yem tüketimini artırarak kilo kaybını yavaşlatmış olabilir. Biz çalışmamızda sıçanların tükettiği yem miktarınının takibini yapmadık ve kas dokularını incelemedik. Bunlar çalışmamızı kısıtlayan unsurlardandır.

RA'da hastalığın merkezinde sinovyum inflamasyonu yer almaktadır. Sinovyal tabakadaki yoğun hücreli infiltrasyonla birlikte bu tabaka giderek hipertrofik bir hale gelmektedir. Sinovyal doku, kemik ve kıkırdak dokularına doğru invaze olmaya başlayan karakteristik pannus dokusunu oluşturmaktadır. Pannusta yer alan MMP üreten mononükleer hücreler ile fibroblast benzeri hücreler eklem kıkırdağının ve subkondral kemik yapının aşınmasına neden olmaktadır (Lee ve Weinblatt, 2001). Çalışmamızda RA'da görülen bu histopatolojik değişiklikleri hücreli infiltrasyon, pannus oluşumu ve kemik rezorpsiyonu başlıkları altında değerlendirdik. Artrit grubundaki sıçanların pençelerinin histolojik incelemesinde yoğun inflamasyon gözlenmiştir. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu kortikal kemikte tam kat kayba; trabeküler kemikte ise belirgin rezorpsiyona sebep olmuştur. Artrit + Egzersiz grubundaki sıçanların pençelerinin histolojik incelemesinde ise; hafif düzeyde ödem ile kortikal ve trabeküler kemikte önemsiz yıkım tespit edilmiştir. Egzersiz yapan artritli sıçanlarda hücreli infiltrasyon, pannus oluşumu ve kemik rezorpsiyonunda artrit grubundaki sıçanlara göre anlamlı olarak azalma tespit edilmiştir. Şekil 16 ve 17'de de görüldüğü gibi, egzersiz artrit bulgularını düzeltici etki göstermiştir. Fujii vd., (2019) çalışmasında egzersizin, artrit eklemde meydana getirdiği yıkıcı etkileri azalttığını histopatolojik incelemelerle belirlemişlerdir. Cifuentes vd., (2010) çalışmasında da egzersizin eklem kıkırdağını korumaya katkı sağladığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da düzenli olarak yapılan yüzme egzersizinin inflamatuvar eklem hasarını azalttığı bulunmuştur.

Artrit patogenezinde, özellikle de eklem kıkırdağının yıkımında, önemli rol oynayan MMP'lerin düzeyini incelediğimizde MMP-13'te gruplar arasında anlamlı farklılık saptadık. Ancak incelenen diğer MMP düzeylerinde herhangi bir farklılık bulunamamıştır. Düzenli yüzme egzersizi yapan artritli sıçanlarda MMP-13 düzeyi, artrit ve kontrol grubundaki sıçanlardan düşük bulunmuştur. Egzersiz yaptırdığımız artritli sıçanlarda görülen histolojik ve radyolojik iyileşmelerde MMP aktivitesindeki değişikliklerin etkisinin olabileceği düşünülebilir. Ancak MMP düzeylerinde değişiklik olmaması yeni soruların oluşmasına yol açmıştır. Biz MMP seviyelerine plazmada baktık. Eklem dokusunda MMP aktivitesinin incelenmesi ile belki de daha farklı sonuçlar elde edilebilir. Bu durum çalışmamızın kısıtlılıklarından birini oluşturmaktadır.

Bu çalışmada, pro-inflamatuvar bir adipokin olarak kabul edilen leptinin plazmadaki düzeyine baktık. Ancak gruplar arasında bir farklılık saptamadık. Literatüre bakıldığında pek çok çalışmada egzersizin leptin düzeyini azalttığına dair sonuçlar bulunmaktadır (Becic vd., 2018 ; Fedewa vd., 2018; Sun vd., 2019). Buna karşılık bazı çalışmalar da egzersizin leptin düzeyini artırdığını söylemektedir (Higa vd., 2012). Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre, egzersiz leptin, STAT3 ve pSTAT3 düzeylerini değiştirmede ancak; leptin reseptör ekspresyonunu, hücre içi haberleşmede görev alan başka molekülleri değiştirmiş olabilir. Egzersizin leptin üzerindeki etkisi henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bunun için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Düzenli yüzme egzersizinin artritin şiddetini azaltıcı etkisinin klinik bulgularla gösterilmesinin yanı sıra histopatolojik ve radyolojik olarak da desteklenmesi çalışmamızın güçlü yönlerini oluşturmaktadır. Öte yandan çalışmamızın bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Bu kısıtlılıklardan biri gıda alımı takibinin yapılmamasıdır. Buna ek olarak, inflamatuvar bir belirteç olan ESR düzeyine RA'nın alevlenme döneminde bakılmaması çalışmamızın kısıtlayıcı unsurlarındandır. Çalışmamızın diğer bir kısıtlayıcı unsuru MMP düzeylerinin sadece plazmada incelenmiş olmasıdır. MMP aktivitesinin eklem dokusunda da incelenmesi ile farklı sonuçlar elde edilebileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızdan yola çıkarak egzersizin leptin üzerindeki etkisinin açıklanması için leptinin plazmadaki seviyesi ile birlikte leptin reseptör ekspresyonu ve leptin aktivitesinin de incelenmesinin önemli olduğunu ifade etmek mümkündür.

5.2. Sonuç ve Öneriler

Son yıllarda egzersizin potansiyel bir anti-inflamatuvar araç olarak reçetelendirilmesi kavramı ortaya çıkmıştır. İnflamatuvar artritler de dahil olmak üzere çeşitli kronik hastalıklar üzerinde etkileri görülmektedir (Pedersen ve Saltin, 2015). Deneysel artrit modeli oluşturulan sıçanlara 6 hafta yüzme egzersizi yaptırılan bir çalışmada yüzme egzersizinin aktif lenfositler ve makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu engellediği bulunmuştur (Navarro vd., 2010). Azez vd., (2020)'ın 66 RA hastası ile yürüttükleri çalışmalarında, aerobik ve dirençli egzersiz programları uygulanmıştır. Sonuçlar fiziksel egzersizin, RA hastalarında yorgunluk semptomlarını azaltmasının yanı sıra kardiyovasküler zindelikte iyileşme sağladığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda deneysel AIA modeli oluşturulan sıçanlarda 6 hafta uygulanan düzenli yüzme egzersizinin görsel klinik skoru azalttığı bulunmuştur. Bu bulgu radyolojik ve histopatolojik bulgularla desteklenmiştir. Bunlara ek olarak yüzme egzersizinin RA'ya eşlik eden kilo kaybı üzerinde de iyileştirici etkisi olduğu saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda ve literatürdeki diğer çalışmalarda, yüzme egzersizin RA üzerindeki iyileştirici etkileri ortaya çıkarılmıştır. RA hastaları için olumlu etkilere sahip olan yüzme egzersizi, uygulanabilir ve güvenlidir.



KAYNAKÇA

- Abdelmawgoud, H. ve Saleh, A. (2018). “*Anti-inflammatory and antioxidant effects of mesenchymal and hematopoietic stem cells in a rheumatoid arthritis rat model*”. *Adv Clin Exp Med*, 27(7), 873-880.
- Ackerman, N. R., Rooks, W. H., Shott, L., Genant, H., Maloney, P., West, E. (1979). “*Effects of naproxen on connective tissue changes in the adjuvant arthritic rat*”. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 22(12), 1365-1374.
- Akkoc, N. ve Akar, S. (2006). “*Epidemiology of rheumatoid arthritis in Turkey*”. *Clinical rheumatology*, 25(4), 560-561.
- Alkatan, M., Baker, J. R., Machin, D. R., Park, W., Akkari, A. S., Pasha, E. P., Tanaka, H. (2016). “*Improved function and reduced pain after swimming and cycling training in patients with osteoarthritis*”. *The Journal of rheumatology*, 43(3), 666-672.
- Andonian, B. J. ve Huffman, K. M. (2020). “*Skeletal muscle disease in rheumatoid arthritis: the center of cardiometabolic comorbidities?*”. *Current opinion in rheumatology*, 32(3), 297-306.
- Aslan, K., Serdar, Z., Tokullugil, H. A. (2004). “*Multifonksiyonel hormon: leptin*”. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 30(2), 113-118.
- Atzeni, F., Talotta, R., Masala, I. F., Bongiovanni, S., Boccassini, L., Sarzi-Puttini, P. (2017). “*Biomarkers in Rheumatoid Arthritis*”. *The Israel Medical Association Journal: IMAJ*, 19(8), 512-516.
- Azouz, A. A., Saleh, E., Abo-Saif, A. A. (2020). “*Aliskiren, tadalafil, and cinnamaldehyde alleviate joint destruction biomarkers; MMP-3 and RANKL; in complete Freund's adjuvant arthritis model: Downregulation of IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway*”. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28(9), 1101-1111.

- Bakshi, A., Singh, R., Rai, U. (2021). “*Trajectory of leptin and leptin receptor in vertebrates: Structure, function and their regulation*”. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 110652.
- Bartels, E. M., Juhl, C. B., Christensen, R., Hagen, K. B., Danneskiold-Samsøe, B., Dagfinrud, H., Lund, H. (2016). “*Aquatic exercise for the treatment of knee and hip osteoarthritis*”. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (3).
- Becic, T., Studenik, C., Hoffmann, G. (2018). “*Exercise Increases Adiponectin and Reduces Leptin Levels in Prediabetic and Diabetic Individuals: Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*”. *Medical Sciences*, 6(4), 97.
- Benatti, F. B., Polacow, V. O., Ribeiro, S. M. L., Gualano, B., Coelho, D. F., Rogeri, P. S., Costa, A.S., Lancha Junior, A. H. (2008). “*Swimming training down-regulates plasma leptin levels, but not adipose tissue ob mRNA expression*”. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 41(10), 866-871.
- Bowes, J. ve Barton, A. (2008). “*Recent advances in the genetics of RA susceptibility*”. *Rheumatology*, 47(4), 399-402.
- Burghardt, R. D., Kazim, M. A., Rütther, W., Niemeier, A., Strahl, A. (2019). “*The impact of physical activity on serum levels of inflammatory markers in rheumatoid arthritis: a systematic literature review*”. *Rheumatology international*, 1-12.
- Burmester, G. R., Pope, J. E. (2017). “*Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis*”. *The Lancet*, 389(10086), 2338-2348.
- Burrage, P. S., Mix, K. S., Brinckerhoff, C. E. (2006). “*Matrix metalloproteinases: role in arthritis*”. *Front Biosci*, 11(1), 529-543.
- Cai, X., Wong, Y. F., Zhou, H., Xie, Y., Liu, Z. Q., Jiang, Z. H., Bian, Z. X., Xu, H. X., Liu, L. (2006). “*The comparative study of Sprague–Dawley and Lewis rats in adjuvant-induced arthritis*”. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 373(2), 140.

- Cao, H., Lin, J., Chen, W., Xu, G., Sun, C. (2016). “*Baseline adiponectin and leptin levels in predicting an increased risk of disease activity in rheumatoid arthritis: a meta-analysis and systematic review*”. *Autoimmunity*, 49(8), 547-553.
- Casanova-Vallve, N., Constantin-Teodosiu, D., Filer, A., Hardy, R. S., Greenhaff, P. L., Chapman, V. (2020). “*Skeletal muscle dysregulation in rheumatoid arthritis: Metabolic and molecular markers in a rodent model and patients*”. *PloS one*, 15(7), e0235702.
- Chen, J., Xie, Z., Bin, Z. (2021). “*The Association Between Serum Leptin Levels and Cardiovascular Events in Patients with Rheumatoid Arthritis*”. *Laboratory Medicine*, 52(1), 86-92.
- Choudhary, N., Bhatt, L. K., Prabhavalkar, K. S. (2018). “*Experimental animal models for rheumatoid arthritis*”. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 40(3), 193-200.
- Cui, N., Hu, M., Khalil, R. A. (2017). “*Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases*”. *Progress in molecular biology and translational science*, 147, 1-73.
- De Souza Fatel, E. C., Rosa, F. T., Dichi, I. (2018). “*Adipokines in rheumatoid arthritis*”. *Advances in Rheumatology*, 58(1), 25.
- Del Prete, A., Salvi, V., Sozzani, S. (2014). “*Adipokines as potential biomarkers in rheumatoid arthritis*”. *Mediators of inflammation*.
- Dornbush, S. ve Aeddula, N. R. (2020). “*Physiology, Leptin. StatPearls*” [Internet].
- Dorneles, G. P., da Silva, I., Boeira, M. C., Valentini, D., Fonseca, S. G., Lago, P. D., Peres, A., Romão, P. R. (2019). “*Cardiorespiratory fitness modulates the proportions of monocytes and T helper subsets in lean and obese men*”. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*.

- Entezami, P., Fox, D. A., Clapham, P. J., Chung, K. C. (2011). "*Historical perspective on the etiology of rheumatoid arthritis*". *Hand clinics*, 27(1), 1-10.
- Fang, J. ve Tang, M. (2017). "*Exercise improves high fat diet-impaired vascular function*". *Biomedical reports*, 7(4), 337-342.
- Fasshauer, M. ve Blüher, M. (2015). "*Adipokines in health and disease*". *Trends in pharmacological sciences*, 36(7), 461-470.
- Fedewa, M. V., Hathaway, E. D., Ward-Ritacco, C. L., Williams, T. D., Dobbs, W. C. (2018). "*The effect of chronic exercise training on leptin: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials*". *Sports Medicine*, 48(6), 1437-1450.
- Fernández-Riejos, P., Najib, S., Santos-Alvarez, J., Martín-Romero, C., Pérez-Pérez, A., González-Yanes, C., Sánchez-Margalet, V. (2010). "*Role of leptin in the activation of immune cells*". *Mediators of inflammation*, 2010.
- Francisco, V., Ruiz-Fernández, C., Pino, J., Mera, A., Gonzalez-Gay, M. A., Gómez, R., Lago, F., Mobasheri, A., Gualillo, O. (2019). "*Adipokines: linking metabolic syndrome, the immune system, and arthritic diseases*". *Biochemical pharmacology*.
- Fujii, Y., Inoue, H., Arai, Y., Shimomura, S., Nakagawa, S., Kishida, T., Tsuchida, S., Kamada, Y., Kaihara, K., Shirai, T., Terauchi, R., Toyama S., Ikoma, K., Mazda, O., Mikami, Y. (2019). "*Treadmill running in established phase arthritis inhibits joint destruction in rat rheumatoid arthritis models*". *International journal of molecular sciences*, 20(20), 5100.
- Garofalo, C. ve Surmacz, E. (2006). "*Leptin and cancer*". *Journal of cellular physiology*. 207(1), 12-22.
- Ghiasi, R., Mohaddes, G., Alihemmati, A., Somi, M. H., Ebrahimi, H., Alipour, M. R. (2016). "*Influence of regular swimming on serum levels of CRP, IL-6, TNF- α in high-*

fat diet-induced type 2 diabetic rats". General physiology and biophysics, 35(4), 469-476.

Gómez-SanMiguel, A. B., Gomez-Moreira, C., Nieto-Bona, M. P., Fernández-Galaz, C., Villanúa, M. Á., Martín, A. I., López-Calderón, A. (2016). "*Formoterol decreases muscle wasting as well as inflammation in the rat model of rheumatoid arthritis*". American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 310(11), E925-E937.

Grassi, W., De Angelis, R., Lamanna, G., Cervini, C. (1998). "*The clinical features of rheumatoid arthritis*". European journal of radiology, 27, S18-S24.

Greysen, H. M., Hong, O. S., Katz, P. (2019). "*The Association Between Yoga Use, Physical Function, and Employment in Adults With Rheumatoid Arthritis*". Holistic nursing practice, 33(2), 71-79.

Guo, S., Huang, Y., Zhang, Y., Huang, H., Hong, S., Liu, T. (2020). "*Impacts of exercise interventions on different diseases and organ functions in mice*". Journal of sport and health science, 9(1), 53-73.

Harris ED, Budd RC, Genovese MC, Firestein GS, (Eds). "*Kelly's textbook of rheumatology.*" Kelly's Romatoloji, 7. Baskı, Araslı T, Öncü Basımevi, Ankara, 2006: 996-1100.

Higa, T. S., Bergamo, F. C., Mazzucatto, F., Fonseca-Alaniz, M. H., Evangelista, F. S. (2012). "*Physical training prevents body weight gain but does not modify adipose tissue gene expression*". Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 45(10), 988-994.

Houseknecht, K. L. ve Portocarrero, C. P. (1998). "*Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis*". Domestic animal endocrinology, 15(6), 457-475.

- Humphry Rolleston, B. (1925). “*Rheumatoid Arthritis; its causation and treatment*”. Canadian Medical Association Journal, 15(9), 889.
- Hürsoy, N. (2016). “*Romatoid artrit tanısında el MR görüntülemenin katkısı ve laboratuvar bulgularla korelasyonu*”. Tıpta uzmanlık tezi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara.
- Jethwa, H. ve Abraham, S. (2017). “*The evidence for microbiome manipulation in inflammatory arthritis*”. Rheumatology, 56(9), 1452-1460.
- Kalva, S., Vinod, D., Saleena, L. M. (2014). “*Combined structure-and ligand-based pharmacophore modeling and molecular dynamics simulation studies to identify selective inhibitors of MMP-8*”. Journal of molecular modeling, 20(5), 1-18.
- Kelley, G. A., Kelley, K. S., Callahan, L. F. (2018). “*Community-deliverable exercise and anxiety in adults with arthritis and other rheumatic diseases: a systematic review with meta-analysis of randomised controlled trials*”. BMJ open, 8(2), e019138.
- Küçükdeveci, A. A. (2019). “*Nonpharmacological treatment in established rheumatoid arthritis*”. Best Practice & Research Clinical Rheumatology, 33(5), 101482.
- Kvien TK. (2004). “*Epidemiology and Burden of Illness of Rheumatoid Arthritis*”. Pharmacoeconomics, 22, 1, 1-12
- Kwon, O., Kim, K. W., Kim, M. S. (2016). “*Leptin signalling pathways in hypothalamic neurons*”. Cellular and Molecular Life Sciences, 73(7), 1457-1477.
- Lambova, S. (2018). “*Exercise programmes for osteoarthritis with different localization*”. Current rheumatology reviews, 14(2), 123-130.
- Lazar, J. M., Khanna, N., Chesler, R., Saliccioli, L. (2013). “*Swimming and the heart*”. International journal of cardiology, 168(1), 19-26.
- Lee D. M. ve Weinblatt M.E. (2001). “*Rheumatoid arthritis*”. The Lancet. 358/15: 903- 911.

- Lin, Y. J., Anzaghe, M., Schülke, S. (2020). “*Update on the pathomechanism, diagnosis, and treatment options for rheumatoid arthritis*”. *Cells*, 9(4), 880.
- Littlejohn, E. A. ve Monrad, S. U. (2018). “*Early diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis*”. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 45(2), 237-255.
- Mac Donald, I. J., Liu, S. C., Huang, C. C., Kuo, S. J., Tsai, C. H., Tang, C. H. (2019). “*Associations between Adipokines in Arthritic Disease and Implications for Obesity*”. *International journal of molecular sciences*, 20(6), 1505.
- McInnes, I. B. ve Schett, G. (2007). “*Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis*”. *Nature Reviews Immunology*, 7(6), 429-442.
- McNamee, K., Williams, R., Seed, M. (2015). “*Animal models of rheumatoid arthritis: how informative are they?*”. *European journal of pharmacology*, 759, 278-286.
- Meesters, J., Verhoef, J., Tijhuis, G., Vliet Vlieland, T. (2013). “*Functional disability in patients with rheumatoid arthritis admitted for multidisciplinary rehabilitation from 1992 to 2009*”. *Rheumatology*, 52(10), 1879-1883.
- Metsios, G. S., Moe, R. H., Kitas, G. D. (2020). “*Exercise and inflammation*”. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 101504.
- Miller, M. L., Samuelson Jr, C. O., Ward, J. R. (1979). “*Normal erythrocyte sedimentation rate with hyperfibrinogenemia in 6-sulfanilamidoindazole arthritis*”. *The Journal of rheumatology*, 6(2), 131-134.
- Miossec P. ve Van Den Berg W. (1997). “*Th1/Th2 Cytokine Balance in Arthritis*”. *Arthritis & Rheumatism*, 40, 12, 2105-2115
- Morinobu, A. (2020). “*JAK inhibitors for the treatment of rheumatoid arthritis*”. *Immunological Medicine*, 43(4), 148-155.

- Münzberg, H. ve Morrison, C. D. (2015). “*Structure, production and signaling of leptin*”. *Metabolism*, 64(1), 13-23.
- Nagase, H., Visse, R., Murphy, G. (2006). “*Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs*”. *Cardiovascular research*, 69(3), 562-573.
- Navarro, F., Bacurau, A. V., Almeida, S. S., Barros, C. C., Moraes, M. R., Pesquero, J. L., Riberio, S. M. L., Araujo, R. C., Costa Rosa, L. F.B. P., Bacurau, R. F. (2010). “*Exercise prevents the effects of experimental arthritis on the metabolism and function of immune cells*”. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*, 28(4), 266-273.
- Osthoff, A. K. R., Juhl, C. B., Knittle, K., Dagfinrud, H., Hurkmans, E., Braun, J., Schoones J., Theodora, P. M., Vlieland, V., Niedermann, K. (2018). “*Effects of exercise and physical activity promotion: meta-analysis informing the 2018 EULAR recommendations for physical activity in people with rheumatoid arthritis, spondyloarthritis and hip/knee osteoarthritis*”. *RMD open*, 4(2), e000713
- Öncel, M. (2012). “*Matriks Metalloproteinazlar ve Kanser*”. *Eur J Basic Med Sci*, 2(3), 91-100.
- Paz-Filho, G., Mastronardi, C., Franco, C. B., Wang, K. B., Wong, M. L., Licinio, J. (2012). “*Leptin: molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications*”. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 56(9), 597-607.
- Pedersen, B. K. ve Saltin, B. (2015). “*Exercise as medicine—evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases*”. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 25, 1-72.
- Peres, D., Sagawa, J. Y., Dugue, B., Domenech, S. C., Tordi, N., Prati, C. (2017). “*The practice of physical activity and cryotherapy in rheumatoid arthritis: systematic review*”. *European journal of physical and rehabilitation medicine*, 53(5), 775-787

- Pope, J. E. (2020). “*Management of fatigue in rheumatoid arthritis*”. RMD open, 6(1), e001084.
- Procaccini, C., La Rocca, C., Carbone, F., De Rosa, V., Galgani, M., Matarese, G. (2017). “*Leptin as immune mediator: Interaction between neuroendocrine and immune system*”. Developmental & Comparative Immunology, 66, 120-129.
- Proença, A. R., Sertié, R. A. L., Oliveira, A. C., Campaaa, A. B., Caminhotto, R. O., Chimin, P., Lima, F. B. (2014). “*New concepts in white adipose tissue physiology*”. Brazilian journal of medical and biological research, 47, 192-205.
- Rajesh, Y. ve Sarkar, D. (2021). “*Association of Adipose Tissue and Adipokines with Development of Obesity-Induced Liver Cancer*”. International Journal of Molecular Sciences, 22(4), 2163.
- Santo, R. C., Fernandes, K. Z., Lora, P. S., Filippin, L. I., Xavier, R. M. (2018). “*Prevalence of rheumatoid cachexia in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis*”. Journal of cachexia, sarcopenia and muscle, 9(5), 816-825.
- Scotece, M. ve Mobasheri, A. (2015). “*Leptin in osteoarthritis: focus on articular cartilage and chondrocytes*”. Life sciences, 140, 75-78.
- Shirvani, H., Mirnejad, R., Soleimani, M., Arabzadeh, E. (2021). “*Swimming exercise improves gene expression of PPAR- γ and downregulates the overexpression of TLR4, MyD88, IL-6, and TNF- α after high-fat diet in rat skeletal muscle cells*”. Gene, 775, 145441.
- Shmerling, R. H. ve Delbanco, T. L. (1991). “*The rheumatoid factor: an analysis of clinical utility*”. The American journal of medicine, 91(5), 528-534.
- Siqueira, U. S., Valente, L. G. O., de Mello, M. T., Szejnfeld, V. L., Pinheiro, M. M. 2017. “*Effectiveness of Aquatic Exercises in Women With Rheumatoid Arthritis: A*

Randomized, Controlled, 16-Week Intervention—The HyDRA Trial". American journal of physical medicine & rehabilitation, 96(3), 167-175.

Smolen, J. S., Aletaha, D., McInnes, I. B. (2016). "*Rheumatoid arthritis*". Lancet (Lond Engl) 388 (10055): 2023–2038.

Snehalatha, U., Anburajan, M., Venkatraman, B., Menaka, M. (2013). "*Evaluation of complete Freund's adjuvant-induced arthritis in a Wistar rat model*". Zeitschrift für Rheumatologie, 72(4), 375-382.

Snoussi, K., Strosberg, A. D., Bouaouina, N., Ahmed, S. B., Helal, A. N., Chouchane, L. (2006). "*Leptin and leptin receptor polymorphisms are associated with increased risk and poor prognosis of breast carcinoma*". BMC cancer, 6(1), 1-10.

Sorsa, T., Konttinen, Y., Lindy, O., Ritchlin, C., Saari, H., Suomalainen, K., Eklund, K. K., Santavirta, S. (1992). "*Collagenase in synovitis of rheumatoid arthritis*". In Seminars in arthritis and rheumatism (Vol. 22, No. 1, pp. 44-53). WB Saunders.

Storey, G. O., Comer, M., Scott, D. L. (1994). "*Chronic arthritis before 1876: early British cases suggesting rheumatoid arthritis*". Annals of the rheumatic diseases, 53(9), 557.

Sun, L., Lv, Y., Tian, J., Yu, T., Niu, F., Zhang, X., Du, D. (2019). "*Regular Swimming Exercise Attenuated Neuroma Pain in Rats: Involvement of Leptin and Adiponectin*". The Journal of Pain.

Sweeney, G. (2002). "*Leptin signalling*". Cellular signalling, 14(8), 655-663.

Taksande, B. G., Gawande, D. Y., Chopde, C. T., Umekar, M. J., Kotagale, N. R. (2017). "*Agmatine ameliorates adjuvant induced arthritis and inflammatory cachexia in rats*". Biomedicine & Pharmacotherapy, 86, 271-278.

Tanaka, Y. (2020). "*A review of upadacitinib in rheumatoid arthritis*". Modern Rheumatology, 30(5), 779-787.

- Taylor, P. C. ve Narayan, N. (2018). “*Aetiopathology of rheumatoid arthritis*”. *Medicine*, 46(4), 207-210.
- Triantafyllou, G. A., Paschou, S. A., Mantzoros, C. S. (2016). “*Leptin and hormones: energy homeostasis*”. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 45(3), 633-645.
- Uysal, N., Agilkaya, S., Sisman, A. R., Camsari, U. M., Gencoglu, C., Dayi, A., Aksu, I., Baykara, B., Cingoz, S., Kiray, M. (2017). “*Exercise increases leptin levels correlated with IGF-1 in hippocampus and prefrontal cortex of adolescent male and female rats*”. *Journal of chemical neuroanatomy*, 81, 27-33.
- Van den Ende, C. H., Hazes, J. M., le Cessie, S., Mulder, W. J., Belfor, D. G., Breedveld, F. C., Dijkmans, B. A. (1996). “*Comparison of high and low intensity training in well controlled rheumatoid arthritis. Results of a randomised clinical trial*”. *Annals of the rheumatic diseases*, 55(11), 798-805.
- Vázquez-Vela, M. E. F., Torres, N., Tovar, A. R. (2008). “*White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity*”. *Archives of medical research*, 39(8), 715-728.
- Volkov, M., van Schie, K. A., van der Woude, D. (2020). “*Autoantibodies and B Cells: The ABC of rheumatoid arthritis pathophysiology*”. *Immunological reviews*, 294(1), 148-163.
- Wang, Z., Huang, X., Ye, X., Li, X., Wei, J. (2021). “*Roles of leptin on the key effector cells of rheumatoid arthritis*”. *Immunology Letters*.
- Wen, Z. ve Chai, Y. (2021). “*Effectiveness of resistance exercises in the treatment of rheumatoid arthritis: A meta-analysis*”. *Medicine*, 100(13).

- Williamson, E., McConkey, C., Heine, P., Dosanjh, S., Williams, M., Lamb, S. E. (2017). *“Hand exercises for patients with rheumatoid arthritis: an extended follow-up of the SARAH randomised controlled trial”*. *BMJ open*, 7(4), e013121.
- Withrow, J., Murphy, C., Liu, Y., Hunter, M., Fulzele, S., Hamrick, M. W. (2016). *“Extracellular vesicles in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and osteoarthritis”*. *Arthritis research & therapy*, 18(1), 1-12.
- Yang, P., Qian, F. Y., Zhang, M. F., Xu, A. L., Wang, X., Jiang, B. P., Zhou, L. L. (2019). *“Th17 cell pathogenicity and plasticity in rheumatoid arthritis”*. *Journal of leukocyte biology*, 106(6), 1233-1240.
- Yu, N., Ruan, Y., Gao, X., Sun, J. (2017). *“Systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials on the effect of exercise on serum leptin and adiponectin in overweight and obese individuals”*. *Hormone and Metabolic Research*, 49(03), 164-173.

EKLER

EK 1

ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	:02.09.2019
TOPLANTI SAYISI	:2019/06
DOSYA KAYIT NUMARASI	:2019- 1900120796
KARAR NUMARASI	:2019/06-04
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	:Tuğçe YAVAŞ, Öğr. Gör. P

HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI :Çalışmada 90 adet Wistar cinsi sıçan kullanılacaktır.

Proje yürütücüsü Prof. Dr. Mustafa EDREMLİOĞLU, tarafından Etik Kurulumuza sunulan "Deneysel Romatoid Artrit Modelinde Yüzme Egzersizinin Etkilerinin ve Mekanizmasının Araştırılması" başlıklı proje Hayvan Deneylerine ilişkin ilgili mevzuat hükümleri çerçevesinde Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna; oybirliği ile karar verilmiştir.