



**PİNEALEKTOMİ YAPILMIŞ SIÇANLARDA  
MONOSODYUM ÜRAT KRİSTAL KAYNAKLI  
GUT ARTİRİTİ ÜZERİNE EKSOJEN  
MELATONİNİN ETKİLERİ**

**Arwa Fadhil Haqi BALLUR**

**2022  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
TIBBİ BİYOKİMYA**

**Tez Danışmanı  
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR**

**PİNEALEKTOMİ YAPILMIŞ SIÇANLARDA MONOSODYUM ÜRAT  
KRİSTAL KAYNAKLI GUT ARTİRİTİ ÜZERİNE EKSOJEN  
MELATONİNİN ETKİLERİ**

**Arwa Fadhil Haqi BALLUR**

**T.C.  
Karabük Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında  
Yüksek Lisans Tezi  
Olarak Hazırlanmıştır**

**Tez Danışmanı  
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR**

**KARABÜK  
Ocak 2022**

Arwa Fadhil Haqi BALLUR tarafından hazırlanan “PİNEALEKTOMİ YAPILMIŞ SIÇANLARDA MONOSODYUM ÜRAT KRİSTAL KAYNAKLI GUT ARTİRİTİ ÜZERİNE EKSOJEN MELATONİNİN ETKİLERİ” başlıklı bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR

.....

Tez Danışmanı, Fizyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından Oy Birliği ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 25/01/2022

Ünvanı, Adı SOYADI (Kurumu)

İmzası

Başkan : Prof. Dr. İhsan HALİFEOĞLU ( FÜ)

.....

Üye : Prof. Dr. Eyüp ALTINÖZ ( KBÜ)

.....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR ( KBÜ)

.....

KBÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu, bu tez ile, Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Hasan SOLMAZ

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

*“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”*

Arwa Fadhil Haqi BALLUR

## ÖZET

**Yüksek Lisans Tezi**

### **PİNEALEKTOMİ YAPILMIŞ SIÇANLARDA MONOSODYUM ÜRAT KRİSTAL KAYNAKLI GUT ARTİRİTİ ÜZERİNE EKSOJEN MELATONİNİN ETKİLERİ**

**Arwa Fadhil Haqi BALLUR**

**Karabük Üniversitesi**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı:**

**Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR**

**Ocak 2022, 91 sayfa**

Gut, pürin katabolik yolu bozuklukları tarafından tetiklenen, sinoviyal eklemler ve dokularda monosodyum urat (MSÜ) kristallerinin birikmesine yol açan, yüksek serum urat seviyesi (hiperürisemi) ile karakterize metabolik bir hastalıktır. Serum urat konsantrasyonlarındaki artış (hiperürisemi,  $\geq 7.0$  mg/dl) kıkırdakta, sinovial bursada, tendonlarda veya yumuşak dokularda MSÜ kristallerinin birikmesiyle ortaya çıkan enflamasyon şeklinde kendini gösterir. Eklemlerde kristalize MSÜ birikiminin gut için merkezi bir risk faktörü olduğu artık genel olarak kabul edilmektedir. MSÜ kristalleri güçlü enflamasyon indükleyicisidirler. Bu kristaller eklem içinde, lokal bir enflamatuvar reaksiyon oluşumunu, nötrofil alımını ve pro-enflamatuvar sitokinlerin yanı sıra diğer enflamatuvar araçların üretimini tetiklemektedirler.

Sirkadiyen ritimler, bireylerin yaşadıkları çevredeki günlük değişikliklere göre fizyolojik ve patolojik yanıtların oluşturulmasında önemli rol oynamaktadırlar. Sirkadiyen ritmi düzenlemek için salgılanan Melatonin (MLT), antiinflamatuvar, antitümör ve antiapoptotik etkilere sahiptir. Bunun yanında MLT, reaktif türleri doğrudan süpürme ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırarak antioksidan savunma sistemini modüle etme kapasitesi sayesinde oksidatif stresi azaltan güçlü bir antioksidandır. MSÜ kristalleri en güçlü proenflamatuvar uyaranlar arasındadır. Nötrofillerin MSÜ kristallerine verdiği yanıtlar gut ile ilişkili akut enflamatuvar yanıtın önemli bir bileşenidir. Son çalışmalar, MLT' de dahil olmak üzere çeşitli faktörlerin, nötrofillerin ritmik göçünün düzenlenmesinde rol oynadığını göstermiştir. Ancak endojen MLT' in ritmik nötrofil göçünü nasıl düzenlediğinin altında yatan mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır.

Bu çalışmada, MLT 'in gut artriti üzerindeki potansiyel etkilerinin yanı sıra melatonin yoksunluğunda gelişen gut artritinin araştırılması için MSÜ kristali ile indüklenen deneysel bir sıçan modeli kurulmuştur. Bu çalışmada yine MLT ile tedavi edilen ve melatonin yoksunluğu yaşayan gut artriti sıçanlarda, anti-enflamatuvar ve anti-oksidatif etkilerle ilişkili olası altta yatan mekanizmalar da incelenmiştir.

Çalışma 250-300 g ağırlığında 70 erkek Wistar Albino sıçanı üzerinde gerçekleştirildi. Sıçanlar 7 gruba ayrıldı (Kontrol, Sham Pinealektomi (PINX), Monosodyum urat (MSÜ) (Model), MSU+MLT, PINX, PINX+MSU, PINX+MSU+MLT grup) (n=10). PINX işlemi yapılan gruplarda bu işlem, deneyin ilk günü gerçekleştirildi. MSÜ enjeksiyonu yapılan gruplarda MSÜ enjeksiyonları, 30. günde tek doz intraartiküler olarak MSÜ (20mg/ml) 50 µL steril PBS hacminde uygulandı. MLT enjeksiyonu yapılan gruplarda MLT enjeksiyonları, deneyin ilk gününden itibaren 30 gün boyunca 10 mg/kg dozda intraperitoneal olarak gerçekleştirildi.

Bizim çalışmamızda sıçanlara PINX uygulanması ve MSÜ enjeksiyonu, GSH seviyelerinde ciddi düşüslere neden olmuştur. Bu azalma, artan oksidatif strese bağlı olabilir ve GSH' nin süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek ve onları nötralize

ederek oksidatif stresin üstesinden gelebilmek için tükendiğini göstermektedir. MLT takviyesi yapılan sıçan gruplarımızda GSH ve TAS düzeylerinde anlamlı artışlar gözlemlenirken, total oksidan seviyelerinde (TOS) ve oksidatif stres indeksinde (OSİ) ciddi iyileşmeler olduğu görülmüştür. Çalışmamıza ait histopatolojik hasar skorları incelendiğinde MSÜ' nun kıkırdak dokuda destrüksiyonunu, yer yer kemik erozyonunu, çevre dokuda yaygın enflamatuvar hücre infiltrasyonunu arttırdığı melatoninin ise bu histopatolojik değişiklikleri belirgin olarak azalttığı gözlemlenmiştir.

Antioksidanların kapasitelerinde azalma, serbest radikal üretiminde artma ve yaşlanma süreci ile gut gibi hastalıkların hem prevalansı hem de insidansı artmaktadır. Endojen MLT' in bu süreçteki koruyucu etkisi, serbest radikallerin oluşturduğu hücre hasarları azaltmak ya da immüniteyi düzenlemek suretiyle kendini göstermektedir. Ancak endojen MLT' in yetersiz kaldığı durumlarda ise muhtemel protektif etkinin devamlılığı bakımından eksojen MLT uygulaması ihtiyacı oluşabilmektedir. Sonuç olarak melatoninin gut hastalığında görülen patolojik değişiklikler üzerine antioksidan ve antienflamatuvar etkisi sayesinde iyileştirici etkiye sahip olduğu, bu nedenle medikal tedavi yanında takviye olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Ancak bunun için daha ileri klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Gut, Oksidatif Stres, Melatonin, Pinealektomy, Monosodyum  
ürat.

**Bilim Kodu** : 1090

## **ABSTRACT**

**M. Sc. Thesis**

### **EFFECTS OF EXOGENOUS MELATONIN ON MONOSODIUM URATE CRYSTAL-INDUCED GOUT ARTHRITIS IN PINEALECTOMIZED RATS**

**Arwa Fadhil Haqi BALLUR**

**Karabük University**

**Institute of Graduate Programs**

**Department of Medical Biochemistry**

**Thesis Advisor:**

**Assist. Prof. Mehmet DEMİR**

**January 2022, 91 pages**

Gout is a metabolic disease characterized by high serum urate level (hyperuricemia) triggered by purine catabolic pathway disorders, leading to the accumulation of monosodium urate (MSU) crystals in synovial joints and tissues. Increase in serum urate concentrations (hyperuricemia,  $\geq 7.0$  mg/dL) is manifested in the inflammation induced by the deposition of MSU crystals in cartilage, synovial bursa, tendons, or soft tissues. It is currently accepted that the accumulation of crystallized MSU in the joints is a central risk factor for gout. MSU crystals are potent inflammation inducers. These crystals stimulate a local inflammatory reaction within the joint, neutrophil recruitment, and the production of pro-inflammatory cytokines as well as other inflammatory mediators.



Circadian rhythms play a key role in the development of physiological and pathological responses based on daily environmental variations. Melatonin (MLT) is released to regulate the circadian rhythm, and has anti-inflammatory, antitumor and antiapoptotic effects. Furthermore, MLT is a powerful antioxidant that reduces oxidative stress due to its capacity to directly scavenge reactive species and modulate the antioxidant defense system by increasing antioxidant enzyme activities. Recent studies demonstrated that several factors, including MLT, play a role in the regulation of the rhythmic migration of neutrophils. However, the mechanisms underlying the regulation of the rhythmic neutrophil migration by endogenous MLT remain unclear.

In the present study, an experimental MSU crystal-induced rat model was set up to investigate the potential effects of MLT on gouty arthritis and gouty arthritis induced by melatonin deprivation. In the study, possible underlying mechanisms associated with anti-inflammatory and anti-oxidative effects were also investigated in rats with gouty arthritis and melatonin deprivation treated with MLT.

The study was conducted on 70 male Wistar Albino rats that weighed 250–300 g. Rats were divided into 7 groups. Control, Sham Pinealectomy (PINX), Monosodium urate (MSU) (Model), MSU+MLT, PINX, PINX+MSU, PINX+MSU+MLT group (n=10). In groups treated with PINX, this procedure was performed on the first day of the experiment. In the groups that received MSU injection, MSU injections were administered intraarticularly as a single dose (20mg/ml) in 50  $\mu$ L sterile PBS volume on the 30th day. In MLT injection groups, MLT injections were performed intraperitoneally at a dose of 10 mg/kg for 30 days from the first day of the experiment.

In our study, PINX procedure and MSU injection led to a significant decrease in GSH level, which could be due to the increase in oxidative stress, indicating that GSH was depleted to overcome oxidative stress via the reaction with and neutralizing superoxide radicals. While significant increases were observed in GSH and TAS in our rat groups treated with MLT, significant improvements were

observed in total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI). The histopathological damage scores determined in our study revealed that MSU increased the cartilage tissue damage, bone erosion in certain regions, widespread inflammatory cell infiltration in the surrounding tissue, while MLT significantly reduced these histopathological changes.

Decreased antioxidant capacity, increased production of free radicals, and aging increase both the prevalence and incidence of certain diseases such as gout. The protective effect of endogenous MLT in this process is manifested by the reduction in cellular damage induced by free radicals or by regulating immunity. However, in cases where endogenous MLT is insufficient, the need for exogenous MLT administration could be necessary to sustain the possible protective effects. Thus, it could be suggested that melatonin could lead to improvements in the pathological changes observed in gout due to its antioxidant and anti-inflammatory properties; and thus, it could be employed as a supplement to medical treatment. However, further clinical studies are required for more concrete evidence.

**Keywords** : Gout, Oxidative Stress, Melatonin, Pinealectomy, Monosodium urate.

**Science Code** : 1090

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneyimiz esnasında pinealektomi modeli oluşturulmasında Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Dr. Öğretim Üyesi Mehmet DEMİR, histoloji incelemeleri yaparak tezimin tamamlanmasında yardımcı olan Muğla Sıtkı KOÇMAN Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Hülya ELBE'ye teşekkür ederim.

Yüksek lisans tez çalışmalarım esnasında maddi destek sağlayan Karabük Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: TSA-2020-2346) teşekkür ederim.

Sevgili aileme manevi hiçbir yardımı esirgemediğim yanımda oldukları için tüm kalbimle teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL.....	ii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	x
İÇİNDEKİLER .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xvi
BÖLÜM 1 .....	1
GİRİŞ .....	1
BÖLÜM 2 .....	4
GUT .....	4
2.1. GUT TARİHÇESİ VE TANIMI .....	4
2.2. GUT EPİDEMİYOLOJİSİ VE ETİYOLOJİSİ.....	5
2.3. GUT RİSK FAKTÖRLERİ.....	5
2.3.1. Genetik.....	6
2.3.2. Diyet ve Alkol Tüketimi .....	7
2.3.3. Yaş, Cinsiyet ve Sosyoekonomik Faktörler.....	7
2.3.4. Komorbidit Durumlar .....	8
2.3.5. İlaçlar .....	8
2.4. PATOFİZYOLOJİ.....	9
2.5. HİPERÜRİSEMİ.....	11
2.5.1. Ürik Asit Aşırı Üretimi .....	12
2.5.2. Ürik Asit Yetersiz Atılımı .....	13
2.6. KLİNİK EVRELEME.....	14
2.7. TANI VE GÖRÜNTÜLEME.....	16

	<b><u>Sayfa</u></b>
2.8. DEĞERLENDİRME .....	19
2.9. TEDAVİ .....	19
2.9.1. Nonfarmakolojik Tedavi .....	19
2.9.2. Farmakolojik Tedavi .....	19
2.9.2.1. Kolşisin .....	20
2.9.2.2. Kortikosteroidler .....	20
2.10. BESLENME TEDAVİSİ .....	21
2.10.1. Pürinden Zengin Yiyecekler .....	21
2.10.2. Fruktoz .....	22
2.10.3. Az Yağlı Süt Tüketimi .....	22
2.10.4. Kahve .....	22
BÖLÜM 3 .....	24
MELATONİN .....	24
3.1. MELATONİN VE GUT .....	26
BÖLÜM 4 .....	29
ENFLAMASYON .....	29
4.1. KLASİK ENFLAMASYON SEMPTOMLARI .....	30
4.2. OKSİDATİF STRES .....	30
4.2.1. Oksidatif Stres ve Gut .....	33
BÖLÜM 5 .....	37
GEREÇ VE YÖNTEMLER .....	37
5.1. GEREÇLER .....	37
5.1.1. Kimyasal Malzemeler ve Kullanılan Yöntemler .....	37
5.2. YÖNTEMLER .....	38
5.2.1. Deney Hayvanların Bakımı .....	38
5.2.2. Rat Deney Protokolü .....	38
5.2.2.1. Pinealektomi İşlemi .....	39
5.2.2.2. Melatonin (MLT) Çözeltisinin Hazırlanması ve Enjeksiyonu .....	40

5.2.2.3. Monosodyum Ürat (MSÜ) Kristallerinin Hazırlanması ve Enjeksiyonu .....	40
5.2.3. Ayak Bileğinin Çevresi ve Eklem Deri Sıcaklık Değişimlerinin Değerlendirmesi .....	40
5.2.4. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması .....	40
5.2.5. Biyokimyasal Analizler .....	41
5.2.5.1. Numunelerin Hazırlanması .....	41
5.2.5.2. Oksidatif Stres Belirteçlerinin Analizi .....	41
5.2.6. Histopatolojik Analiz .....	44
5.2.7. İstatistiksel Analiz .....	46
BÖLÜM 6 .....	47
DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	47
6.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR .....	47
6.1.1. Oksidatif Stres Belirteçlerinin Düzeyleri .....	47
6.1.1.1. Grupların Serum MDA ve GSH Düzeyleri .....	48
6.1.1.2. Grupların Serum SOD ve CAT Aktivite Düzeyleri .....	49
6.1.1.3. Grupların Serum TAS, TOS ve OSI Aktivite Düzeyleri .....	51
6.1.1.4. Grupların Serum İL-6 Düzeyleri .....	54
6.1.2. MLT'nin, Sıçanlarda MSÜ Kristalinin Neden Olduğu Ayak Bileği Çevresi Deri Sıcaklığı Üzerindeki Etkileri .....	56
6.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR .....	61
6.3. TARTIŞMA .....	62
KAYNAKLAR .....	71
EK AÇIKLAMALAR ETİK KURUL İZİNİ .....	86
ÖZGEÇMİŞ .....	88

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 2.1. Pürin metabolizma yolu .....	13
Şekil 2.2. Gutun klinik seyri .....	16
Şekil 2.3. Üratik artropati.....	18
Şekil 3.1. Melatonin .....	24
Şekil 6.1. Ortalama serum MDA seviyesi ve GSH aktivitesi .....	49
Şekil 6.2. Ortalama serum CAT aktivitesi .....	50
Şekil 6.3. Ortalama serum SOD aktivitesi .....	50
Şekil 6.4. Ortalama serum TAS değerleri .....	52
Şekil 6.5. Ortalama serum TOS değerleri .....	53
Şekil 6.6. Ortalama serum OSI değerleri .....	53
Şekil 6.7. Serum IL-6 değerleri.....	55
Şekil 6.8. Sıçanlarda MSÜ kristalinin neden olduğu eklem şişliği üzerine MLT 'nin etkileri .....	56
Şekil 6.9. Ortalama eklem çevresi .....	58
Şekil 6.10. Ortalama eklem sıcaklığı .....	60
Şekil 6.11. Ortalama eklem şişme oranı .....	61
Şekil 6.12. Ortalama histopatolojisi hasar skoru .....	62
Şekil 6.13. Kontrol, Sham ve PINX grupların histopatolojik bulgular.....	63
Şekil 6.14. MSU ve MSU+PINX grupların histopatolojik bulguları .....	64
Şekil 6.15. MSU+MLT ve MSÜ+PINX+MLT grupların histopatolojik bulguları ...	65

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 5.1. Hematoksilen&Eozin boyama protokolü.....	45
Çizelge 6.1. Ortalama doku oksidan-antioksidan parametrelerin karşılaştırılması. ..	47
Çizelge 6.2. Ortalama serum TAS, TOS ve OSI değerlerinin karşılaştırılması.....	52
Çizelge 6.3. Serum IL-6 düzeyleri .....	55
Çizelge 6.4. Deney gruplarının çevre değişiklikleri .....	57
Çizelge 6.5. Deney gruplarının sıcaklık değişiklikleri.....	59
Çizelge 6.6. Deney gruplarının eklem şişme oran değişiklikleri .....	60
Çizelge 6.7. Ortalama histopatolojik hasar skoru .....	62



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	: disodyumdihidrojen fosfat
$\text{H}_2\text{O}_2$	: hidrojen peroksit
$\text{Na}_2\text{EDTA}$	: disodyum etilendiamin tetraasetik asit
$\text{H}_3\text{PO}_4$	: fosforik asit
$\text{O}_2$	: oksijen
$\text{O}_2^-$	: süperoksit radikali
$\text{HOCl}$	: hipokloröz asit
$\text{ONOO}^-$	: peroksinitrit radikali
$\text{O}_3$	: ozon
CPR	: sitokrom P450 redüktaz
$\text{OH}\cdot$	: hidroksil radikali
$\text{NO}\cdot$	: nitrik oksit radikali

## KISALTMALAR

MSÜ	: Monosodyum Ürat
SÜA	: Serum Ürik Asit
MLT	: Melatonin
IL-6	: İnterlökin-6
MDA	: Malondialdehit
TAS	: Total Antioksidan Seviyesi
TOS	: Total Oksidan Seviyesi
OSI	: Oksidatif Stres İndeksi
GSH	: Redükte Glutasyon
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
EULAR	: Avrupa Romatizmaya Karşı Ligi
HGPRTaz	: Hipoksantin-guanin Fosforibosil Transferaz
PRPP	: Fosforibosil Pirofosfat
ARK	: Amerika Romatoloji Koleji
COX-2	: Siklooksijenaz-2
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
TDC	: Triptofan Dekarboksilaz
T5H	: Triptofan 5-Hidroksilaz
TPH	: Triptofan Hidroksilaz
AADC	: Aromatik Amino Asit Dekarboksilaz
ÜA	: Ürik Asit
iNOS	: İndüklenmiş Nitrik Oksit Sentaz
ATP	: Adenozin trifosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
PBS	: Steril Fosfat Tampon Çözeltisi
OS	: Oksidatif Stres
NO	: Nitrik Oksit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri

GP <sub>x</sub>	: Glutasyon Peroksidaz
GLUT	: Kolaylaştırılmış Glukoz Taşıyıcısı
AMK	: N-asetil-5-metoksikinuramin
NAT	: N-asetiltransferaz
AFMK	: N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinüramin
OX	: Ksantin Oksidaz
TBA	: Tiyobarbitrik Asit
DTNB	: Dithiobis-2 Nitrobenzoik Asit
BSA	: Bovine Serum Albumin
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium
TLR	: Toll-Like Receptor
NTF	: Nötral Tamponlanmış Formalin
PRR	: Pattern Recognition Receptor
PAMPs	: Pathogen-Associated Molecular Patterns
IP3	: Inositol trisphosphate
GWAS	: Genome-Wide Association Study

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Gut, ürik asit seviyesinin kronik olarak doyma noktasının üzerine yükselmesini takiben eklemlerde monosodyum urat (MSÜ) kristalleri birikmesinden kaynaklanan artritik bir durum olarak tanımlanabilir [1]. Gut, en yaygın olarak birinci metatarsofalangeal eklemden, eklem boşluğunda MSÜ'nün çökmesinden kaynaklanan ağrılı eklem iltihabı ile karakterizedir. Bu hastalık tipik olarak Amerikan Romatoloji Koleji'nin klinik kriterleri kullanılarak teşhis edilir. Teşhis, etkilenen eklemde sinovyal sıvısında MSÜ'nün tanımlanmasıyla doğrulanabilir [2]. Gut, akut ağrılı artrit atakları olarak kendini gösterir. Genellikle ayak başparmağını etkiler, ancak diğer eklemleri de içerebilir. Akut gut atağının doğal seyri genellikle 7-10 gün sürer ve bunu, belirti ve semptomların tam olarak ortaya çıktığı kritik bir dönem takip eder. Bazı hastalarda ilk ataktan sonra nüks görülmezken, çoğu hastada hastalık doğal seyrini izleyerek kronik enflamasyon, sık ataklar, tofus oluşumu ve eklem yıkımı ile karakterize ileri gut hastalığına yol açar [3].

Tarihsel olarak “yürünemez hastalık” ve “kralların hastalığı” olarak adlandırılan gut, ilk olarak M.Ö. 2640'de Mısırlılar tarafından tanındı. Daha sonra M.Ö. 5. yüzyılda Hipokrat tarafından podagra olarak isimlendirildi [4]. Gut, en yaygın enflamatuvar eklem hastalıklarından biridir ve prevalansının % 0,1 ile % 10 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Bu hastalığın batı ülkelerinde görülme sıklığı giderek artmaktadır [5].

Gut hastalığının gelişmesinden önce 7 mg/dL'nin üzerinde bir serum urat asit (SÜA) ile tanımlanan hiperürisemi ortaya çıkar [6]. Hiperürisemi, sıklıkla yüksek miktarda pürin alımı ile birlikte uratin renal atılımının azalmasından kaynaklanmaktadır. SÜA düzeyi ile gut gelişme riski arasında güçlü bir ilişki vardır. Hiperürisemisi olan kişilerde gut gelişme riski normal düzeylere sahip kişilere göre 30 kat daha fazladır.

Hiperürisemi ve gut gelişimi değiştiremeyen (cinsiyet, yaş, ırk ve genetik) ve değiştirilebilen (diyet, yaşam tarzı gibi) risk faktörlerini içermektedir [5].

Gut eski zamanlardan beri aşırı yeme-içme hastalığı olarak bilinen bir hastalıktır. Ancak son yıllarda gut hastalığının başlıca nedeninin hiperürisemi ve beslenme alışkanlıkları olduğu kanıtlandı. Obezite, aşırı kırmızı et ve alkol tüketimi başlıca nedensel faktörler olarak bilinmektedir. Fruktoz ve şekerli içecekler gibi daha önce göz ardı edilen yeni risk faktörleri de son yıllarda tanımlanmıştır. Gut sadece ürik asit artışı, artrit atakları ve kronik eklem hasarı ile değil aynı zamanda ölçülen risk faktörlerinden bağımsız olarak kardiyovasküler morbidite ve mortalite için de bağımsız bir risk faktörüdür [7].

Akut gut, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar, kortikosteroidler veya kolşisin ile tedavi edilebilir [8]. Sebze ve az yağlı veya yağsız süt ürünleri tüketimi teşvik edilmelidir. Loop ve tiazid diüretiklerinin kullanımı ürik asit düzeylerini artırabilirken, bazı anjiyotensin reseptör blokleri kullanımı idrarla ürik asit atılımını artırabilir. Ürik asit seviyelerinin azaltılması gut alevlenmelerinden kaçınmanın anahtarıdır. Allopurinol ve febüksostat, tekrarlayan gutun önlenmesi için birinci basamak ilaçlardır ve kolşisin ve/veya probenesid birinci basamak ajanları tolere edemeyen veya birinci basamak ajanların etkisiz olduğu hastalar için önerilmektedir. Ürat düşürücü ilaçlar alan hastalar, alevlenmeleri önlemek için eş zamanlı olarak nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar, kolşisin veya düşük doz kortikosteroidlerle tedavi edilmelidir [9].

İlaç tedavisin yanı sıra Avrupa Romatizmaya Karşı Ligi (EULAR) tüm gut hastaları için yaşam tarzı tavsiyeleri önermektedir. Diyetle ilgili tavsiyeler alkolden, şekerle tatlandırılmış içeceklerden, ağır yemeklerden ve aşırı et ve deniz ürünleri alımından kaçınmayı içerir, bu da pürinden düşük bir diyeti yansıtır [10]. Bu diyet, pürinlerin parçalanması yoluyla ürat üretildiğinden, hiperürisemi ve gut tedavisi için bariz bir seçim gibi görünmektedir. Et olarak pürinden zengin ürünlerin artan alımı gerçekten de daha yüksek SÜA seviyeleri ile ilişkilidir. Daha az ölçüde, bu durum deniz

ürünleri için de geçerlidir, ancak her ikisi de pürin açısından zengin baklagiller için geçerli değildir [11].

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) (MLT), serotonin yoluyla esansiyel aminoasit olan triptofandan türetilmiş bir indolamindir [12]. Başlıca üretim yeri beyinde bulunan pineal bezdir [13]. Melatonin, beyin-omurilik sıvısı, tükürük, safra, eklem sıvısı, amniyotik sıvı ve anne sütü de dahil olmak üzere tüm biyolojik sıvılar içinde mevcut bulunmaktadır [14, 15]. Melatonin, hidrofobik olması nedeniyle pasif difüzyonla membranları [16] ve kan-beyin bariyerini geçme yeteneğine sahiptir [17]. Bunun yanında Melatonin, reaktif türleri doğrudan süpürme ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırarak antioksidan savunma sistemini modüle etme kapasitesi sayesinde oksidatif stresi azaltan güçlü bir antioksidandır [18]. Melatonin'in antioksidan aktivitesi, birbirini tamamlayıcı üç farklı etkinin sonucudur: (a) serbest radikal süpürücü olarak hareket etme kabiliyeti sayesinde direkt etki; (b) serbest radikal üretimini azaltma yeteneğinin bir sonucu olan indirekt etki (radikal kaçınma) ve (c) antioksidan enzimleri upregüle etme yeteneği [19].

Melatonin sahip olduğu bu özelliklerden dolayı ve oksidatif stresle ilişkili olması nedeniyle MSÜ kaynaklı gut artrit hastalarında melatoninin iyileştirici etkisi olacağını düşündük. Bu amaçla çalışmamızda serumda lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA) ile oksidatif bir belirteç olan dokunun total oxidant seviyesi (TOS) ve total antioksidan seviyesi (TAS) düzeylerini, endojen bir non enzimatik antioksidan olan redükte glutatyon (GSH) seviyelerini ve enzimatik antioksidanlar olan süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerine bakıldı. Ayrıca alınan kan numunelerinden elde edilen serumda enflamasyon belirteçlerinden biri olan interlökin (IL)-6 düzeyleri ölçüldü ve eklem dokusunda da histopatolojik inceleme yapıldı.

## BÖLÜM 2

### GUT

#### 2.1. GUT TARİHÇESİ VE TANIMI

Gutun klasik tanımı (metarsofalangeal eklemi etkileyen dayanılmaz ağrı, şişme ve eritem) ilk olarak M.Ö. 2640'ta Mısırlılar tarafından yapıldı [20] ve daha sonra M.Ö. 400'de Yunanlılar tarafından ayak anlamına gelen 'pous' ve nöbet anlamına gelen 'agra' kelimelerinden türetilerek "Podagra" olarak tanımlandı [21]. Gut sözcüğü Latince'de 'düşmek' anlamına gelen 'gutta' kelimesinden türetilmiştir. Dört salgının (kara safra, sarı safra, kan ve balgam) dengesi bozulduğunda, bu salgılardan birinin eklem içine düşerek veya akarak ağrı, şişlik ve kızarıklık semptomlarına neden olduğuna inanıldığından 'gutta' kelimesi kullanılmıştır [20].

Eskiden özellikle et kaynaklı zengin beslenme ve alkol tüketiminden ortaya çıktığı düşünüldüğünden 'zengin hastalığı' olarak bilinmekteydi. Günümüzde gut, sadece yaşam tarzı faktörlerinden daha fazlasıyla ilişkili olduğu bilinen ve klasik podagraya ek olarak çeşitli klinik sunumlar olarak ortaya çıkabilen iyi tanımlanmış bir romatolojik hastalıktır [7]. Gut artriti genellikle gutun ilk klinik belirtisidir ve tipik olarak akut ve epizodik olarak ortaya çıkar, ancak kronik artrit ile ilerleyebilir [22, 23]. Gut artritinin hem akut hem de kronik formlarında dokularda biriken ve mevcut olabilen MSÜ kristalleri tophi olarak adlandırılır. Progresif hastalıkta, interstisyel nefropati ve ürik asit nefrolitiazisi ortaya çıkabilir, ancak bu tipik olarak sadece uzun süreli ve daha şiddetli hiperürisemi vakaları olan hastalarda ortaya çıkar. Gutun bu renal belirtileri nadir olarak kabul edilir; bununla birlikte, genel olarak gut yaygın olarak tanınmakta ve daha yaygın hale gelmektedir [24]. Gut prevalansı artmaya devam ederken, gut tanı ve tedavisine yönelik çeşitli yenilikler ve kanıta dayalı güncellemeler yapılmaktadır. Tarihsel olarak, gut tedavisi büyük ölçüde geleneğe ve

uzman görüşüne dayanmaktadır, ancak son klinik araştırmalar, bu tarihsel hastalık durumuna dair kanıta dayalı bilgiler sağlamaktadır [4].

## **2.2. GUT EPİDEMİYOLOJİSİ VE ETİYOLOJİSİ**

Gut, küresel olarak en yaygın enflamatuvar artrit őrklidir. Görölme insidansı yaşla birlikte artar ve bu nedenle yaşlanan popölasyonlarda daha sık görülür. Gut prevalansındaki eğilimleri anlamak, özellikle gutun erişilebilir ve ucuz tedaviler kullanılarak "tedavi" edilebildiği için, yeterli sağlık hizmeti kaynak planlamasını kolaylaştırmak için büyük önem taşımaktadır [25]. Gutun küresel prevalansı için tek bir değer söylenemez. Bir popölasyonda hastalığa sahip bireylerin oranı, dünyanın çeşitli bölgelerinde oldukça değişkendir gösterir ve birçoğok ölke için veriler eksiktir [26]. En yüksek prevalans Okyanusya ölkelerinde, özellikle bazı değerlerin >%10 olduğu Tayvanlı aborjinler ve Maori gibi etnik gruplarda rapor edilmiştir. Gut, Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'daki çoğu ölkede yaygın olup, prevalansı %1-4 arasındadır. Buna karşılık, gutun eski Sovyetler Birliği bölgelerinde, Guatemala, İnan, Malezya, Filipinler, Suudi Arabistan, Türkiye ve Afrika ölkelerinde nadir göröldüğu bildirilmektedir. Gut artrit prevalansına ilişkin tahminler, çalışılan yaş grupları, cinsiyet dağılımı, coğrafi konumlar, örnekleme yöntemleri, kullanılan durumun tanımı, çalışma katılımcılarının etnik kökenleri ve araştırmanın takvim yılı arasındaki farklılıklar nedeniyle çalışmalar arasında farklılık göstermektedir [27].

Türkiye'de yapılan çok amaçlı epidemiyolojik bir çalışmada tarama yapılan 2835 hastadan 247'si romatologlar tarafından değerlendirmeye alınmıştır. Bu hastalarda ürik asit sonuçlarına ve radyolojik görüntüleme göre 11 hastaya Wallace kriterlerine göre gut tanısı konulmuştur. Yaş ve cinsiyet düzeltilmesi yapıldıktan sonra prevalans %0,33 olarak hesaplanmıştır [28].

## **2.3. GUT RİSK FAKTÖRLERİ**

Erkeklerde gut geliştirme olasılığı kadınlara kıyasla yaklaşık 3 kat daha fazladır ve en sık siyahi erkekler etkilenir [29, 30]. Gut insidansı hem erkeklerde hem de



kadınlarda yaşla birlikte artar, yaşa bağlı en belirgin artış menopoz sonrası kadınlarda fark edilir. Gut ile ilişkili tıbbi durumlar arasında metabolik sendrom, böbrek yetmezliği, diyabet, hipertansiyon, kalp yetmezliği ve organ transplantasyonu yer alır [31]. Renal ürat taşınmasında rol oynayan genlerde (GLUT9, URAT1) nadir görülen genetik polimorfizmler tanımlanmıştır ve gut gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir [32, 33]

### **2.3.1. Genetik**

Genetik bir bileşenin gut gelişimine katkıda bulunduğu, klinik ve epidemiyolojik kanıtların yanı sıra genetik araştırmalardaki son gelişmelerle desteklenmektedir. Gutun değişen prevalansı etnik ve genetik farklılıklara işaret eder. Ek olarak, gutun ailesel agregasyonunun varlığını destekleyen kanıtlar güçlüdür [34].

Belirgin hiperürisemiye ve erken gut hastalığına neden olan nadir monogenik bozukluklar, gut ve hiperürisemi için spesifik genleri tanımlama fırsatı sağlar. Örneğin, Lesch-Nyan sendromu ve ailesel juvenil hiperürisemik nefropati, sırasıyla hipoksantin-guanin fosforibosil transferaz eksikliğinden ve fosforibosil-1-pirofosfat sentetazın aşırı aktivitesinden kaynaklanır [35]. 2003 yılında UMOD'da (üromodulin kodlayan) bir mutasyon, yüksek gut riski veren ailesel juvenil hiperürisemik nefropatinin nedeni olarak gösterildi [36]. Son yıllarda gutun genetik nedenlerini belirlemeye yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Yüksek serum ürat seviyeleri ve gut ile ilişkili olarak farklı polimorfizmler tanımlanmıştır. Bunlar arasında, başlangıçta kemoterapi ilacı akışına dahil olması nedeniyle bilinen ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı ABCG2'deki (ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı izoformu G2) bir polimorfizm vurgulanmıştır [37]. 2013'te yayınlanan en yeni ve kapsamlı GWAS, 140.000'den fazla Avrupa soyundan gelen verileri birleştirdi ve serum ürat ile ilişkili 28 lokus tanımladı ve çoğalttı [38]. Bunlardan 23'ü gut ile nominal bir önem düzeyinde ilişkilendirilmiştir [39]. Özellikle, şu anda bilinen tüm bu birliktelikler, SÜA seviyelerindeki varyansın sadece %7'sini oluşturur, bu da bilinen spesifik genetik ilişkiler ile yüksek SÜA seviyeleri ve gutun kanıtlanmış kalıtsallığı arasında tanımlanamayan büyük bir boşluk olduğunu düşündürür. Eksik kalıtsallık, yaygın

karmaşık bozukluklarda düzenli bir fenomendir ve muhtemelen çok zayıf etkileri olan tanımlanmamış ortak risk varyantları, nadir penetran risk varyantları ve diğer genetik risk varyantları ile çevresel faktörler arasındaki hesaba katılmamış eklemeli olmayan etkileşimlerle açıklanabilir [40, 41].

### **2.3.2. Diyet ve Alkol Tüketimi**

Gut gelişiminde diyet ve alkol tüketiminin önemli bir rolü olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Son yıllarda bu ilişkiyi destekleyen güçlü kanıtlar ortaya çıkmıştır [42]. Birçok çalışma, pürinden zengin bir diyetin gut riskini artırdığını göstermiştir [43]. Pürinden zengin beslenmeyi gut ile ilişkilendiren en sağlam kanıt, 1986'da 40-75 yaşları arasındaki 51.529 erkeği kaydeden ABD'deki Sağlık Profesyoneli Takip Çalışmasından (HPFS) gelmektedir [44]. HPFS'de alkol tüketimi ile gut riski arasında, günlük alkol tüketimindeki her 10 gramlık artış için 1,17'lik nispi risk ile bir doz-yanıt ilişkisi bulundu. Çeşitli alkollü içecekler arasında bira (alkolün yanı sıra purin guanozini içerir) en büyük riski taşır [45]. Alkolsüz içecekler ve fruktoz alımında, fruktoza bağlı hiperürisemi ile ilişkili gut vakaları görülme riskinin doz-yanıt ile ilişkisi olduğu bulundu [46].

### **2.3.3. Yaş, Cinsiyet ve Sosyoekonomik Faktörler**

Erkeklerde gut görülme riski yaşla birlikte artar ve her yaş grubunda gut prevalansı erkeklerde daha fazladır. Ancak menopozdan sonra kadınlarda gut riski artış göstermektedir. Kadınlarda gut prevalansının daha düşük olmasının temel sebebinin östrojenin ürikozürik etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada menopozdan sonra gut riskinin arttığı ancak hormon tedavisiyle riskin azaldığı görülmüştür [47]. Diğer sosyoekonomik faktörler de gut riski ile ilişkilidir. Bazı araştırmalar kırsal kesimde yaşayanların şehirde yaşayanlardan daha düşük gut riskine sahip olduğunu bildirmiştir [48, 49].

Yapılan alışmalar yaşam kalitesinin de gutu etkilediğini göstermektedir. Örneğin Galler ve İngiltere'de yapılan bir çalışmada yüksek gelirli insanlarda gut prevalansının daha fazla olduğu görülmüştür [50].

#### **2.3.4. Komorbidit Durumlar**

Gut hastalığını metabolik sendrom, kardiyovasküler hastalık ve böbrek hastalıklarıyla ilişkilendiren birçok kanıt vardır. Örneğin, obezitenin metabolik sendromun bir parçası olarak gut riskini artırdığı sürekli olarak bildirilmektedir. 70 yaşında kümülatif gut insidansı, vücut kütlesi indeksi  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup> olan kadınlarda %11,8 iken, vücut kütlesi indeksi  $< 25$  kg/m<sup>2</sup> olanlarda sadece %1.9 idi [51]. Hipertansiyonu olan bireylerde gut hastalığı gelişme olasılığı genellikle iki kat daha fazladır [52]. Hiperürisemi böbrek hastalığının gelişimi ve ilerlemesi ile [53] ve kronik böbrek hastalığı gut riskinde %60'luk bir artışla ilişkilendirilmiştir [54]. Nüfusa dayalı kanıtlar, konjestif kalp yetmezliği olan hastalarda gut vakası riskinin dört kat, böbrek hastalığı olan hastalarda için ise altı kat arttığını göstermektedir [55]. Diğer hastalıkların da gut riskini artırdığı bulunmuştur. Sedef hastalığı [56] ve orak hücreli anemi [57] olan hastalarda, muhtemelen artan hücre döngüsü ve ardından artan SA seviyelerine eğilim nedeniyle gut vakasının gelişmesi daha olasıdır.

#### **2.3.5. İlaçlar**

Bazı ilaçların ürik asidin renal atılımını azaltarak SA düzeylerini artırarak gut riskini arttırdığı bilinmektedir. Diüretikler bu konuda en sık karşılaşılan ilaçlardır. Yapılan bir çalışmada loop, tiyazid ve tiyazid benzeri diüretiklerin sırasıyla 2.64, 1.70 ve 2.30'luk gut için olasılık oranları ile ilişkili olduğunu ve bir loop diüretiği ve bir tiyazid diüretiği kombinasyonunun yaklaşık olarak gut hastalığı riskini beş kat artırdığı bulunmuştur [58]. Ayrıca  $\beta$ -blokerler, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve losartan olmayan anjiyotensin II antagonistleri dahil olmak üzere diğer antihipertansif ilaçlar da gut vakalarıyla ilişkilendirilmiştir. Bunun tersine, orta düzeyde rikozrik özelliklere sahip olan kalsiyum kanal blokerleri ve losartan, daha düşük gut vakası riski ile ilişkilendirilmiştir [59].

Her ikisi de immünoşupresyon için kullanılan sikloşporin ve takrolimus da renal ürat atılımını azaltarak gut riskini artırır [60]. Sikloşporin alan transplantasyon sonrası hastaların %50-80'inde hiperürisemi bulundu ve bu hastaların %28'inde gut gelişti [61]. Düşük doz aspirin, pirazinamid ve niasin gibi bazı ilaçlar renal ürat taşıyıcıları üzerinde etki ederek renal ürat atılımını azaltır [62].

## 2.4. PATOFİZYOLOJİ

Ürik asit, endojen ve diyet pürin metabolizmasının son metabolitidir. Bu, pKa'sı 5.75 olan (ürük asit ve ürat konsantrasyonlarının eşit olduğu pH'da) zayıf bir asittir. Hücre dışı bölmede fizyolojik pH 7.4'te, ürik asidin %98'i iyonize ürat formundadır [63]. Hücre dışı bölmedeki yüksek sodyum konsantrasyonu nedeniyle, ürat büyük ölçüde monosodyum ürat olarak bulunur ve düşük çözünürlük sınırı yaklaşık 380 µmol/L'dir. Ürat konsantrasyonları 380 µmol/L'yi aştığında, monosodyum ürat kristal oluşumu ve çökelme riski artar. Renal tübül boyunca asitlenen idrarda, idrar ürat, çözünürlüğü düşük ürik aside dönüştürülür [64].

İnsan diyeti çok az ürat içerir. Ürat esas olarak karaciğerde ve daha az oranda ince bağırsakta üretilir. Serum ürik asit üretimi, pürin alımı, hücrelerde de novo sentez, geri dönüşüm ve pürin yolunun distal ucundaki ksantin oksidazın bozunma işlevi arasındaki dengeye bağlıdır. Pürinden zengin bir diyet, artan plazma ürik asit ve gut arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir, ancak pürinden zengin bir diyet sadece 59-118 µmol/L serum ürik asitten sorumlu olabilir [65]. Miyeloproliferatif ve lenfoproliferatif bozukluklar, sedef hastalığı ve hemolitik anemi gibi bazı hastalıklar, artan nükleik asit döngüsü ile ilişkilidir ve bu da hiperürisemiye yol açabilir. Ürik asidin aşırı üretiminin bir başka nedeni, ATP degradasyonunun ürik asidin bir öncüsü olan AMP'ye dönüşmesi ile ilgilidir [46]. İnsanlar ve yüksek primatlar, ürik asidi yüksek oranda çözünür allantoine indirgeyen ürikaz enzimine sahip değildir. Bu nedenle insanlarda ürat konsantrasyonları, ürikaza sahip çoğu primat olmayan memeli, balık ve amfibiyenlerden çok daha yüksektir. Sonuç olarak, insanlarda fizyolojik ürat konsantrasyonu, çözünürlük sınırına yakındır [66, 67].

Gastrointestinal sistem günlük üretilen ürik asidin üçte birini, böbrekler yaklaşık üçte ikisini salgılar. Renal mekanizmalar, bireylerin yaklaşık %90'ında hiperürisemiden sorumludur, çünkü renal ürik asit atılımının bozulması, urat havuzundaki artışın altında yatan ana mekanizmadır [64, 68]. Gut hastaları, benzer ürik asit atılım oranları elde etmek için gutu olmayanlara göre 120-180 µmol/L daha yüksek urat konsantrasyonlarına ihtiyaç duyarlar [69]. Aşırı ürik asit üretiminin neden olduğu gut, tüm gut hastalarının %10'undan daha azını temsil eder [70]. Böbrekler tarafından filtrelenen günlük urat yükünün yaklaşık %90'ı yeniden emilir ve bu sürece URAT1 (SLC22A12) dahil olmak üzere spesifik anyon taşıyıcıları aracılık eder. Bu taşıyıcı renal proksimal tübüler hücrelerin apikal tarafında yer alır ve urat geri emiliminin önemli bir belirleyicisidir [71, 72]. SLC2A9 tarafından kodlanan GLUT9, insanlarda SÜA varyasyonunun %1,7 ila %5,3'ünden sorumludur. Orijinal olarak glukoz taşıyıcı ailesine homoloji ile klonlanan GLUT9, bir urat taşıyıcısı olarak tanımlanmıştır. Ürat homeostazındaki rolü, tip 2 ailesel renal hipourisemi ile sonuçlanan fonksiyon kaybı mutasyonlarının bulunmasıyla doğrulanmıştır. Bu kalıtsal hastalık, esas olarak azalmış renal tübüler ÜA reabsorpsiyonuna ve yüksek ürik asit fraksiyonel atılımına bağlı olarak düşük SÜA seviyeleri ile karakterize edilir ve egzersize bağlı akut böbrek yetmezliği ve böbrek taşı oluşumuna zemin hazırlar [73].

MSÜ kristallerinin eklemlerde ve bağ dokusunda birikmesi, yüksek derecede enflamatuvar ancak lokalize tepkiler doğurur. MSÜ kristalleri oluşturma duyarlılığı, pürin nükleotidlerinin metabolik yıkımının son ürünlerinden biri olan çözünür uratin kandaki aşırı düzeylerinin bir sonucudur [74]. Üratin eklem sıvılarındaki çözünürlüğü, eklemdaki diğer faktörlerden etkilenir. Bu tür faktörler arasında sıcaklık, pH, katyonların konsantrasyonu, eklem dehidrasyon seviyesi ve kümelenmemiş proteoglikanlar, çözünmeyen kollajenler ve kondroitin sülfat gibi çekirdek oluşturucu maddelerin varlığı yer alır. Ayrıca, bu faktörler birinci metatarsal falangeal eklemden (düşük sıcaklığa sahip periferik eklem) ve osteoartrit eklemlerde (nükleasyon artıkları olan dejeneratif eklemler) gutun tercih edilmesini ve (intraartiküler dehidrasyon nedeniyle) ağrının gece başlamasını açıklayabilir [75].

MSÜ, yoğun bir enflamatuvar yanıtı başlatabilen, güçlendirebilen ve sürdürebilen proenflamatuvar uyarandır [76]. Eklemlerde monosodyum urat kristallerinin çökmesi, güçlü bir lokal enflamatuvar yanıtı neden olur. Kristaller, IL-1b, TNF-a ve IL-8 gibi enflamasyon araçlarını üreten monositler tarafından fagosite edilir. Bu araçlar, özellikle nötrofiller olmak üzere büyük bir enflamatuvar hücre akışına neden olur [77].

MSÜ kristalleri ile karşılaşan hücreler siklooksijenaz 2, TNF alpha, interlökin-1 ve IL-6 dahil olmak üzere gut artritinde katkıda bulunan enflamatuvar mediatörler dizisini eksprese eder. MSÜ, monositleri, Toll benzeri reseptör (Toll-like receptor, TLR) yolu ve iltihaplanma yoluyla aktive edebilir. Makrofajlar tarafından ifade edilen TLR2 ve TLR4 tarafından hücre dışı tanınması MSÜ'nun interlökin 1 transkripsiyonunu indükleyebilir ve TLR2 ve TLR4 sinyal iletimi, bir adaptör protein olan MyD88'e dayanır [78]. Aktivasyonun ikinci bileşeni, hem TLR2 hem de TLR4 ile işlevsel olarak etkileşime giren ve kristalleri bağlayabilen ve bu urat kaynaklı iltihabı teşvik edebilen, fagosit ifadeli bir model tanıma reseptörü olan CD14'tür [79].

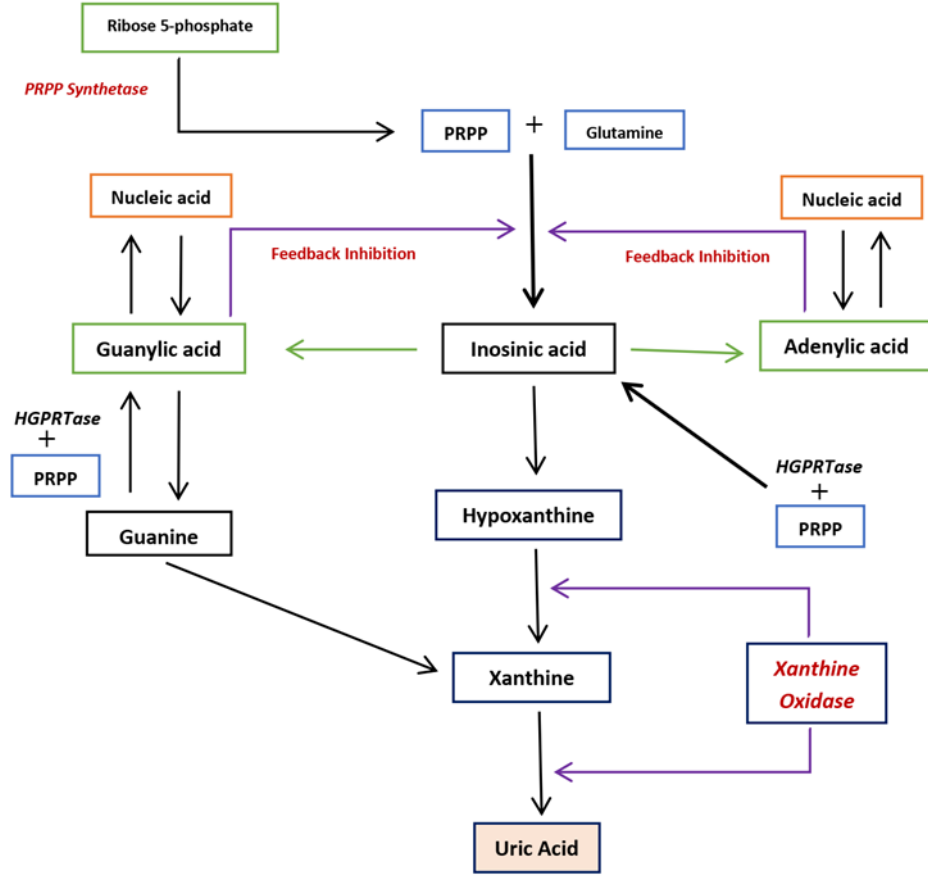
## 2.5. HİPERÜRİSEMİ

Sürekli hiperürisemi gut için fizyolojik bir ön koşuldur. SÜA seviyeleri için normal aralıklar, sağlıklı erkek ve kadın bireyler arasında farklılık gösterdiği gibi ülkeler arasında da ve zamanla değişiklik gösterebilir. Bununla birlikte, gut patogenezi açısından, SÜA seviyesi doyma eşiğinin üzerine çıktığında MSÜ kristalleri oluşabilir. SÜA seviyesi 37 °C'de yaklaşık olarak 392 µmol/l veya 6,6 mg/dl'lik bir konsantrasyonda [80]. çoğu popülasyon için normal aralıktadır, bu nedenle gut çalışmaları için yerel popülasyon normları tarafından tanımlanan 'hiperürisemi' yerine spesifik SÜA seviyeleri çok önemlidir [81]. Almanya merkezli bir başka çalışma da hiperürisemik hastalarda normal SÜA seviyelerine sahip olanlara kıyasla gut riskinin 32 kat arttığını bildirdi [82]. Fransa'da 1965 ile 1970 arasında 4257 kişiyle yapılan çalışmada SÜA seviyeleri sırasıyla <6.0 mg/dl, 6.0-7.9 mg/dl ve >8,0 mg/dL olan hastalar için gut prevalansı %1,3, %3,2 ve %17,6'ydı [83].

Serum ürat üretimi pürin metabolizmasının son aşamasıdır [84]. Primat olmayan memelilerde, amfibilerde ve balıklarda ürik asit yüksek oranda çözünür. İnsanlar ise allantoinine dönüştüren ürikaz enziminden yoksundur [85]. Bu nedenle insanlarda tipik serum ürat konsantrasyonu çözünürlük sınırına yakındır ve insanlar bu yüzden kendiliğinden gut geliştirebilen tek canlı türü olarak bilinir [86]. Üretilen serum ürat miktarı ile atılan miktar arasında hassas bir denge vardır. Aşırı serum ürat, ürik asidin aşırı üretiminden veya az atılmasından dolayı birikebilir. Bu birikim hiperürisemi olarak bilinir ve 6,8-7,0 mg/dL'den yüksek serum ürat konsantrasyonu olarak değişken şekilde tanımlanır [87]. Gut hiperürisemili tüm bireylerde kendini göstermez. Aslında, birçok bireyde serum ürat konsantrasyonları 7,0 mg/dL'den yüksek olan asemptomatik hiperürisemi vardır ve gut ile ilgili hiçbir belirti veya semptom geliştirmeyebilir. Alternatif olarak, 6 mg/dL'den az istenen serum ürat konsantrasyonunda gut semptomları yaşanabilecek kişiler de vardır [88].

### **2.5.1. Ürik Asit Aşırı Üretimi**

Ürik asit aşırı üretimi nadirdir ve gut vakalarının sadece %10'unu oluşturur. Ürik asit pürin bazlarının de novo sentezi, doku nükleik asidinin pürin nükleotidlerine dönüştürülmesi ve diyet pürinleri ile üretilebilir [70]. Bu pürinlerin her biri aynı yola metabolize edilerek ürik asit veya nükleik asit üretimine yol açar (Şekil 2.1). Bu metabolik yol, birkaç enzim sistemi tarafından düzenlenir. Bilinen iki enzim anormalliği, ürik asidin aşırı üretimine yol açabilir: fosforibosil pirofosfat (PRPP) sentetazın artan aktivitesi ve hipoksantin-guanin fosforibosiltransferaz (HGPRtaz) eksikliği [4]. PRPP sentetazındaki bir artış, riboz 5-fosfatın ürik asit sentezinin bir öncüsü olan PRPP'ye artan dönüşümüne yol açar. PRPP ile birleştirilmiş HGPRtaz, hipoksantin ve guaninin sırasıyla inosinik asit ve guanilik aside dönüştürülmesinden sorumludur, bunlar da sırasıyla nükleik asitlere dönüştürülür. HGPRtaz eksikliği varlığında, guanin ve hipoksantin, ürik aside metabolize olur ve purin yolunun ilk adımında glutamin ile eşleşmek için daha fazla serbest PRPP mevcuttur [89].



Şekil 2.1. Pürin Metabolizma yolu [4].

Doku nükleik asitlerinin parçalanması, ürik asit aşırı üretiminin başka bir mekanizmasıdır. Miyeloproliferatif ve lenfoproliferatif bozukluklar, sedef hastalığı, bazı anemi türleri ve bu bozuklukları tedavi etmek için kullanılan sitotoksik ilaçlar, nükleik asitlerin artan devrine ve hücrel maddenin parçalanmasına sekonder olarak etki göstererek hiperürisemi ile sonuçlanabilir. Popüler düşüncenin aksine, diyetle alınan pürinlerin aşırı ürik asit üretimi üzerinde etkisi en azdır. Diyet tüketimi klinik gut hastalarında dikkate alınması gereken bir faktör olsa da, pürin metabolizması veya eliminasyon anormalliği olmadığında önemli değildir[90].

### 2.5.2. Ürik Asit Yetersiz Atılımı

Ürik asidin vücuttan atıldığı birincil mekanizma böbrek yoludur. Bu yol, günlük ürik asit eliminasyonunun yaklaşık üçte ikisini oluşturur. Kalan üçte biri gastrointestinal



sistem yoluyla atılır [91]. Ürik asidin idrarla atılımı, ürik asit üretiminden fazla olmadığına, hiperürisemi ortaya çıkabilir [92]. Glomerüler filtrasyon, tübüler sekresyon ve postsekretuar yeniden emilim dahil olmak üzere ürik asidin eliminasyonundan sorumlu birçok renal mekanizma vardır. Renal olarak filtrelenen ürik asidin yüzde doksanı proksimal tübülde yeniden emilir ve esas olarak URAT olmak üzere spesifik taşıyıcılar tarafından yönlendirilir [93, 94]. Ürik asit geri emilimi, artan sodyum yeniden emilimi ile arttırılabilir ve bazı ilaçlar, taşıma mekanizmalarına müdahale ederek ve ürik asit klirensini azaltarak serum uratını yükseltebilir.

MSÜ hiperürisemi varlığında gelişebilir ve gutun klinik belirtilerine (örn., akut gut artriti) neden olabilir. Ürat kristallerinin oluşması için en yaygın alan, muhtemelen eklem sıvılarındaki yüksek lokal urat konsantrasyonu ve düşük sıcaklık nedeniyle alt ekstremitelerin periferik eklemleridir [95, 96]. Ürat kristallerinin birikmesi, akut bir enflamatuvar reaksiyonu tetikler. Hücresel düzeyde, sinoviyositler ve makrofajlar, gelişmiş urat kristallerini içine alan fagositler gibi davranır. Yanıt olarak, interlökin-1 (IL-1) ve prostaglandinler gibi enflamatuvar sitokinler salınır. Prostaglandinler doğrudan ağrıya ve eklem boşluğunun iltihaplanmasına neden olur. IL-1, lökositler ve ek prostaglandinleri serbest bırakmak için sinoviyum ve eklem boşluğuna geçen polimorfonükleer lökositleri alır. Bu enflamatuvar yanıt, yoğun eklem ağrısı, eritem, kızarıklık ve şişme ile sonuçlanır. Ateş gibi sistemik semptomlar ortaya çıkabilir [4].

## **2.6. KLİNİK EVRELEME**

Gutun ana klinik özellikleri hiperürisemi, akut monoartiküler artrit, tofi, kronik artrit ve nefrolitiazistir. Gutun klinik seyri 3 aşamaya ayrılabilir (şekil 2.2). Evre I, asemptomatik hiperürisemi dönemidir ve tipik olarak gut artritinin ilk atağının ortaya çıkmasından önce 20 ila 40 yıl sürer [97].

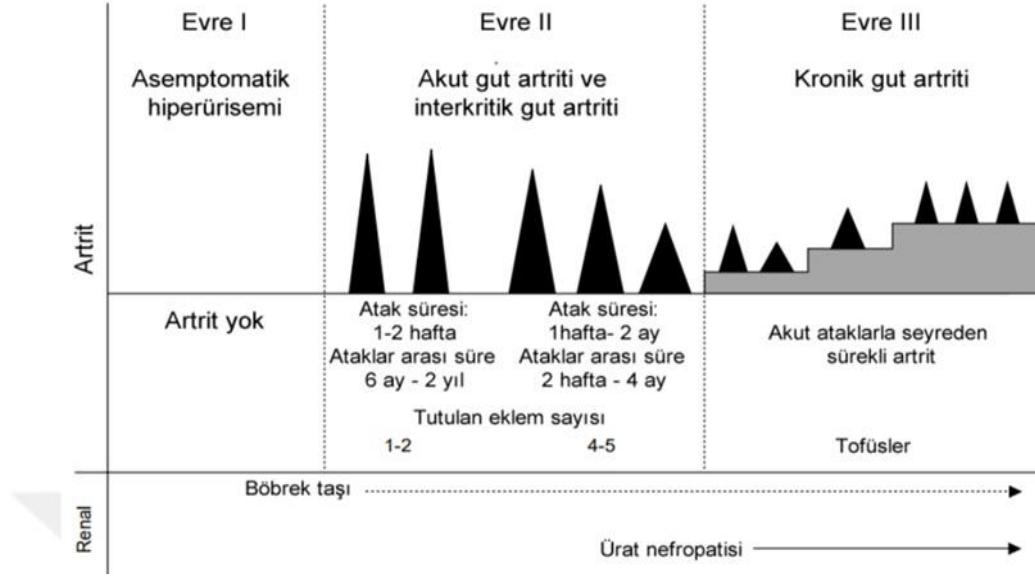
Akut gutun en önemli özelliği akut monoartiküler artrittir ve ortaya çıktığında hasta evre II'ye girer. Evre II gut, hastanın akut gut nöbetleri geçirdiği ancak ataklar arasında semptomsuz olduğu bir dönemdir. Hastalığın tipik seyri, zamanla ataklar

arasındaki aralığın kısılması ve atakların biraz daha hafif hale gelmesi şeklindedir. İlk atak patlayıcı bir şekilde başlar ve çok acı vericidir. Nadiren, bireyler birkaç saat süren daha hafif bir ağrı prodromu bildirirler. Akut gutun acı veren ağrısına yoğun enflamasyon belirtileri eşlik eder: şişme, eritem, sıcaklık, aşırı hassasiyet ve bazen düşük dereceli ateş. Nadiren de olsa yüksek ateş oluşabilir. Akut ataklar genellikle semptom başlangıcından 1-2 gün sonra zirve yapar. Tedavi edilmeyen ataklar 7 ila 14 gün sürebilir [97].

Hastaların tamamı olmasa da çoğu sonunda akut ataklarla birlikte kronik artrit meydana geldiği evre III'e girer. Yumuşak dokularda biriken MSÜ nodüler kütleleri olan tofilar sıklıkla bu aşamada görülür. Tofi, ortalama olarak ilk ataktan 12 yıl sonra ortaya çıkar [98].

İlk atak genellikle tek bir eklemi etkiler, ancak özellikle kadınlarda birden fazla eklem etkilenebilir. Gut artriti öncelikle periferik eklemleri, özellikle de alt ekstremitelerde etkiler. Birinci metatarsal falanks eklemi, ilk atakların yarısından fazlasında ve bireylerin %90'ında eş zamanda tutulur [99]. Alt ekstremitelerde etkilenen eklemleri, ürat çözünürlüğünü azaltan düşük vücut sıcaklıkları nedeniyle daha sık etkilenir [100].

Serum ürat düzeylerinde ani bir değişikliğe neden olan herhangi bir faktör akut atağı tetikleyebilir. Eş zamanlı bir hastalık, akut gut için en yaygın provokasyonlardan biridir. Gut öyküsü olan hastaların %86 kadarı hastaneye yatırıldığında akut atak geçirir [101]. Ataklar, hiperürisemiye neden olan tiazid diüretiklerinin kullanımını veya serum üratını düşürmek için allopurinol veya diğer tedavilerin başlatılmasını takip edebilir. Ağrı ve iltihaplanma, ürat kristalleri hümmoral ve hüccresel enflamatuvar süreçleri aktive ettiğinde üretilir. Ürat kristalleri komplemanı aktive eder ve lizozomal enzimlerin, serbest radikallerin, lökotrienlerin ve prostaglandin metabolitlerinin salınmasına neden olmak için nötrofillerle etkileşime girer. Zamanla, fagositik mononükleer hücreler polimorfonükleer hücrelerin yerini alır ve ardından daha fazla enflamatuvar madde salgılar [102].



Şekil 2.2. Gutun klinik seyri [97].

## 2.7. TANI VE GÖRÜNTÜLEME

Avrupa Romatizma Karşıtı Birliği (EULAR) 2006 yılında hem klinik uygulamaya hem de gut tanısı için mevcut en iyi kanıtlara dayanarak öneriler geliştirmiştir [103]. Sinovyal sıvı veya tofi aspirat analizi gut için önemli bir tanı yöntemidir, çünkü bu örneklerde MSÜ'nun tanımlanmasını ve kesin tanının konulmasını sağlar [104, 105]. Küçük birinci metatarsofalangeal eklemde aspirasyonu özel bir ilgi konusudur çünkü gut hastalarının çoğu en az bir podagra atağı geçirmiştir veya geçirecektir. Bu eklemde aspirasyonu genellikle ağrılı ve yapılması zor olarak düşünülse de, 25 gauge iğne ile iyi tolere edilir ve kristal tanımlama için yeterli sinovyal sıvı örneği sağlayabilir. 29-gauge'lik ince bir iğnenin kullanılması da rahatsızlığı azaltan yeterli numuneler verebilir [106].

Klinik uygulamada çoğu sinovyal sıvı iltihaplı eklemlerden aspire edilir. Asemptomatik eklemlerden, özellikle dizlerden ve birinci metatarsofalangeal eklemden elde edilen sinovyal sıvıda MSÜ saptanabilir [105, 107]. Bu sıvı aspire edildikten sonra oda sıcaklığında hızlı bir şekilde incelenmelidir, çünkü kristallerin oluşumu ve çözünürlüğu sıcaklık ve pH'dan etkilenir [108]. Bu kristaller sıradan bir

ışık mikroskobu ile kolayca saptanabilir, ancak negatif çift kırılımlı kristallerin kesin bir şekilde tanımlanması için bir kompanzasyonlu polarizasyon mikroskobunun kullanılması gerekir. MSÜ, sivri uçlu ince veya iğne şekilli yapılar olarak görünür. Hem hücre içi hem de hücre dışı olarak görülebilirler. Direkt polarize ışık altında, güçlü bir şekilde çift kırılırlar ve siyah arka plana karşı çok parlak görünürler. Dengelenmiş polarize ışık altında, yavaş titreşime paralel hizalandığında sarı, bir dengeleyicinin yavaş titreşimine dik hizalandığında mavidir [96]. Özellikle gut ve septik artrit aynı eklemde bir arada bulunabilir [109]. Bu nedenle septik artrit şüphelenildiğinde eklemde MSÜ olsa bile sinovyal sıvı bakteri açısından analiz edilmelidir [103, 110].

Akut gut atağı sırasında hastaların üçte biri normal ürik asit konsantrasyonlarına sahiptir. 5-7 günlük diyet pürin kısıtlamasından sonra, normal bir erkek popülasyonu için ortalama değerin iki standart sapma üzerinde ürik asit atılımını temsil eden 600 mg'dan fazla günlük ürik asit atılımı, aşırı üretim olarak kabul edilir. Bununla birlikte, hastaların 24 saatlik idrar örneğini almadan önce 5-7 gün boyunca pürinsiz bir diyetle olmaları pratik değildir ve her durumda pürinsiz bir diyetin hastanın tipik yaşam tarzını temsil etmesi olası değildir. Yirmi dört saatlik idrar ürik asit atılımı, gut ve hiperüriseminin ilk değerlendirmesinde urat düşürücü ajanların seçilmesinde ve hiperüriseminin nedenini ayırt etmede önemlidir. Spot idrar ürik asit testi, aşırı ürik asit üretiminin doğru bir göstergesi değildir ve daha çok sirkadiyen ritim varyasyonuna tabidir [111].

Akut ataklardan etkilenen eklemlerin radyografileri, yeni gut tanısı için yararlı değildir, çünkü genellikle akut gut, uzun yıllar boyunca düz radyografide iltihaplı eklemi kaplayan spesifik olmayan yumuşak doku şişmesi dışında anormal bulgular göstermez [109, 112]. Buna karşılık, yıllarca aralıklı epizodik artrit olan ve kronik gutu olan hastalar, radyografide esas olarak kemiğe tofis infiltrasyonunun sonuçları olmak üzere karakteristik özellikler gösterebilir [113]. Eksantrik nodüler yumuşak doku belirginliği, uratın yumuşak dokuda birikmesine eşlik eder ve genellikle hastalığın evriminde geç görülür. Kemik erozyonları temel özelliklerdir ve ilk etapta eklem dışındadır. Tipik olarak, çıkıntılı kenarlar ve sklerotik kenarlarla kemiğin uzun

ekseni boyunca meydana gelir (şekil 2.3) [96]. Eklem aralığı hastalığın ilerleyen zamanlarına kadar çok iyi korunmuştur [96].



Şekil 2.3. Üratik artropati. İkinci ve üçüncü parmakların proksimal interfalangeal eklemlerinde yumuşak doku şişmesi ve bu eklemlerin kenarlarında tipik eklem dışı erozyonlar [96].

Ultrasonografi, BT ve MRG gut tanı ve değerlendirmesinde kullanılacak yeni gelişen tekniklerdir. Ultrasonografi, kıkırdaklı yüzeylerde tofi materyali, erozyonları ve MSÜ'nün birikimini saptayabilir. MRG'de tofi, hem T1 ağırlıklı hem de T2 ağırlıklı görüntülerde genellikle düşük sinyal yoğunluğu ve değişken bir iyileştirme paterni gösterir. MRG, gutta spinal tutulumun araştırılması için özellikle ilgi çekicidir. BT kemik erozyonu ve tofinin çok iyi görüntülenmesini sağlar. Tüm bu teknikler, gut hastalığındaki ilerlemeyi ve tedavi yanıtını izleme açısından halen değerlendirilmektedir [114].

## **2.8. DEĞERLENDİRME**

Gut artritinde kullanılan 0-10 görsel analog skalası gut atağının şiddet yoğunluğunu ifade eder. 7-10 arası puan şiddetli, 5 veya 6 puan orta ve 4 ve dördün altı puan hafif olarak kabul edilir. Akut semptomların başlangıcından itibaren geçen süre de dikkate alınır. Tutulumun kapsamı, etkilenen aktif eklemlerin sayısını tanımlar ve küçük eklemler, büyük eklemler ve eklem bölgeleri arasında ayırım yapar. Bu faktörler, akut gut artritinin başlangıç tedavisi için monoterapinin mi yoksa kombinasyon tedavisinin mi kullanılması gerektiğini belirler. Örneğin, hasta tarafından bildirilen ağrı şiddetliyse ve akut gut atağı üç ayrı büyük eklemi etkiliyorsa, uzman ekibi monoterapi yerine başlangıç kombinasyon farmakolojik tedavisini önerir [115].

## **2.9. TEDAVİ**

### **2.9.1. Nonfarmakolojik Tedavi**

Akut gut artritinin tedavisi için farmakolojik olmayan seçenekler sınırlıdır ve yalnızca farmakolojik tedaviyi desteklemesi amaçlanmıştır. Topikal buzun lokal uygulaması sınırlı kanıtlarla desteklenmektedir ve 2012 Amerika Romatoloji Koleji (ARK) kılavuzlarında önerilen tek farmakolojik olmayan tedavidir [115]. Küçük bir çalışmada, standart bakıma ek olarak topikal buz tedavisi alan bir grup, kontrol grubuna kıyasla ağrıda daha fazla azalma yaşamıştır [116]. ARK, kanıtlanmış etkinlik eksikliği nedeniyle akut gut atakları için tamamlayıcı ajanların (örneğin, vişne suyu veya özü, salisilat bakımından zengin söğüt kabuğu özü, zencefil, keten tohumu, odun kömürü, çilek, frenk üzümü, dulavratotu, ekşi krema, zeytinyağı, atkuyruğu, armut veya kereviz kökü) kullanılmasını özellikle önermektedir [115].

### **2.9.2. Farmakolojik Tedavi**

Akut gut için farmakolojik tedavi, ağrının olmamasını ve eklem iltihabının mümkün olduğunca hızlı bir şekilde çözülmesini amaçlar. Farmakolojik tedavi olmadan gut alevlenmesi 3 gün ile 2 hafta arasında sürer. Genel olarak, anti-enflamatuvar tedavi

hemen, tercihen akut gut alevlenmesinin başlamasından sonraki 12 ila 24 saat içinde başlatılmalıdır. Birinci basamak tedavi seçenekleri nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler), glukokortikoidler ve kolşisin'dir. Tedavi genellikle semptomları 24 saat sonra giderir. 3 madde grubundan hangisinin kullanılacağına hastanın eşlik eden hastalıklarına ve hekimin tecrübesine göre karar verilir. Ayrıca akut gut hastalarında özellikle diüretikler ve düşük doz asetilsalisilik asit gibi hiperürisemiye neden olan ilaçlarla tedaviye başlanmaması ve yerleşik tedavi dozunun artırılmaması önerilmektedir [117].

### **2.9.2.1. Kolşisin**

Kolşinin en erken rapor edilen kullanımı Bizanslı doktor Alexander of Tralles tarafından yapılmıştır. Sonbahar çiğdeminden (*Colchicum Autumnale*) türetilen bir alkaloid olan kolşisin, endotel hücreleri üzerindeki E selektinleri ile etkileşimi yoluyla nötrofil akışını ve göçünü inhibe ederek etki eder [118]. Bununla birlikte, yan etkileri ve diğer ilaçlarla (statinler, amiodaron, verapamil, makrolid antibiyotikler birkaç isim) etkileşimi nedeniyle, kolşisin genellikle yerini ilk olarak Steroid Olmayan Anti İnflamatuvar İlaçlar (NSAIDS) almıştır, ardından siklooksijenaz 2 (COX 2) inhibitörleri ve glukokortikoidler gelir [119].

### **2.9.2.2. Kortikosteroidler**

Glukokortikoidler, alevlenmeleri önlemek için etkinliği iyi bilinen güçlü anti-enflamatuvarlardır. Çalışmalar, oral prednizolonun akut gut hastalarında istirahatte ve aktivitede ağrının tedavisinde bir NSAID'ninkine eşdeğer analjezik etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir. Uzun yıllardır, NSAID'ler ve kolşisin, akut gut için birinci basamak tedaviler olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte, potansiyel yan etkileri ve ilaç etkileşimleri nedeniyle yaşlı erişkinlerde ve komorbid durumları olan hastalarda kullanımları sınırlıdır [120].

AKR 2012 yönergeleri, başlangıç dozu olarak 0,5 mg/kg prednizon veya eşdeğeri önermektedir. Prednizon, atak tamamen çözülene kadar bu seviyede devam

ettirilebilir; alternatif olarak, önceden tanımlanmış bir sivriltme stratejisi kullanılabilir. NSAID'lere gelince, amaç glukokortikoidleri en kısa uygun süre için kullanmaktır, ancak çok kısa olmamalıdır; çok hızlı bir şekilde sivrilmesi alevlenmenin tekrarlamasına neden olabilir. Glukokortikoid toksisitesi iyi değerlendirilmektedir ve glukokortikoid toksisitesi riski daha uzun ve tekrarlayan tedavilerde daha yüksek olmakla birlikte, kısa süreli bir tedavi bile olumsuz etkilere neden olabilir [121].

## **2.10. BESLENME TEDAVİSİ**

Hiperürisemiye hedefleyen yeni farmakoterapiler nedeniyle, tıbbi tedaviye genellikle daha erken başlanmakta ve beslenme tedavisine daha az önem verilmektedir. Bu yaklaşımla birlikte, sıklıkla birden fazla komorbiditesi olan hastalarda ilaç toksisitesi, etkileşimleri ve çoklu ilaç kullanımı gibi doğal riskler ortaya çıkar. Gut tedavisine yaklaşım diyet tedavisi ve yaşam tarzı değişikliğini içeriyorsa, ürik asit seviyelerini düşürebilir ve ayrıca sıklıkla gut ile birlikte görülen metabolik sendromun uzun vadeli sonuçlarını potansiyel olarak hafifletebilir [122].

### **2.10.1. Pürinden Zengin Yiyecekler**

Pürin içeren gıdalar (ıspanak, mantar, fasulye, bezelye, mercimek, kuşkonmaz, gibi), pürinlerin biyokimyasal bozunma son ürünü ürat olduğundan birçok erken gut diyetinin hedefi olmuştur. Bu sebzelerin riski azaltmasının temel sebebi olarak lifler olduğu düşünülmektedir. Lif alımının artması hiperürisemi riskini azaltmaktadır. Lifli fidaların adenin ve pürin absorpsiyonunu engellediği düşünülmektedir [123]. Pürinden zengin gıdaların alımının SÜA düzeylerini ve gut riskini arttırdığı bilinmektedir. Ancak SÜA ve gut riskine etkileri farklı olabilir.



### **2.10.2. Fruktoz**

Fruktoz meyve ve sebzelerde bulunan ve SÜA düzeylerini arttırdığı bilinen monosakkarittir. Son yıllarda fruktoz ve mısır şurubu tüketimi oldukça fazla artmıştır. Bu da metabolik diyabet, metabolik sendrom, obezite ve gut gibi hastalık insidanslarında artışlarla ilişkilidir. Obezite ve fruktoz alımındaki artış gutun artmış prevalansı ile ilişkilidir [124]. Yüksek fruktoz içerikli diyetin aşırı tüketiminin insülin direnci ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu durum ürik asit atılımını azaltıp üretimini artırabilmektedir [125].

### **2.10.3. Az Yağlı Süt Tüketimi**

Günde en az bir porsiyon süt tüketenlerin, tüketmeyenlere göre 0,25 mg/dL farkla daha düşük serum ürat değerine sahip olduğunu göstermektedir. Gün aşırı yoğurt alanlarda almayanlara göre daha düşük ürat seviyelerine sahip olduğu görülmüştür. Gut insidansı, süt ürünleri alımı ile ters orantılı görünmektedir. En yüksek süt ürününü alan erkeklerde en düşük dilime kıyasla rölatif risk 0,56'dır [122]. Glikomakropeptid ve G600'ün, sütün ürat seviyelerini azaltan aktif bileşenleri olduğu varsayılmıştır. Azalmış ürat düzeylerinin arkasındaki varsayılan mekanizma, süt ürünlerindeki proteinin ürikozürük etkisidir [126].

### **2.10.4. Kahve**

Birçok çalışmada kafeinin serum ürat seviyelerini etkilediği incelenmiştir [127]. Ulusal Sağlık ve Beslenme verilerine göre artan kahve alımıyla serum üratın azaldığı görülmüştür. Hiç kahve almayanla karşılaştırıldığında günde 4-5 fincan ve 6'dan fazla alanlarda serum ürat seviyeleri sırasıyla 0,26 ve 0,43 mg/dL azalmıştır [128]. Kahveye benzer şekilde yeşil çay tüketimiyle de serum ürat seviyeleri azalmıştır [129].

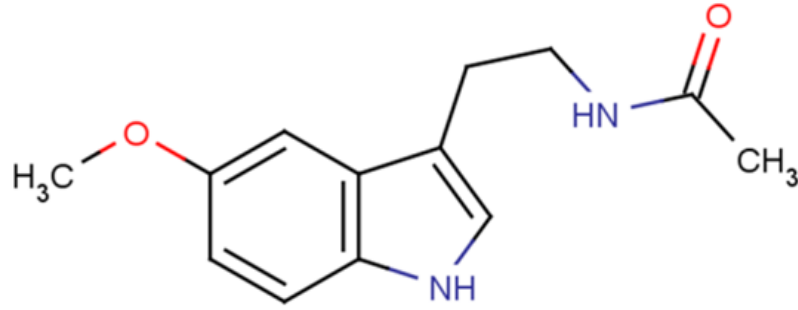
Yaş, cinsiyet, VKİ gibi değişkenler ayarlandıktan sonra bile kahve tüketenlerde serum üratın daha düşük olduğu görülmüştür. Kafeinsiz kahve ve ürat arasında da

benzer bir ters ilişki bulunmuştur. Toplam kafein seviyeleri urat seviyeleri ile ilişkili değildi, bu da kahvedeki kafein dışında bir şeyin bu ilişkiyi yönlendirdiğini göstermektedir [130].

## BÖLÜM 3

### MELATONİN

Melatonin, N-asetil-5-metoksitriptamin, hemen hemen tüm canlı organizmalarda, doğada ise her yerde bulunan bir moleküldür. Amfifilik difüzyon özellikleri nedeniyle organizmanın herhangi bir bölgesinde bulunan bir indolamindir (Şekil 3.1). Omurgalılarda, özellikle memelilerde, çeşitli dokularda lokal üretime ek olarak melatonin, epifiz bezi tarafından merkezi olarak üretilir ve bir hormon görevi yaparak doğrudan kana salınır. Epifiz bezi, memelilerde astrosit ve diğer hücre tiplerinin yanı sıra pinealosit adı verilen melatonin üreten hücreleri içeren üçüncü ventrikülün çatısından köken alan, eşleşmemiş bir epitalamik nöroendokrin bezdir [131].



Şekil 3.1. Melatonin [131].

Beynin üçüncü ventrikülünde bulunan epifiz bezi, Melatonin hormonunun sentezlenmesinden sorumludur. Melatonin kimyasal yapısı ve düşük molekül ağırlığı (278 kDa) nedeniyle hücre içi ve hücre dışı hücrelerde daha yüksek yayılabilirliğe sahiptir. Melatonin, beyin dışında lenfositlerde, kemik iliğinde, gözlerde ve gastrointestinal sistemde de sentezlenir [132].

Sempatik terminallerden salınan norepinefrin, pinealositlerin membranındaki klasik beta ve alfa noradrenerjik reseptörler ile etkileşerek melatonin sentezini tetiklemek için cAMP-PKA-CREB ve PLC-Ca<sup>++</sup>-PKC yollarını aktive eder [133].

Triptofan ile başlayan melatonin biyosentezi, tüm organizmalarda dört enzimatik adım içerir. Triptofan önce dekarboksilasyon ve hidroksilasyon içeren serotonine dönüştürülür. Farklı taksonlarda melatonin üretimine yol açan serotonin sentezi için iki strateji vardır. Mikroorganizmalarda ve bitkilerde serotoninin biyosentetik yolu, omurgalılarınkinden farklıdır. Triptofan, triptofan dekarboksilaz (TDC) tarafından triptamine dekarboksillenir, ardından bitkilerde triptamin 5-hidroksilaz (T5H) tarafından katalize edilen serotonin biyosentezi gelir. Buna karşılık, serotonin üretiminde ilk adım olan triptofan dekarboksilasyonundan ziyade, hayvanlar önce 5-hidroksitriptofan oluşturmak için triptofan hidroksilaz (TPH) kullanan hidroksilat triptofan ve daha sonra serotonin oluşturmak için aromatik amino asit dekarboksilaz (AADC) tarafından 5-hidroksitriptofan dekarboksilatlanır. Triptofan ve melatonin arasında, serotonin, biyosentetik sürecin her biri melatonin üretmek için iki ardışık enzimatik adım içeren iki potansiyel yolu kullandığı anahtar bir ara maddedir. Bu adımlar, son ürün olan melatonin oluşturmak için serotonini katalize eder; buna serotonin N-asetiltransferaz (NAT) ve N-asetilserotonin O-metiltransferaz dahildir [134].

Ana kontrol sirkadiyen zamanlama sistemi, esas olarak hipotalamik suprakiazmatik çekirdekler tarafından gerçekleştirilir, bu kez melatonin sentezi, gece ile sıkı bir şekilde sınırlandırılarak, aydınlık/karanlık döngüsüyle senkronize olarak günlük olarak üretilir. Işık uyarısı (esas olarak mavi aralıkta), retinohipotalamik yol aracılığıyla hipotalamusa yansıyan retinal fotoreseptif ganglion hücrelerinde melanopsin yıkımını aktive ederek melatonin sentezini inhibe eder [135].

Amfifilik yapısı nedeniyle melatonin, pinealositlerin içinde depolanmaz, sentezlenirken salınır. Epifiz bezi bolca vaskülarizedir ve dorsal ve posterior üçüncü ventrikül duvarına bağlanması melatoninin gece boyunca merkezi sinir sisteminin beyin omurilik sıvısına ve ayrıca kan dolaşımına salınmasına izin verir.

Kanda melatonin genellikle albümine bağlanır, sitokrom P450 izoformları (esas olarak CYP1A2) tarafından 6-hidroksimelatonin'e metabolize edilir ve sonraki idrar atılımı için karaciğerde 6-sülfatoksimelatonin ile konjuge olur. 6-sülfatoksimelatonin üretimi, melatoninin plazma seviyelerini mükemmel bir şekilde yansıtır, bu nedenle idrar ölçümü, epifiz fonksiyonunu ve melatonin üretimini değerlendirmek için daha az müdahaleci bir yöntemdir. Merkezi sinir sisteminde melatonin, N-asetil-N2-formil-5-metoksikinuramine (AFMK) indirgenir ve bu da N-asetil-5-metoksikinuramin'e (AMK) dönüşür [136].

Melatonin, eski bir kimyasal haberci olarak, birkaç pleiotropik etki mekanizması geliştirmiştir [137]. Birincisi, hücrel reseptörler tarafından aracılık edilmeyen ve antioksidan etkisi olarak melatonin ve diğer moleküllerin doğrudan etkileşimini içeren mekanizmalar vardır. Melatonin, yalnızca oksijen ve nitrojen reaktif türleri doğrudan şelatlayarak değil, aynı zamanda hücre içi antioksidan enzimatik sistemi harekete geçirerek de en güçlü doğal antioksidanlardan biridir. İkincisi, diğer hormonlar gibi melatonin de spesifik hücrel reseptörler aracılığıyla etki eder. Memelilerde membran melatonin reseptörleri iki tiptir, MT1 (MTNR1A) ve MT2 (MTNR1B). Bu membran melatonin reseptörleri, adenilil siklaz, fosfolipaz A2 ve fosfolipaz C gibi akış aşağı haberciler ile etkileşime giren, genellikle cAMP ve cGMP üretimini azaltan ve/veya diaçilgliserol ve IP3 oluşumunu artıran heterotrimerik Gi/Go ve Gq/11 protein-bağlı reseptörlerdir. MT1 ve MT2 reseptörleri hemen hemen tüm periferik dokularda ve ayrıca merkezi sinir sisteminde bulunur [138].

### **3.1. MELATONİN VE GUT**

Melatonin pineal bezden özellikle geceleri salgılanan çok fonksiyonlu pleiotropik bir hormondur [132]. Omurgalılarda dolaşımdaki melatonin esas olarak epifiz bezi tarafından üretilir ve ayrıca gastrointestinal sistem, deri ve retina gibi diğer organlar tarafından da üretilir [139]. Melatonin ayrıca uykunun başlatılması, ruh halinin düzenlenmesi, cinsel davranışın kontrolü ve otonom sinir sistemi dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreçte yer alan çok işlevli bir moleküldür [140].

Güçlü bir antioksidan olarak melatonin, çeşitli organlarda radyasyonun neden olduğu toksisiteyi iyileştirebilecek uygun bağışıklık düzenleyici özellikler göstermiştir. Bu etkilere, melatoninin iyonlaştırıcı radyasyona karşı doku reaksiyonunun farklı seviyelerinde çeşitli modülatör etkileri aracılık eder. DNA onarım sistemi, antioksidan enzimler, bağışıklık hücreleri, sitokinlerin salgılanması, transkripsiyon faktörleri ve protein kinazlar üzerindeki etkileri en önemlileridir [141].

Son çalışmalar ayrıca melatoninin çeşitli hücrelerde NLRP3 ekspresyonunu engelleyebileceğini ve anti-enflamatuvar bir rol oynayabileceğini gösterdi. Örneğin melatonin, adipositlerde NLRP3 ekspresyonunu inhibe eder ve yağ dokusunda enflamasyonu inhibe eder. Hem akut akciğer hasarında hem de beyin hasarında melatonin, septik farelerde makrofajlarda NLRP3 aktivasyonunu inhibe eder ve farelerin hayatta kalma süresini uzatır. Bununla birlikte, melatoninin gut ile ilişkili akut enflamasyonda bir rol oynayıp oynamadığı belirsizliğini koruyor [142].

NLRP3 enflamatuvar hücreleri, IL-1 ve IL-18'in salgılanmasını teşvik ederek enflamatuvar kaspaz aktivasyonunda önemli roller oynayan hücre içi poliprotein kompleksleridir [143]. NLRP3, üç bölümden (NRR-Nacht-PYD) oluşan NOD benzeri bir reseptördür ve büyük ölçüde makrofajlar, monositler ve nötrofiller üzerinde eksprese edilir ve enflamatuvar yolları başlatmak için bir model tanıma reseptörü (PRR) görevi görür [144].

Birçok çalışma gut ve NLRP3 yolu arasındaki yakın ilişkiyi doğrulamaktadır. Gut iltihabının başlaması, makrofajlarda NLRP3'ün aktivasyonu ile yakından ilişkilidir. Çalışmalar, makrofajların sodyum klorofosfat ile inhibe edilmesinin farelerde akut gut iltihabını önemli ölçüde azaltabildiğini göstermiştir, bu da makrofajların iltihaplanma gelişimini yönlendirdiğini düşündürmektedir [145]. Makrofajlar, enflamatuvar yanıtta önemli roller oynar ve makrofajlardaki enflamatuvar yol, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin ilk savunma hattının önemli bir bileşenidir. Bakteriyel enfeksiyon sırasında, makrofajlar gibi bağışıklık hücreleri, ilk olarak IL-6 ve TNF-a gibi enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu indüklemek ve aynı anda

NLRP3 ve IL-1 $\beta$ 'yi yukarı regüle etmek için patojenle ilişkili moleküler modeller (PAMP'ler) tarafından uyarılır. PAMP'ler tarafından indüklenen aktivasyon, makrofajlardaki duyarlılaştırma sinyalidir (ilk sinyal olarak da bilinir). Daha sonra, duyarlı hale getirilmiş makrofajlar, bakteri veya konakçı hücreler tarafından salgılanan ikinci bir sinyal ile aktive edilir, bu da kaspaz-1 ve IL-1 $\beta$  aktivasyonuna yol açar ve enflamatuvar yanıtı daha da güçlendiren enflamatuvar hücre ölümünün oluşumunu indükler [142].

## BÖLÜM 4

### ENFLAMASYON

Enflamasyon, patojenleri ortadan kaldırarak, doku onarımını ve iyileşmesini teşvik ederek, konakçıyı bakterilerden, virüslerden, toksinlerden ve enfeksiyonlardan koruyan, immün ve immün olmayan hücrelerin aktivasyonu ile karakterize evrimsel olarak korunmuş bir süreçtir [146]. Enflamasyon akut veya kronik olabilir. Akut enflamasyon kısa bir süre için devam ederse enfeksiyonlara ve alerjenlere karşı konak savunmasını oluşturur, uzun süren kronik enflamasyon ise kanser, kalp damar hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar, solunum yolu hastalıkları, vb. dahil olmak üzere birçok kronik hastalığa yol açar [147]. Akut enflamasyon doğuştan gelen bir immün savunma şeklidir ve büyük ölçüde nötrofiller ve eozinofiller gibi granülosit efektör hücrelerin aracılık ettiği yaralanma, enfeksiyon ve tahrişe verilen birincil tepkilerden birini temsil eder [148]. Enflamatuvar yolları hedef almak, bu ölümcül hastalıkların önlenmesinde ve yok edilmesinde yüksek potansiyele sahiptir [149]. Akut enflamasyon, lökositleri ve plazma proteinlerini (ve daha sonraki bir aşamada antikorları) enfeksiyon veya yaralanma bölgelerine çekerek enfeksiyonla mücadele eden doğuştan ve edinilmiş bağışıklığı kolaylaştırır. Akut enflamasyon, birkaç gün veya hafta devam eder; dış uyarının varlığını gerektirir. Çeşitli bağışıklık hücreleri tarafından oluşturulan uzun süreli veya daha yoğun infiltrasyon, akut enflamasyonu, dış uyarıların varlığının çok ötesinde, aylar veya yıllar boyunca devam eden kronik enflamasyona dönüştürebilir [150]. Enflamatuvar yanıtın zamanında sonlandırılması, yersiz doku hasarını önlemek ve steril veya mikrobiyal enflamatuvar hareketlerden sonra doku bütünlüğünün yeniden oluşturulmasını teşvik etmek için büyük önem taşır. Akut nötrofilik enflamasyonun çözülmesi, proenflamatuvar medyatörlerin aşağı regülasyonu, daha fazla nötrofil alımının sonlandırılması ve nötrofillerin temizlenmesi dahil olmak üzere iyi düzenlenmiş bir dizi işlem gerektirir [151, 152]. Enflamasyon, insan vücudunda temel bir savunma mekanizmasıdır. Çeşitli immünoisitler ve moleküller, iltihaplanma sırasında vücudu korumak için endojen ve



eksojen patojenik maddeleri ortadan kaldıran muazzam bir düzenleyici ağ oluşturur. Bununla birlikte, ağın dengesizliğine yol açan aşırı enflamatuvar reaksiyonlar ve uzun süreli enflamasyon durumları daha fazla doku hasarına neden olabilir [153]. Nötrofiller olarak bilinen bağışıklık hücreleri, iyileşme sürecine yardımcı olmak için bir yaralanma sonrası veya bir enfeksiyon sırasında enflamasyonu teşvik ederler. Bununla birlikte, eğer çok uzun süre aktif kalırlarsa, aynı zamanda doku hasarına ve enflamatuvar hastalıklara neden olabilirler. Nötrofiller genellikle çok kısa bir ömre sahiptir ve apoptoz olarak bilinen düzenlenmiş bir işlemle ölürlür. Nötrofillerde apoptozu uyarmanın yollarını bulmak, enflamatuvar hastalıklar için daha iyi tedaviler geliştirmenin anahtarı olabilir [154]. Hücre yaşlanması da bağışıklık hücrelerinin aktivasyonundan bağımsız olarak kronik enflamasyona neden olan proenflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını uyarır [155]. Yaşlanma sırasında meydana gelen en büyük değişikliklerden biri, kronik sistemik enflamatuvar bir duruma yol açan immün yanıtın düzensizliğidir [156]. Enflamasyon, altta yatan patojenik enfeksiyonlardan veya yaralanmalardan korunmada bağışıklık sisteminin başlıca koruyucu özelliğidir. Homeostazın korunmasında konakçı immün hücrelerin normal enflamatuvar süreçleri, mukozal, bağ ve epitel bariyerlerini ve proenflamatuvar sinyalleme oluşturur. Bununla birlikte, stres, genetik ve yaş gibi çeşitli etiyolojik faktörlere bağlı olarak vücuttaki herhangi bir fizyolojik değişiklik, homeostazda dengesizliğe ve patojenik bakterilerin bağ dokularına ve sinovyal eklemlere nüfuz etmesine yol açarak abartılı enflamasyon ve hastalığın patogeneze katkıda bulunur [157, 158]. Bir hastadaki artrit enflamatuvar kaynaklı olup olmadığını ayırt etmek, hastayı daha fazla teşhis etmek ve yönetmek için ilk adımdır. Enflamatuvar artrit genellikle klasik enflamasyon semptomlarıyla ilişkilidir – ağrı (dolor), kızarıklık (rubor), sıcaklık (calor), şişme (tumor) ve fonksiyon kaybı (functio laesa), ancak tüm özellikler her zaman mevcut olmayabilir [159].

#### **4.1. KLASİK ENFLAMASYON SEMPTOMLARI**

Ağrı ve davranışsal semptomlarda proenflamatuvar bir süreç söz konusu olabilir. Enflamasyon ile yorgunluk, ağrı ve depresyon arasında ortak bir bağlantı gelişebilir [160]. Akut enflamasyon doku yaralanmasına veya enfeksiyona karşı doğal bir

fizyolojik yanıt iken, kronik enflamasyon uyuzdur ve önemli miktarda ters ağrıya neden olur [161]. Kronik enflamatuvar ağrı, hastaların yaşam kalitesini büyük ölçüde etkileyen ciddi bir klinik problemdir. Mikroglia aracılı nöroenflamasyon, enflamatuvar ağrının patojenik ilerlemesinde kritik role sahiptir [162]. Ciltte kızarıklık veya ciltte kırmızımsı renk değişikliği, tahriş belirtisidir. Fizyolojik olarak dokudaki geçici vazodilatasyon ve hiperemi, gözle görünür karakterdedir [163]. Kırmızı renk, lokal ve sistemik cilt koşullarında yaygındır [164]. Soğuk ve sıcak aynı zamanda enflamatuvar uyarıyı güçlendirebilir. Belirli koşullar altında, tüm vücut hipertermisinin immünosupresif etkileri vardır. Kronik ve artan enflamasyon ısıdan daha çok etkilenir [165]. Akut enflamasyonda, lokal enflamatuvar uyarı etkilenen bölgede şişlik oluşumunu tetikler [166]. Şişliğin nedenleri çeşitlidir. Genel klinik belirtiler aşağıdaki dört grupta sınıflandırılabilir: (a) enflamasyonlu akut şişlik, (b) ilerleyici olmayan şişlik, (c) yavaş ilerleyen şişlik ve (d) hızlı ilerleyen şişlik [167]. Bu semptomların birinin ya da bir kaçının varlığı organ ya da bölgede fonksiyon kaybına yol açabilmektedir [168].

#### **4.2. OKSİDATİF STRES**

Oksidatif stres (OS), oksidatif ve antioksidatif süreçler arasındaki fizyolojik dengesizliği ifade eder. Artan oksidasyon, nötrofilerin enflamatuvar infiltrasyonuna, proteaz sekresyonunda artışa ve çok sayıda oksidatif araçların üretimine yol açar [169]. Radikal (örneğin oksijen ( $O\cdot_2$ ), hidroksil ( $OH\cdot$ ), süperoksit iyonu ( $O\cdot_{-2}$ ), nitrik oksit (NO)) ve radikal olmayan (örneğin hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), peroksinitrit ( $ONOO\cdot-$ ), aldehitler (HCOR)) oksijen türleri dahil olmak üzere ROS, oksijen metabolizması sırasında üretilen pro-oksidan moleküllerdir. ROS üretimi, homeostazı korumak için ROS'u detoksifiye eden karmaşık bir antioksidan sistem tarafından dengelenir [170, 171]. Diğer bazı ROS kaynakları NADPH oksidaz ve ksantin oksidazdır [172]. Üretimleri fizyolojik ve düzenlenmiş bir süreç olmasına rağmen, yüksek ROS seviyeleri zararlıdır. Normal koşullarda ROS, antioksidanlar tarafından temizlenir. Artan üretim ve/veya azalan klirens nedeniyle ROS seviyeleri yükseldiğinde, hücre oksidatif stres adı verilen ve potansiyel olarak lipid, protein ve DNA hasarına yol açan bir stres durumuna girer [173].

Antioksidanlar ve antioksidatif enzimler gibi koruyucu mekanizmalar, hücrelerdeki fizyolojik ROS konsantrasyonlarını korurken, dış ve iç uyaranlar, ilgili ROS oluşturan ve parçalayan enzimlerin aktivitesini değiştirerek ROS miktarını etkilemektedir. ROS'un patofizyolojik seviyeleri, biyokimyasal ve sinyal süreçlerini değiştirerek veya hatta DNA, RNA ve proteinlerde oksidatif hasara neden olarak enflamasyon hücre proliferasyonu ve farklılaşması, yara iyileşmesi, nöronal aktivite, üreme ve davranış gibi bir çok hayati hücresel süreç ve fonksiyona müdahale eder [174, 175]. Kronik oksidatif stresin zararlı etkileri, daha hızlı yaşlanmayı, DNA mutasyonlarını, en kötü durumlarda malign değişiklikler ve hücresel ölüm dahil olmak üzere birçok hastalığın gelişimini ve ilerlemesini tetikleyebilir [176].

Oksidatif stres vücutta çeşitli antioksidan mekanizmaları tetiklediğinden, lipid peroksidasyon ürünleri ve antioksidan özelliklere sahip endojen enzimler gibi biyobelirteçler tanımlanmış ve memelilerde oksidatif stresi değerlendirmek için kullanılmıştır. Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA), oksidatif stresin bir biyolojik belirteci olarak yaygın olarak kullanılmaktadır [177]. MDA, plazmada ölçülebilen ve etkin bir lipid peroksidasyon belirteci ve reaktif oksijen türleri (ROS) aktivitesinin dolaylı bir indeksi olarak hizmet eden lipid peroksidasyonunun bir terminal ürünüdür [178].

Katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD) dahil olmak üzere enzimatik antioksidanlar, ROS hasarını kontrol eden endojen antioksidanlardır, oysa karotenler, flavonoidler, indirgenmiş glutatyon, bilirubin, koenzim Q ve vitamin C, eksojen antioksidanların kaynaklarıdır [179]. Süperoksit dismutazlar (SOD'lar), vücuttaki oksidatif strese karşı antioksidan savunmada önemli bir rol oynayan metalloenzimlerdir. Bu nedenle SOD takviyesi, serbest radikal fazlalığının nötralizasyonu için endojen antioksidan mekanizmayı tetikleyebilir ve çeşitli patolojik ortamlarda kullanılabilir [180]. SOD'lar, ökaryotlarda ve bazı prokaryotlarda bulunan metalloenzimlerdir. SOD'lar sitozolde, mitokondriyal iç membranda (Cu, Zn-SOD veya SOD1), mitokondriyal matraste ve iç zarda (Mn-SOD veya SOD2) ve hücre dışı bölümde (Cu, Zn-SOD veya SOD3) bulunurlar [181, 182].

Hücreler, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasarı önlemek veya onarmak ve ayrıca redoksa duyarlı sinyal yollarını düzenlemek için çok sayıda antioksidan içerir. SOD, CAT ve GSH'nin antioksidan enzim aktivitesini ölçmek için genel protokoller açıklanmıştır. SOD'lar süperoksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürürken, katalaz ve peroksidazlar hidrojen peroksiti suya dönüştürür. Bu şekilde iki toksik tür (süperoksit radikali ve hidrojen peroksit), zararsız hale dönüştürülür [183]. Antioksidan enzimler CAT ve SOD, organizmaları toksik maddelerin olumsuz etkilerinden korumak için etkili savunma bariyerleri olarak kabul edilir [184]. CAT, su ve oksijen üretmek için hücrel hidrojen peroksiti yok ederek oksidatif stresi önemli ölçüde azaltan önemli antioksidan enzimlerden biridir [185].

#### **4.2.1. Oksidatif Stres ve Gut**

Enflamatuvar sürece ek olarak, gut ile ilişkili erken olaylardan biri de oksidatif strestir. Bu oksidatif durum, ROS ve proenflamatuvar sitokinlerin üretimi tarafından tetiklenir [186]. Fizyolojik koşullar altında ROS üretimi yaşam için esastır, çünkü fagositlerin bakterisidal aktivitesi, sinyal iletimi, hücre döngüsünün düzenlenmesi ve redoks durumu gibi çok sayıda mekanizmada yer alırlar [187]. Oksidatif stres ROS üretimi ile antioksidan mekanizmalar arasındaki dengesizliğin sonucudur. Yüksek kimyasal reaktiviteleri nedeniyle ROS farklı biyomoleküllerde hasara neden olabilir. Örneğin; peroksidaz gibi oksijen serbest radikallerinin üretildiği yağ asitleri veya membran lipidlerin peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı bunlara örnektir [188]. ROS üretimi mitokondride elektron transport zincirinde oksijen kullanımı sonucunda oluşur [189].

ROS ayrıca NADPH oksidaz, lipoksijenaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz tarafından katalize edilen enzimatik reaksiyonlarda, araşidonik asit yolunda ve organik bileşiklerin oto oksidasyonunda salınır. Süperoksit ( $O_2^-$ ) radikalının diğer bir ana kaynağı, sinovyal membrana sızan nötrofillerden ve makrofajlardan gelen NADPH oksidazdır. Endotel hücreleri, fibroblastlar ve kondrositler gibi fagositik olmayan

birçok hücrenin de NADPH oksidaz bileşenlerini eksprese ettiği ve serbest oksijen radikalleri ürettiği bildirilmiştir [190].

$O_2^-$ , endotel hücrelerine ve hücre dışı matrikse zarar veren, mikrovaskülatür geçirgenliğini artıran ve nötrofillerin enflamasyon odaklarına göçünü destekleyen oksidatif bir bileşiktir.  $O_2^-$ , serbest demir veya bakır iyonları ile etkileşime girdiğinde hidroksil radikali ( $HO^-$ ) gibi daha agresif bir ROS'a dönüştürülebilir [191].

Lipid peroksidasyon ürünlerinden özellikle MDA, kırkırdak hücrelerinde tanımlanmıştır, ROS aktivitesinin ikincil aracılığı olarak hareket eder ve hyaluronik asidin depolimerizasyonuna, kollajen ve proteoglikanların bozulmasına, proteinlerin oksidasyonuna ve proliferasyonun inhibisyonuna yol açar. Yüksek malondialdehit düzeylerine rağmen SOD ve CAT gibi antioksidanlar az miktarda eksprese edilmektedir [192]. Buna karşılık, sinoviyositler daha fazla miktarda SOD, glutatyon peroksidaz (GPx) ve CAT üretir. Bu hücreler, nitrik oksit ( $NO^-$ ),  $O_2^-$ ,  $OH^-$ , alkoksit ( $RO^-$ ),  $ROO^-$  ve  $H_2O_2$ , hipokloröz asit ( $HOCl$ ), ozon ( $O_3$ ) ve singlet oksijen ( $\Delta O_2$ ) gibi elektronik olarak kararsız moleküllerde artış nedeniyle oksidatif stres oluşumuna bağlı bir enflamatuvar süreci tetikleyerek doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin bir parçasını oluşturur [193]. Antioksidan enzimlerin yüksek üretimini, hücrel stres durumunu telafi etmek amacıyla MSÜ'ya maruz kalan TPH-1 hücrelerinin aktivasyonunda olduğu gibi, ROS tarafından Nrf2 aktivasyonundan kaynaklanıyor olması mümkündür [194]. Gutta kristallerin  $NO^-$  [195] üretimini arttırdığı ve eğer  $O_2^-$  ile birleşirse peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) üretildiği ve bunu etkilediği bilinmektedir [62].

Kristallerin immünoglobulinleri, lipidleri ve kompleman faktörlerini çekebildiğini gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur vardır bu da çeşitli hücrelerdeki reseptörlere bağlanan immün komplekslerin oluşumuna neden olur. Ortiz-Bravo ve ark. bir çalışmada MSÜ kristallerini kaplayan proteinlerin enflamasyon geliştikçe değiştiğini göstermişlerdir. Protein kaplamaları, gut iltihabının kendi kendini sınırlayan doğasında önemli bir rol oynayabilir. IgG kaplama MSÜ kristalleri,

enflamatuvar süreci iyileştirebilir ve Apo B kristaller üzerindeki bölgeleri yarışmalı bir şekilde kaplayarak IgG'nin yerini alabilir ve akut gut atağının çözülmesine katkıda bulunabilir [196]. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, bir grup fare serum IgM antikorunun ürik asidin kristalleşmesini kolaylaştırdığını, bu antikorların ürik asit kristallerini bağladığını ve bu immünooglobulinlerin ürik asit kristalizasyonu ve immünojenisite destekleyen pozitif bir geri besleme döngüsünün parçası olabileceğini düşündürmektedir [197].

MSÜ'nun fagositozunu gerçekleştirirken nötrofiller ROS oluşumu, sitokin salınımı, proteazlar, araşidonik asit ürünleri, prostaglandinler ve miyeloperoksidaz üreten kristaller tarafından stabilize edilen fagolizozomları indükler, membran bozulmasını ve hücre ölümünü ve ayrıca hücre dışı tuzak oluşumunu tetikler. Bu tuzak nötrofil elastaz, katepsin G ve laktotransferrin gibi gevşetilmiş kromatin ve granül proteinlerden oluşur [198].

Aktif bir hücre ölüm mekanizması apoptoz ve nekrozdan farklıdır ve NADPH oksidaz tarafından ROS üretimine bağlıdır. NO-'nin elektron taşıma zinciri komplekslerindeki bir değişiklik nedeniyle sinoviyositlerin hücresel canlılığını azalttığına, adenosin trifosfat (ATP) oluşumunu azalttığına ve apoptozu artırdığına dair bulgular vardır [199].

MSÜ kristallerine ve IFN  $\gamma$ 'ye maruz kalan sinovyal hücrelerde, NO-'nin indüklenebilir nitrik oksit (NO) sentaz enziminin (iNOS) aşırı ekspresyonu yoluyla üretildiği gösterilmiştir [199]. Chen ve ark., in vitro monosit/makrofajlarda MSÜ stimülasyonuna yanıt olarak iNOS proteini ve mRNA ekspresyonlarının yukarı doğru düzenlendiğini göstermiştir [200].

Akut gut artritinde tedavinin temel amacı, ağrının hızlı bir şekilde giderilmesini sağlamak ve enflamatuvar durumun neden olduğu sakatlığı en aza indirmektir. Steroid olmayan antienflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler), COX-2 inhibitörleri ve kolşisin, akut gut atakları için genellikle birinci basamak ajanlar olarak kullanılır.

COX-2 inhibitörleri, COX-2 'nin aktivitesini azaltır ve kolşisin enflamatuvar hücrelerin göçünü engeller [201].

## BÖLÜM 5

### GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 5.1. GEREÇLER

##### 5.1.1. Kimyasal Malzemeler ve Kullanılan Yöntemler

Tez çalışması sırasında kullanılan kimyasallar; disodyumhidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), tiyobarbitrik asit (TBA), fosforik asit, n-butanol, 5,5' dithiobis-2 nitrobenzoik asit (DTNB), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), disodium etilendiamin tetraasetik asit ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ), potasyum sodyum tartarat, bakır (II) sülfat, sodyum hidroksit, ksantin oksidaz, bakır (II) klorür, bovine serum albumin (BSA), krosin, ksantin, sodyum karbonat, total antioksidan seviyesi (TAS) (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep Türkiye) ve total oksidan seviyesi (TOS) (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep Türkiye) kitleri ile interlökin 6 [Bioassay Technology Laboratory (BT Lab, ÇİN)] kiti kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan aletler; manyetik karıştırıcı (Termal N11150M), otomatik pipetler (Brand), hassas terazi (RADWAG AS 220.R2), vorteks (Velp Scientifica), soğutmalı santrifüj (Nüve NF 1200R), mikrosantrifüj (Nüve NF 048), spektrofotometre (Thermo Fisher Multiskan Go 1510), UV/VIS Spektrofotometre (PG Instruments), pH metre (Adwa 1000), homejenizatör (Hangzhou Bioprep-24), sallayıcı su banyosu (Nüve ST 30), mikropilaka yıkayıcı (Thermo Fisher Wellwash 888).



## 5.2. YÖNTEMLER

### 5.2.1. Deney Hayvanların Bakımı

Bu çalışmada 250-300 gr ağırlığında 70 adet wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 7 gruba (n=10) ayrıldı. Deneyler süresince  $21\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve 12 saat ışık/karanlık periyoduna sahip ortamda tutulan hayvanlar, normal musluk suyu ve standart sıçan yemi ile ad libitum olarak beslendiler.

Çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylandı (Protokol No: 2020-10-07/05). Tüm deneysel prosedürler, deney hayvanlarının kullanımına ilişkin Hayvan Etik Kurulu Yönergelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

### 5.2.2. Rat Deney Protokolü

Çalışmanın ilk gününden itibaren gruplarda bulunan hayvanlara aşağıda belirtilen uygulamalar ve işlemler yapıldı.

- **Kontrol grup:** Bu gruptaki hayvanlara herhangi bir işlem yapılmadı.
- **Sham Pinealektomi (PINX) grup:** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın ilk günü sham PINX yapıldı. İlk günden itibaren 30 gün boyunca intraperitoneal (i.p.) %0,9 serum fizyolojik (MLT çözücüsü) enjeksiyonu yapıldı ve çalışmanın 30. gününde tek doz intraartiküler (i.a.) 50  $\mu\text{l}$  fosfat tampon çözeltisi (PBS; MSÜ çözücüsü) enjeksiyonu yapıldı.
- **Monosodyum ürat (MSÜ) (Model) grup:** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın ilk gününden itibaren 30 gün boyunca i.p. MLT çözücüsü enjeksiyonu yapıldı. 30. günde tek doz i.a. MSÜ (20mg/ml) 50  $\mu\text{L}$  steril PBS hacminde enjekte edildi [202].
- **MSÜ+MLT grup:** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın ilk gününden itibaren 30 gün boyunca i.p. MLT enjeksiyonu [203] yapıldı. 30. günde tek doz i.a. 50  $\mu\text{l}$  MSÜ enjeksiyonu yapıldı.

- **PINX grup:** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın ilk günü PINX işlemi yapıldı.
- **PINX+MSÜ grup:** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın ilk günü PINX işlemi yapıldı. Çalışmanın ilk gününden itibaren 30 gün boyunca i.p. MLT çözücüsü enjeksiyonu yapıldı. 30. günde tek doz i.a. 50 µl MSÜ enjeksiyonu yapıldı.
- **PINX+MSÜ+MLT grup:** Bu gruptaki sıçanlara çalışmanın ilk günü PINX işlemi yapıldı. Çalışmanın ilk gününden itibaren 30 gün boyunca i.p. MLT (10 mg/kg/gün) enjeksiyonu yapıldı. 30. günde tek doz i.a. 50 µl MSÜ enjeksiyonu yapıldı.

Tüm bu gruplardaki hayvanlara yapılacak işlemlerin ardından (30. günde) her sıçanın ayak bileği eklemının çevresi dijital bir kumpas ile ölçüldü. Ayak bileğindeki ödem oluşumu, ayak bileği çevresinde bir artış olarak değerlendirildi [204]. Gut indüksiyonundan 24 saat sonra (ayak bileğinin çevresi ölçümleri sonrası) sıçanlar dekapite edildi, kan ve eklem dokuları alındı. Alınan kan numunelerinden elde edilen serumda lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA) ile endojen bir non enzimatik antioksidan olan redükte glutatyon (GSH) seviyeleri ve enzimatik antioksidanlar olan süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri belirlendi. Ayrıca eklem dokusunda histopatolojik inceleme yapıldı.

#### 5.2.2.1. Pinealektomi İşlemi

Anesteziye alınan sıçanların iki gözü arasından eşit mesafede, burnun gerisinden enseye doğru olmak üzere kafatası derisine bir kesi yapıldı. Periost sıyrılarak lambda ortaya çıkarıldı. Kafatasının üst kısmına mikro freze matkap (Proxxon MİCROMOT 50/E, Almanya) ile pensin ucunun girebileceği ölçüde dairesel bir kesi yapıldı. Kesi yapılan yerden pens ile girilerek venöz sinüs altında yer alan pineal bez tek parça halinde çıkarıldı. Daha sonra kesilmiş olan kemik parçası yerine yerleştirilerek kafa derisi dikilerek %10 povidon iyodin sürüldü.

### **5.2.2.2. Melatonin (MLT) Çözeltisinin Hazırlanması ve Enjeksiyonu**

Melatonin'in çözdürülmesi için etanol (0.5%) kullanıldı ve serum fizyolojik ile uygun konsantrasyona ayarlandı. Elde edilen çözeltideki etanolün final konsantrasyonunun 0.5%'den fazla olmamasına dikkat edildi [205]. Sıçanların bulunduğu gruplara göre çalışmanın ilk gününden itibaren 30 gün boyunca i.p. MLT (10 mg/kg/gün) veya çözücüsü enjekte edildi [203].

### **5.2.2.3. Monosodyum Ürat (MSÜ) Kristallerinin Hazırlanması ve Enjeksiyonu**

MSÜ kristalleri (20mg/ml), 50 µL steril fosfat tampon çözeltisi (PBS) hacminde ayarlandı. Sıçanlar, i.p. olarak 80 mg/kg ketamin ve 8 mg/kg ksilazin ile anestezi altına alındı [206]. Anestezi sonrası, her sıçanın sol tibio-tarsal eklemine (ayak bileği eklemi) medial tarafına 50 µL PBS hacminde MSÜ enjekte edildi [202].

### **5.2.3. Ayak Bileğinin Çevresi ve Eklem Deri Sıcaklık Değişimlerinin Değerlendirmesi**

Tüm gruplardaki hayvanlara yapılacak işlemlerin ardından (30. günde) her sıçanın sol tibio-tarsal eklemine çevresi 0, 2, 8, 16 ve 24 saat sonra dijital bir kumpas ile ölçüldü. Aynı şekilde bu sıçanların eklem sıcaklıkları da hassas bir termometre ile ölçüldü.

### **5.2.4. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması**

Deney sonunda denekler i.p. olarak 80 mg/kg ketamin (Richter Pharma AG, Avustralya) ve 8 mg/kg ksilazin (Bioveta PLC, Çek Cumhuriyeti) ile anestezi altında dekapite edilerek kan ve ayak bileği eklem dokuları alındı. Kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve biyokimyasal analizlerin yapılması için dondurucuda (-80°C) saklandı.

### **5.2.5. Biyokimyasal Analizler**

Deney sonunda deneklere intraperitoneal yoldan 90 mg/kg ketamin (Ketalar-Eczacıbaşı/Türkiye), 10 mg/kg xylazine (Rompun-Bayer/Türkiye) ile anestezi uygulandıktan sonra laparotomi işlemi ile abdominal ven'den tüplere kan alınarak hayvanlar dekapite edilmiştir. Tüplere alınan kan numuneleri pıhtılaşmanın gerçekleşmesi için oda ısısında yaklaşık olarak bir saat kadar bekledikten sonra 4000 rpm'de 20 dakika santrifüj işlemi yapılarak serum numuneleri elde edilmiştir. Serum numuneleri biyokimyasal testleri yapmak üzere ependorf tüplere ayrıldıktan sonra analiz gününe kadar -80 C°'de derin dondurucuda saklandı.

#### **5.2.5.1. Numunelerin Hazırlanması**

Çalışma günü serumlar derin dondurucudan alınarak malondialdehit (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) analizi ile toplam antioksidan seviyesi (TAS), toplam oksidan seviyesi (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ), interlökin-6 (İL-6) ve protein seviyelerini belirlemek için kullanıldı.

#### **5.2.5.2. Oksidatif Stres Belirteçlerinin Analizi**

##### **Serum Malondialdehit (MDA) Seviyesinin Ölçümü**

Serum MDA analizi Ohkawa ve arkadaşlarının [207] tarif ettiği yönteme bağlı kalınarak yapılmıştır. Serumlar, kapaklı cam tüp içersinde %1'lik H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ve %0.6'lık tiyobarbitürik asit ile karıştırıldıktan sonra tüp kapaklarının üzeri alüminyum folyo ile sıkıca sarıldıktan sonra 45 dakika boyunca kaynar su banyosunda inkübe edildi. Daha sonra karışım, n-butanol ile ekstrakte edildikten sonra santrifüj işlemiyle n-butanol fazında ayrılan pembe renk deney gruplarına göre mikropilaya kuyucuklarına yerleştirilerek ELİSA okuyucuda 535 nm dalga boyunda ölçüldü ve MDA seviyesini hesaplamak için kullanıldı. Kör olarak n-butanol ve standard olarak tetrametoksipropan kullanıldı. Bulgular nmol/g olarak elde edilmiştir.

### **Serum Redükte-Glutatyon (GSH) Seviyesinin Ölçümü**

Serum redükte glutatyon (GSH) analizi Ellman'ın [208] tarif ettiği yönteme bağlı kalınarak yapılmıştır. Serumlar deproteinize edildikten sonra ependorf tüp içersinde 5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) ile reaksiyona sokularak sarı-yeşil renk oluşması için inkubasyona bırakıldı. Oluşan renkli ürün deney gruplarına göre mikropalakalara yerleştirilerek ELİSA okuyucuda 410 nm dalga boyunda ölçüldü ve GSH seviyesini hesaplamak için kullanıldı. Kör olarak distile su ve standard olarak 5mM/L'lik stok GSH çözeltisinden hazırlanan farklı dilüsyonlar kullanıldı. Bulgular nmol/g olarak elde edildi.

### **Serum Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Ölçümü**

Serum SOD aktiviteleri, Sun ve arkadaşlarının [209] yöntemine bağlı kalınarak yapıldı. Deney ortamında ksantin-ksantin oksidaz reaksiyonu ile süperoksit radikalleri oluşur. Oluşan bu radikaller ortamdaki NBT'yi (nitro blue tetrazolium) indirgeyerek mavi renkli formazan oluşmasına neden olur. Serum SOD aktiviteleri oluşan bu mavi renkli formazanın 560 nm'de ELİSA okuyucuda ölçülmesi ile yapıldı. Bulgular U/g protein olarak elde edildi.

### **Serum Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü**

Serum CAT aktiviteleri Aebi ve arkadaşlarının [210] yöntemine bağlı kalınarak yapıldı. Deney ortamında süpernatan ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren fosfat tamponu (pH: 7.5 mM) karıştırıldı. Serum CAT aktivitesi ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub>' e parçalanır. Ortamdaki hidrojen peroksitlerin yıkımlanması 240 nm'de absorbans azalmasına neden olur. CAT aktivitesini hesaplamak için absorbanstaki azalma 1 dakika boyunca gözlemlendi. Bulgular K/g protein olarak elde edildi.

### **Serum Protein Seviyesinin Ölçümü**

Serum SOD ve CAT enzim aktivitelerinin hesaplanması için protein düzeyleri Lowry ve arkadaşlarının [211] yöntemine bağlı kalınarak yapıldı. Oluşan mavi renk 700 nm dalga boyunda ELİSA okuyucuda ölçülerek protein içeriğinin hesaplanmasında kullanıldı. Bulgular mg/ml olarak elde edildi.

### **Serum Total Oksidan Seviyesinin (TOS) Ölçümü**

Serum TOS düzeylerinin ölçülmesi Erel'in metoduna bağlı kalınarak yapıldı [212]. Total Oksidan Seviyeleri, kit (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep Türkiye) prosedürüne bağlı kalınarak kullanılarak çalışıldı. Oluşan renkli bileşikler 530 nm dalga boyunda ELİSA okuyucu ile ölçülerek serum TOS seviyelerinin hesaplanmasında kullanıldı. Standart olarak 20 µmol/L'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solusyonu kullanıldı. Bulgular µmol Trolox equiv /L olarak elde edildi.

### **Serum Total Antioksidan Seviyesinin (TAS) Ölçümü**

Serum TAS düzeylerinin ölçümü Erel'in metoduna bağlı kalınarak yapıldı [213]. Total Antioksidan seviyeleri, kit (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) prosedürüne bağlı kalınarak çalışıldı. Kit talimatlarına mikropalakalara konan supernatant üzerine reaktif 1 eklenerek 660 nm'de birinci okuma ve reaktif 2 ilave edilerek ikinci okuma yapılmıştır. Elde edilen iki absorbans arasındaki farklar belirlenerek serum TAS düzeylerinin hesaplanmasında kullanıldı. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanıldı. Bulgular mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv/L olarak belirlendi.

### **Serum Oksidatif Stres İndeksinin (OSİ) Ölçümü**

Serum OSİ ölçümü, Erel'in metoduna [213] bağlı kalınarak hesaplandı. OSİ, TOS'un TAS'a bölünmesine eşittir:  $OSI \text{ (Arbitrary Unit)} = \frac{TOS \text{ (}\mu\text{mol Trolox eqv/l)}}{TAS \text{ (mmol H}_2\text{O}_2\text{eqv/l)}} \times 10$ . Bulgular Arbitrary Unit (AU) olarak belirlendi.

## **Serum IL-6 Seviyesinin Ölçümü**

Serum IL-6 seviyeleri Bioassay Technology Laboratory (BT Lab, ÇİN) firmasından satın alınan Rat ELİSA kitinde (Cat. No E0135Ra), kit protokolüne sadık kalınarak çalışıldı ve sonuçlar pg/ml olarak verildi.

### **5.2.6. Histopatolojik Analiz**

Işık mikroskopik takip ve incelemeler Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Histokimya Laboratuvarı'nda yapıldı. Deney sonunda sakrifiye edilen sıçanlardan alınan dokular fikse olması için %10'luk nötral tamponlanmış formaline (NTF) (104003, Formaldehyde solution %37, Merck, ABD) konuldu. Fiksasyon işleminin bitmesini takiben parçalar 24 saat boyunca akan çeşme suyunda yıkandılar. Dokular kesilebilirliğin sağlanması için %10' lük ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) solüsyonunda (pH 7.4) oda ısısında (ortalama 28°C) ~4 hafta süre ile dekalsifiye edildi. Bu süre içerisinde her 2-3 günde bir EDTA solusyonu değiştirildi. Bu işlemin ardından doku örnekleri %70, % 80, %95 ve %96' lık artan alkol serilerinden geçirildi (Etanol, 1.00971.2500, Merck, ABD). Şeffaflama 2x30 dakika ksilol (108661, Merck, USA) ile gerçekleştirildi. Ardından 1 saat parafin (Surgipath EM-400, Leica, GER) içerisinde bekletildi. Doku takibi için Leica TP 1020 (Leica, GER) doku takibi cihazı kullanıldı. Gömme işlemi sonrası bloklar soğumaya bırakıldı. Parafin bloklardan Leica FINESSE ME+ (Leica, GER) mikrotomu ile 6 µm'lik kesitler ışık mikroskopik inceleme için jelatin kaplı lamlara alındı. Kesitlere genel histolojik yapıyı gözlemlemek amacıyla Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama yöntemi kullanıldı. Kesitler deparafinizasyon aşaması için sırasıyla 60°C etüvde ve 60°C sıcaklıktaki ksilol içerisinde 1 saat bekletildi. Ardından H-E boyama protokolü uygulandı.

### **Histopatolojik skora:**

Preparatlar histopatolojik değişiklikler için incelenerek, kıkırdak destrüksiyonu/kemik erozyonu ve çevre dokuda enflamasyon açısından

semikantitatif olarak 0-3 arasında skorlandı (Ahmed ve ark. 2010). Kıkırdak destrüksiyonu/kemik erozyonu için; (0) değişiklik yok, (1) hafif derecede değişiklik, (3) orta derecede değişiklik ve (3) yaygın değişiklik olarak skorlandı. Çevre dokuda enflamasyon için; (0) hücresel infiltrasyon yok, (1) az sayıda enflamatuvar hücre infiltrasyonu, (2) orta derecede enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve (3) yüksek derecede enflamatuvar hücre infiltrasyonu olarak skorlandı. Preparatlar Nikon Eclipse 80i ışık mikroskobu (Tokyo, JAPAN) ve Nikon görüntü analiz sistemi (Tokyo, JAPAN) ile incelendi ve fotoğrafları çekildi, Hematoksilen & Eozin boyama protokolü Çizelge (5.1) deki gibi uygulandı.

Çizelge 5.1. Hematoksilen & Eozin boyama protokolü.

% 100 Alkol	2 dakika
% 96 Alkol	2 dakika
% 80 Alkol	2 dakika
% 80 Alkol	2 dakika
Distile suda yıkama	3 dakika
Hematoksilen (1.09253.2500, Papanicolaous Harris Hematoksilen, Merck, ABD)	3 dakika
Akarsu	5 dakika
Akarsuda yıkama	Daldır çıkar
Amonyaklı su	Doku mor renk alana kadar
Akarsu	Daldır çıkar
Distile suda yıkama	5 dakika
Eozin (05-10003/L, Bio-optica, ITA)	1.5 dakika
% 80 Alkol yıkama	Daldır çıkar
% 96 Alkol yıkama	Daldır çıkar
% 96 Alkol yıkama	Daldır çıkar
Ksilol	30 dakika
Boyalı preparatlar entellan damlatılarak kapatıldı	



### **5.2.7. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analizler SPSS (SPSS for Windows version 14.0) istatistiksel yazılım programı ile yapıldı. Tüm sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata (SE) olarak ifade edildi. Tüm gruptaki ölçülebilir değişkenlerin Shapiro Wilk normallik testine göre normal dağılım göstermediği saptandı ( $p>0.05$ ). Bu nedenle istatistiksel değerlendirmede parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis varyans analizi tüm değişkenler yönünden grupların genel karşılaştırılmasında kullanılırken, grupların ikili karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.  $p<0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BÖLÜM 6

### DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

#### 6.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR

##### 6.1.1. Oksidatif Stres Belirteçlerinin Düzeyleri

Grupların oksidan-antioksidan düzeylerini ortaya koymak için doku MDA, GSH, SOD, CAT düzeyleri çalışıldı. Oksidatif stres Düzeyleri Çizelge 6.1’de sunulmuştur.

Çizelge 6.1. Ortalama doku oksidan-antioksidan parametrelerin karşılaştırılması.

GRUPLAR	MDA ( $\mu\text{mol/L}$ )	GSH ( $\mu\text{mol/L}$ )	CAT (K/g protein)	SOD (U/g protein)
<b>Grup 1: Kontrol</b>	3.56 $\pm$ 0.20	22.92 $\pm$ 0.39	1.78 $\pm$ 0.22	65.42 $\pm$ 3.14
<b>Grup 2: Sham</b>	4.03 $\pm$ 0.27	22.98 $\pm$ 0.27	1.32 $\pm$ 0.19	63.10 $\pm$ 3.04
<b>Grup 3: PINX</b>	5.67 $\pm$ 0.16 <sup>a,b</sup>	19.91 $\pm$ 0.68 <sup>h,c</sup>	0.87 $\pm$ 0.11 <sup>j</sup>	43.65 $\pm$ 1.63 <sup>a,b</sup>
<b>Grup 4: MSU</b>	6.26 $\pm$ 0.44 <sup>a,b</sup>	14.36 $\pm$ 0.27 <sup>a,b,d</sup>	0.61 $\pm$ 0.09 <sup>h,k</sup>	21.39 $\pm$ 0.89 <sup>a,b,d</sup>
<b>Grup 5: MSU + MLT</b>	3.64 $\pm$ 0.11 <sup>d,e</sup>	21.03 $\pm$ 0.17 <sup>a,b,e</sup>	1.01 $\pm$ 0.14 <sup>i,m</sup>	53.82 $\pm$ 3.30 <sup>n,o,e</sup>
<b>Grup 6: MSU + PINX</b>	8.77 $\pm$ 0.21 <sup>a,b,d,e,f</sup>	12.40 $\pm$ 0.88 <sup>a,b,d,f</sup>	0.91 $\pm$ 0.12 <sup>j</sup>	12.26 $\pm$ 0.95 <sup>a,b,d,e,f</sup>
<b>Grup 7: MSU+PINX+MLT</b>	5.78 $\pm$ 0.38 <sup>a,c,f,g</sup>	18.32 $\pm$ 0.63 <sup>a,b,e,g,i</sup>	0.88 $\pm$ 0.13 <sup>j</sup>	42.73 $\pm$ 1.84 <sup>a,b,e,g,f</sup>

Veriler aritmetik ortalama $\pm$ SE olarak ifade edildi (n=8).

<sup>a</sup> p< 0.001 vs grup 1

<sup>b</sup> p< 0.001 vs grup 2

<sup>c</sup> p< 0.005 vs grup 2

<sup>d</sup> p< 0.001 vs grup 3

<sup>e</sup> p< 0.001 vs grup 4

<sup>f</sup> p< 0.001 vs grup 5

<sup>g</sup> p< 0.001 vs grup 6

<sup>h</sup> p< 0.005 vs grup 1

<sup>i</sup> p< 0.005 vs grup 5

<sup>j</sup> p< 0.01 vs grup 1

<sup>k</sup> p< 0.01 vs grup 2

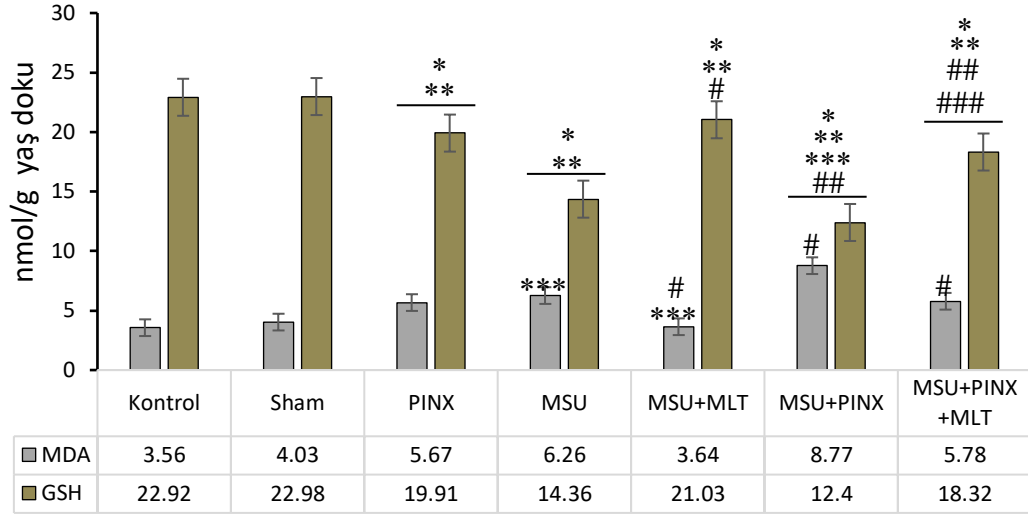
<sup>m</sup> p< 0.05 vs grup 4

<sup>n</sup> p< 0.05 vs grup 1

<sup>o</sup> p< 0.05 vs grup 3

#### 6.1.1.1. Grupların Serum MDA ve GSH Düzeyleri

Deney hayvanlarına pinealektomi uygulaması (PINX grubu) MDA seviyelerinde kontrol ve SHAM gruplarına göre ciddi artışlara neden olurken ( $p < 0.001$ ), GSH seviyelerinde ise anlamlı düşümlere ( $p < 0.001$ ) neden olmuştur (Şekil 6.1). Ayrıca sıçanlara MSÜ enjeksiyonu (MSÜ grup) kontrol gruplarına göre MDA seviyelerinde artışa neden olurken ( $p < 0.001$ ), GSH seviyelerinde de ciddi düşümlere neden olmuştur ( $p < 0.001$ ). Diğer yandan MSÜ enjeksiyonu öncesi hayvanlara melatonin takviyesi yapılması (MSÜ+MLT grup), melatonin takviyesi yapılmayan gruba göre (MSÜ grup) MDA seviyesinde ciddi düşümler yaparken ( $p < 0.001$ ), GSH seviyelerinde de anlamlı artışlar ( $p < 0.001$ ) gözlenmiştir. İlave olarak MSÜ enjeksiyonu öncesi pinealektomi yapılan hayvanları (MSÜ+PINX) MSÜ enjeksiyonu öncesi melatonin takviyesi yaptığımız hayvanlarla karşılaştırdığımızda (MSÜ+MLT) melatonin yoksunluğunda MSÜ+PINX grubunda MDA seviyesi artarken ( $p < 0.001$ ) GSH seviyesinin düştüğü ( $p < 0.001$ ) görülmüştür. Diğer yandan pinealektomi işleminden sonra MSÜ enjeksiyonu yapmadan önce melatonin takviyesi yapıldığında (MSÜ+PINX+MLT grubu) melatonin takviyesi yapılmayan gruba göre (MSÜ+PINX) MDA seviyeleri düşerken ( $p < 0.001$ ), GSH seviyelerinde ise ciddi iyileşmeler ( $p < 0.001$ ) tespit ettik, değerler Şekil (6.1)'te sunulmuştur.

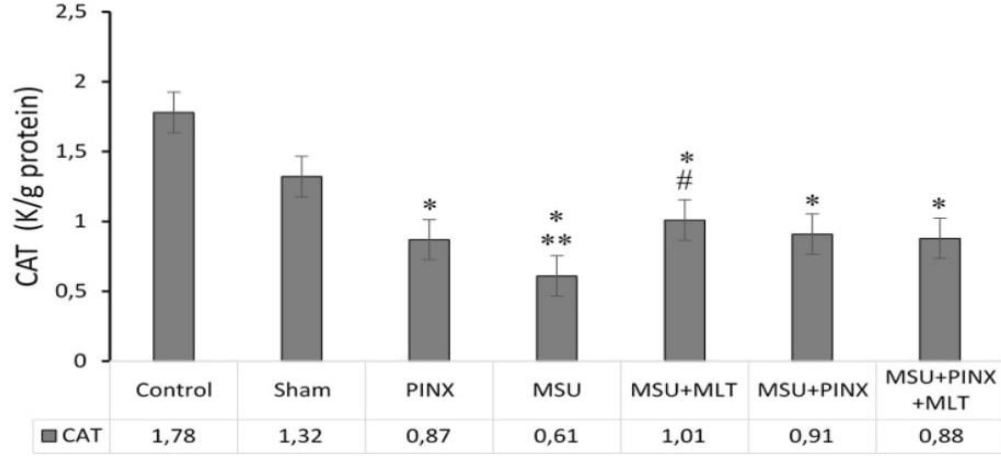


Şekil 6.1. Ortalama Serum MDA ve GSH aktivitesi. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SE olarak belirtilmiştir (n=8).  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi. \*  $p < 0.05$  vs grup 1 \*\*  $p < 0.05$  vs grup 2 \*\*\*  $p < 0.05$  vs grup 3 #  $p < 0.05$  vs grup 4 ###  $p < 0.05$  vs grup 5 ###  $p < 0.05$  vs grup 6.

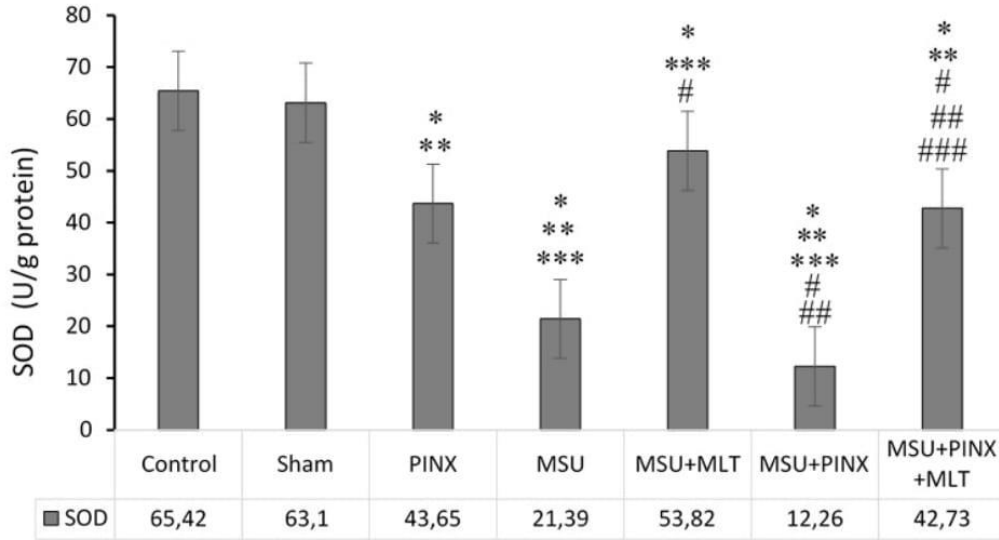
### 6.1.1.2. Grupların Serum SOD ve CAT Aktivite Düzeyleri

Deney hayvanlarına pinealektomi uygulaması (PINX grubu) antioksidan enzimlerin CAT ( $p < 0.01$ ) ve SOD ( $p < 0.001$ ) kontrol gruplarına göre ciddi düşüşe neden olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 6.2 , 6.3). Ayrıca sıçanlara MSÜ enjeksiyonu (MSÜ grup) kontrol gruplarına göre CAT ( $p < 0.005$ ) ve SOD ( $p < 0.001$ ) aktivitelerinde düşüşe neden olmuştur. Diğer yandan MSÜ enjeksiyonu öncesi hayvanlara melatonin takviyesi yapılması (MSÜ+MLT grup), melatonin takviyesi yapılmayan gruba göre (MSÜ grup) CAT aktivitesinde anlamlı olmayan bir artış olurken, SOD aktivitesinde ise anlamlı bir artışa ( $p < 0.001$ ) neden olmuştur. İlave olarak MSÜ enjeksiyonu öncesi pinealektomi yapılan hayvanları (MSÜ+PINX) MSÜ enjeksiyonu öncesi melatonin takviyesi yaptığımız hayvanlarla karşılaştırdığımızda (MSÜ+MLT) melatonin yoksunluğunda MSÜ+PINX grubunda CAT aktivitesi anlamlı olmayan bir düşüşe uğrarken, SOD aktivitesinde ise ciddi düşüşler olduğu ( $p < 0.001$ ) görülmüştür. Diğer yandan pinealektomi işleminden sonra MSÜ enjeksiyonu yapmadan önce melatonin takviyesi yapıldığında (MSÜ+PINX+MLT grubu) melatonin takviyesi yapılmayan gruba göre (MSÜ+PINX) CAT aktivitesinde

anlamli bir düzelme görülmezken, SOD aktivitesinde ciddi iyileşmeler ( $p < 0.001$ ) grlmtir, değerler Şekil 6.2, Şekil 6.3'te sunulmuştur.



Şekil 6.2. Ortalama Serum CAT aktivitesi (K/g protein). Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SE olarak belirtilmiştir (n=8).  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi. \*  $p < 0.05$  vs grup 1 \*\*  $p < 0.05$  vs grup 2 \*\*\*  $p < 0.05$  vs grup 3 #  $p < 0.05$  vs grup 4 ###  $p < 0.05$  vs grup 5 ####  $p < 0.05$  vs grup 6.



Şekil 6.3. Ortalama SOD aktivitesi. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SE olarak belirtilmiştir (n=8).  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi. \*  $p < 0.05$  vs grup 1 \*\*  $p < 0.05$  vs grup 2 \*\*\*  $p < 0.05$  vs grup 3 #  $p < 0.05$  vs grup 4 ##  $p < 0.05$  vs grup 5 ###  $p < 0.05$  vs grup 6.

### 6.1.1.3. Grupların Serum TAS, TOS ve OSİ Aktivite Düzeyleri

Deney hayvanlarına pinealektomi uygulaması (PINX grubu) kontrol gruplarına göre serum TAS düzeylerinde ciddi düşüslere neden olurken ( $p < 0.001$ ), TOS düzeylerinde ve OSİ indeksinde ciddi artışlara ( $p < 0.001$ ) neden olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca sıçanlara MSÜ enjeksiyonu (MSÜ grup) kontrol gruplarına göre serum TAS seviyelerinde ciddi düşüslere neden olurken ( $p < 0.001$ ), TOS seviyelerinde ve OSİ indeksinde ciddi artışlara ( $p < 0.001$ ) neden olmuştur. Diğer yandan MSÜ enjeksiyonu öncesi hayvanlara melatonin takviyesi yapılması (MSÜ+MLT grup), melatonin takviyesi yapılmayan gruba göre (MSÜ grup) TAS düzeylerinde ciddi iyileşmeye neden olurken ( $p < 0.001$ ), TOS seviyelerinde ise anlamlı olmayan bir düşüş oluşturmuş ve OSİ indeksinde de anlamlı bir düşüş oluşmasına ( $p < 0.001$ ) neden olmuştur. İlave olarak MSÜ enjeksiyonu öncesi pinealektomi yapılan hayvanları (MSÜ+PINX) MSÜ enjeksiyonu öncesi melatonin takviyesi yaptığımız hayvanlarla karşılaştırdığımızda (MSÜ+MLT) melatonin yoksunluğunda MSÜ+PINX grubunda TAS seviyelerinde anlamlı bir düşüşe uğrarken ( $p < 0.005$ ), TOS seviyesi OSİ indeksinde ciddi artışlar olduğu ( $p < 0.001$ ) görülmüştür. Diğer yandan pinealektomi işleminden sonra MSÜ enjeksiyonu yapmadan önce melatonin takviyesi yapıldığında (MSÜ+PINX+MLT grubu) melatonin takviyesi yapılmayan gruba göre (MSÜ+PINX) TAS seviyelerinde anlamlı artışlar ( $p < 0.05$ ) gözlemlenirken TOS seviyelerinde ve OSİ indeksinde ciddi iyileşmeler ( $p < 0.001$ ) olduğu görülmüştür, Ortalama serum TAS, TOS ve OSİ değerleri Şekil 6.4, Şekil 6.5, Şekil 6.6 ve Çizelge 6.2’de sunulmuştur.

Çizelge 6.2. Ortalama serum TAS, TOS düzeyleri ve OSİ değeri.

GRUPLAR	TAS (nmol Trolox eqv/L)	TOS ( $\mu$ mol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> eqv/L)	OSİ
<b>Grup 1: Kontrol</b>	1.87±0.07	0.53±0.05	2.87±0.30
<b>Grup 2: Sham</b>	1.66±0.10	0.51±0.04	3.06±0.12
<b>Grup 3: PINX</b>	1.06±0.09 <sup>a,b</sup>	0.94±0.07 <sup>j,c</sup>	9.33±1.20 <sup>a,b</sup>
<b>Grup 4: MSU</b>	0.55±0.08 <sup>a,b,d</sup>	2.03±0.22 <sup>a,b,d</sup>	43.27±8.51 <sup>a,b,d</sup>
<b>Grup 5: MSU + MLT</b>	1.09±0.12 <sup>a,c,f</sup>	1.53±0.12 <sup>a,b,d</sup>	14.91±1.41 <sup>a,b,n,o</sup>
<b>Grup 6: MSU + PINX</b>	0.68±0.07 <sup>a,b,e,h</sup>	3.27±0.28 <sup>a,b,d,g,k</sup>	52.09±6.68 <sup>a,b,d,k</sup>
<b>Grup 7: MSU + PINX + MLT</b>	1.02±0.09 <sup>a,b,g,i</sup>	1.75±0.18 <sup>a,b,d,m</sup>	18.40±2.99 <sup>a,b,e,g,m</sup>

Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=8).

<sup>a</sup> p< 0.001 vs grup 1

<sup>b</sup> p< 0.001 vs grup 2

<sup>c</sup> p< 0.005 vs grup 2

<sup>d</sup>

p< 0.001 vs grup 3

<sup>e</sup> p< 0.005 vs grup 3

<sup>f</sup> p< 0.01 vs grup 4

<sup>g</sup>

p< 0.005 vs grup 4

<sup>h</sup> p< 0.05 vs grup 5

<sup>l</sup> p< 0.05 vs grup 6

<sup>j</sup> p< 0.005 vs grup 1

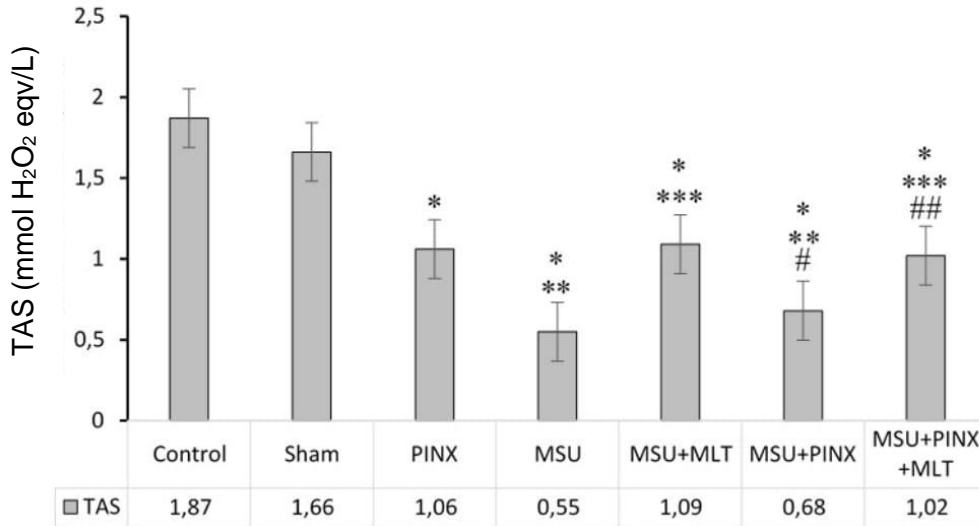
<sup>k</sup> p< 0.001 vs grup 5

<sup>m</sup>

p< 0.001 vs grup 6

<sup>n</sup> p< 0.001 vs grup 4

<sup>o</sup> p< 0.05 vs grup 3



Şekil 6.4. Ortalama serum TAS değerleri (mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv/L). Veriler aritmetik ortalama ± SE olarak belirtilmiştir (n=8). p<0.05 anlamlı kabul edildi.

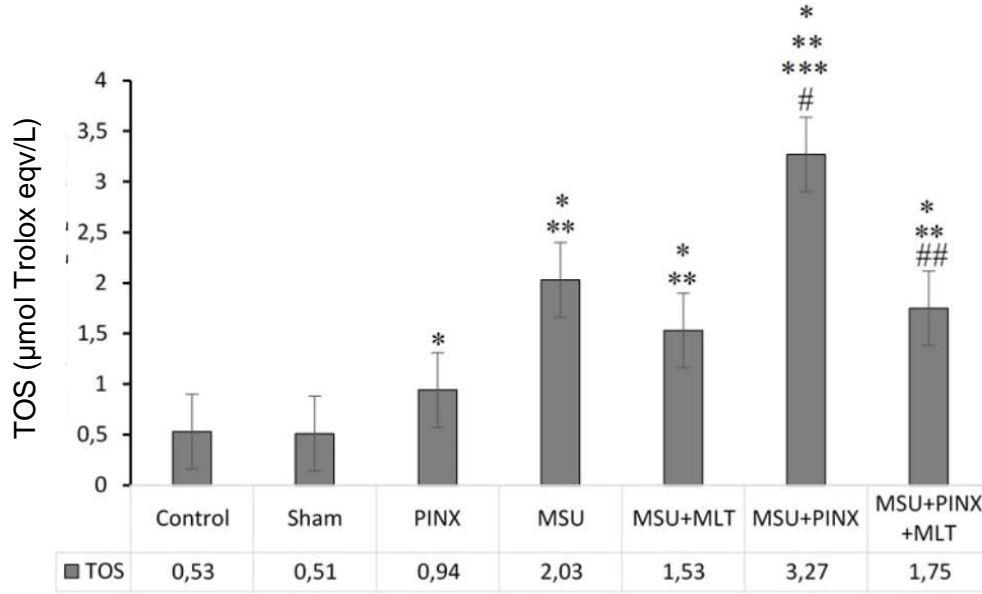
\* p<0.05 vs grup 1 ve 2

\*\* p<0.05 vs grup 3

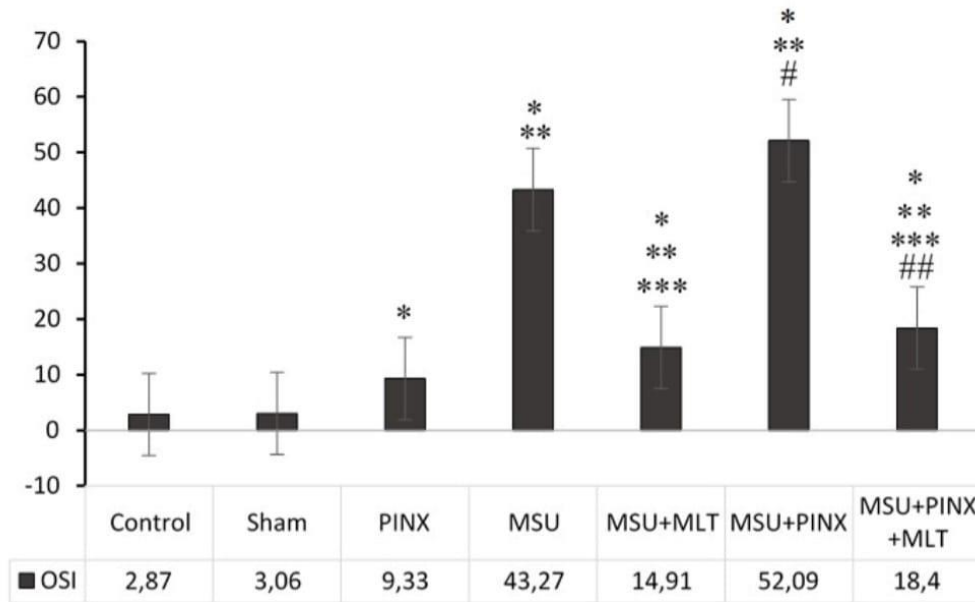
\*\*\* p<0.05 vs grup 4

# p<0.05 vs grup 5

## p<0.05 vs grup 6.



Şekil 6.5. Ortalama serum TOS değerleri ( $\mu\text{mol Trolox equiv /L}$ ). Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SE olarak belirtilmiştir (n=8).  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi. \*  $p < 0.05$  vs grup 1 ve 2 \*\*  $p < 0.05$  vs grup 3 \*\*\*  $p < 0.05$  vs grup 4 #  $p < 0.05$  vs grup 5 ##  $p < 0.05$  vs grup 6.



Şekil 6.6. Ortalama serum OSI değerleri. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SE olarak belirtilmiştir (n=8).  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi. \*  $p < 0.05$  vs grup 1 ve 2 \*\*  $p < 0.05$  vs grup 3 \*\*\*  $p < 0.05$  vs grup 4 #  $p < 0.05$  vs grup 5 ##  $p < 0.05$  vs grup 6.



#### 6.1.1.4. Grupların Serum IL-6 Düzeyleri

Deney hayvanlarına pinealektomi uygulaması (PINX grubu) kontrol gruplarına göre serum IL-6 düzeylerinde ciddi artışlara neden olurken ( $p < 0.001$ ), MSÜ enjeksiyonu (MSÜ grup) IL-6 seviyelerinde hem kontrol gruplarına ( $p < 0.001$ ) hem de PINX grubuna göre ( $p < 0.001$ ) artışa neden olmuştur, Diğer yandan MSÜ enjeksiyonu öncesi hayvanlara melatonin takviyesi yapılması (MSÜ+MLT grup), melatonin takviyesi yapılmayan gruba göre (MSÜ grup) IL-6 düzeylerinde ciddi düşüşe neden olmuştur ( $p < 0.001$ ). İlave olarak MSÜ enjeksiyonu öncesi pinealektomi yapılan hayvanları (MSÜ+PINX) MSÜ enjeksiyonu öncesi melatonin takviyesi yaptığımız hayvanlarla karşılaştırdığımızda (MSÜ+MLT) melatonin yoksunluğunda MSÜ+PINX grubunda IL-6 seviyelerinde anlamlı bir artış olduğu ( $p < 0.001$ ) görülmüştür. Diğer yandan pinealektomi işleminden sonra MSÜ enjeksiyonu yapmadan önce melatonin takviyesi yapıldığında (MSÜ+PINX+MLT grubu) melatonin takviyesi yapılmayan gruba göre (MSÜ+PINX) IL-6 seviyelerinde anlamlı düşüşler ( $p < 0.01$ ) olduğu tespit edildi. Serum IL-6 düzeyleri Çizelge 6.3'te sunulmuştur. Ortalama IL-6 değerleri Şekil 6.7'te sunulmuştur.

Çizelge 6.3. Serum IL-6 değerleri.

GRUPLAR	IL-6 (pg/ml)
<b>Grup 1: Kontrol</b>	11.80±0.84
<b>Grup 2: Sham</b>	12.89±0.99
<b>Grup 3: PINX</b>	21.56±1.31 <sup>a,b</sup>
<b>Grup 4: MSU</b>	39.07±1.59 <sup>a,b,c</sup>
<b>Grup 5: MSU + MLT</b>	22.46±1.23 <sup>a,b,e</sup>
<b>Grup 6: MSU + PINX</b>	40.35±2.37 <sup>a,b,c,g</sup>
<b>Grup 7: MSU + PINX + MLT</b>	29.18±1.66 <sup>a,b,d,f,g,j</sup>

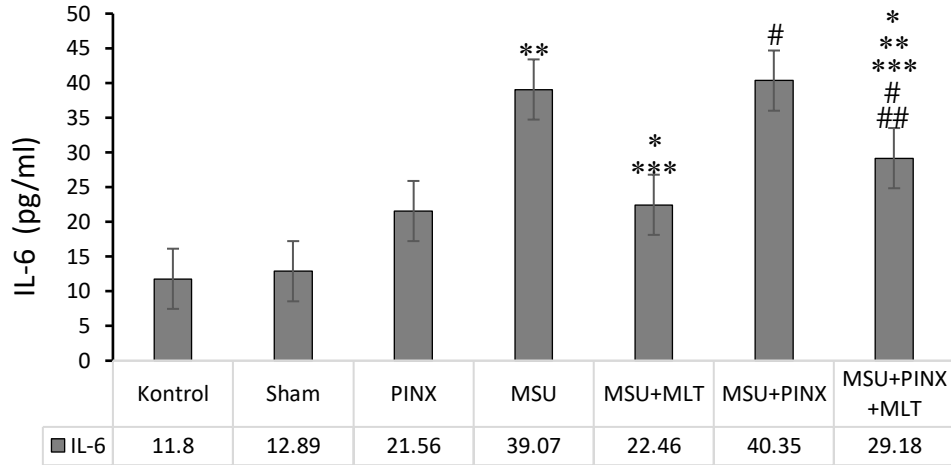
Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=8).

<sup>a</sup>p< 0.001 vs grup 1  
p< 0.01 vs grup 3  
0.001 vs grup 5

<sup>b</sup>p< 0.001 vs grup 2  
<sup>e</sup>p< 0.001 vs grup 4  
<sup>h</sup>p< 0.01 vs grup 5

<sup>c</sup>p< 0.001 vs grup 3  
<sup>f</sup>p< 0.005 vs grup 4  
<sup>j</sup>p< 0.01 vs grup 6

<sup>d</sup>  
<sup>g</sup>p<



Şekil 6.7. Ortalama IL-6 değerleri. Veriler aritmetik ortalama ± SE olarak belirtilmiştir (n=8). p<0.05 anlamlı kabul edildi. \* p<0.05 vs grup 1 ve 2  
\*\* p<0.05 vs grup 3 \*\*\* p<0.05 vs grup 4 # p<0.05 vs grup 5 ## p<0.05 vs grup 6.

### 6.1.2. MLT'nin, Sıçanlarda MSÜ Kristalinin Neden Olduğu Ayak Bileği Çevresi Deri Sıcaklığı Üzerindeki Etkileri

Eklemlerde ve periartiküler alanlarda sıcaklık artışı ve şişlik, gutun en sık görülen semptomları olduğundan, öncelikle melatoninin MSÜ' nun neden olduğu bu semptomları önleyip önlemediği ni araştırdık. Diz eklemının çevresi, eklem içi MSÜ enjeksiyonundan sonra 0, 2, 8, 16 ve 24. saatlerde ölçülmüştür. MSÜ enjeksiyonu yapılan gruplardaki sıçanlar diğer gruplardaki sıçanlar ile karşılaştırıldığında, sıçanların ayak bileği çevresi ve sıcaklığı üzerinde önemli bir artış gözlemlendi (Şekil 6.8).



Şekil 6.8. Sıçanlarda MSÜ kristalinin neden olduğu eklem şişliği üzerine MLT'nin etkileri.

MSÜ kristalleri, normal kontrol sıçanlarına kıyasla sıçanların ayak bileği çapında önemli bir artışa yol açtı. Not olarak, MLT (10 mg/kg/gün) ile tedavi, MSÜ kristalinin neden olduğu ayak bileği şişmesini önemli ölçüde bastırdı. (Her gruptan sol bacağın temsili görüntüleri gösterilir. Oklar ölçümün konumunu gösterir).

Özellikle, öncesinde MLT verilmeyen MSÜ gruplardaki sıçanların 2. saatten sonra ayak bileği çevresi ve bu bölgedeki deri sıcaklığında artış tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). (Çizelge 6.4 ve Çizelge 6.5). Ancak MSÜ enjeksiyonu öncesinde MLT tedavisi alan sıçanların (MSÜ+MLT ve MSÜ+PINX+MLT) ayak bileği çevresi ve eklem deri sıcaklığında MLT sayesinde artışlar saptanmamıştır (Çizelge 6.4 ve Çizelge 6.5). Melatonin ile tedavi, MSÜ kristalinin neden olduğu enflamasyonun gelişimini önlemiştir.

Çizelge 6.4. Deney gruplarının MSÜ enjeksiyonunu takiben 24 saatlik ayak bileği çevresi değişiklikleri.

GRUPLAR	Eklem Çevresi 0. Saat	Eklem Çevresi 2. Saat	Eklem Çevresi 8. Saat	Eklem Çevresi 16. Saat	Eklem Çevresi 24. Saat
<b>Grup 1: Kontrol</b>	13.61±0.2 <sub>1</sub>	13.61±0.2 <sub>1</sub>	13.61±0.21	13.61±0.21	13.61±0.21
<b>Grup 2: Sham</b>	13.92±0.2 <sub>1</sub>	13.92±0.2 <sub>1</sub>	13.92±0.21	13.92±0.21	13.92±0.21
<b>Grup 3: PINX</b>	13.55±0.0 <sub>4</sub>	13.55±0.0 <sub>4</sub>	13.55±0.04 <sup>k</sup>	13.55±0.04 <sup>k</sup>	13.55±0.04 <sup>k</sup>
<b>Grup 4: MSU</b>	13.41±0.1 <sub>3</sub>	19.19±0.2 <sub>5 a,d,g</sub>	20.18±0.27 <sup>g</sup>	21.12±0.32 <sup>g</sup>	21.75±0.41 <sup>g</sup>
<b>Grup 5: MSU + MLT</b>	13.69±0.0 <sub>8</sub>	14.48±0.1 <sub>0 e,g,h</sub>	14.72±0.12 <sup>g,h</sup>	14.97±0.12 <sup>g,h</sup>	15.22±0.12 <sup>g,h</sup>
<b>Grup 6: MSU + PINX</b>	13.57±0.0 <sub>5</sub>	19.30±0.1 <sub>8 a,b,d,g,i</sub>	20.49±0.32 <sup>g,i</sup>	21.93±0.35 <sup>g,i</sup>	23.67±0.51 <sup>g,i,m</sup>
<b>Grup 7: MSU+PINX+ MLT</b>	13.57±0.1 <sub>0</sub>	15.11±0.3 <sub>0 c,f,g,h,j</sub>	16.08±0.21 <sup>g,h,i</sup> <sub>j</sub>	16.41±0.23 <sup>g,h,i</sup> <sub>j</sub>	16.73±0.32 <sup>g,h,j</sup> <sub>n</sub>

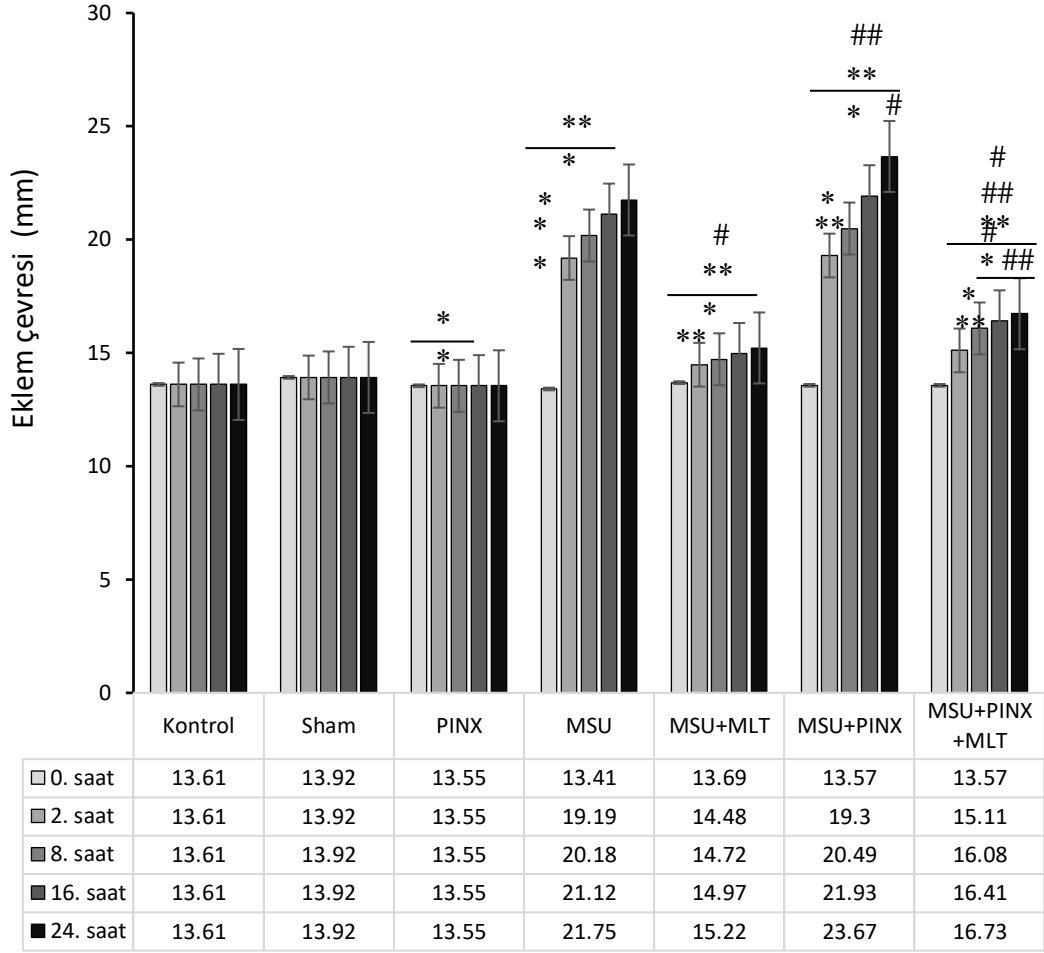
Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=8). 0. Saat p>0.05, gruplar arası fark yoktur.

<sup>a</sup> p< 0.001 vs grup 1  
0.001 vs grup 2  
0.001 vs grup 3

<sup>b</sup> p< 0.01 vs grup 1  
<sup>e</sup> p< 0.01 vs grup 2  
<sup>h</sup> p< 0.001 vs grup 4

<sup>c</sup> p< 0.005 vs grup 1  
<sup>f</sup> p< 0.005 vs grup 2

<sup>d</sup> p<  
<sup>g</sup> p<



Şekil 6.9. Ortalama eklem çevresi. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SE olarak belirtilmiştir (n=8).  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi. \*  $p < 0.05$  vs grup 1 \*\*  $p < 0.05$  vs grup 2 \*\*\*  $p < 0.05$  vs grup 3 #  $p < 0.05$  vs grup 4 ##  $p < 0.05$  vs grup 5 ###  $p < 0.05$  vs grup 6 .

Çizelge 6.5. Deney gruplarının MSÜ enjeksiyonunu takiben 24 saatlik ayak bileği sıcaklık değişiklikleri.

GRUPLAR	Eklem Sıcaklığı 0. Saat	Eklem Sıcaklığı 2. Saat	Eklem Sıcaklığı 8. Saat	Eklem Sıcaklığı 16. Saat	Eklem Sıcaklığı 24. Saat
<b>Grup 1: Kontrol</b>	33.68±0.27	33.68±0.27	33.68±0.27	33.68±0.27	33.68±0.27
<b>Grup 2: Sham</b>	33.43±0.21	33.43±0.21	33.43±0.21	33.43±0.21	33.43±0.21
<b>Grup 3: PINX</b>	33.07±0.21	33.07±0.21	33.07±0.21	33.07±0.21	33.07±0.21
<b>Grup 4: MSU</b>	33.67±0.28	36.07±0.17 <sup>a,b,c</sup>	36.17±0.21 <sup>a,b,c</sup>	36.23±0.13 <sup>a,b,c</sup>	36.36±0.10 <sup>a,b,c</sup>
<b>Grup 5: MSU + MLT</b>	33.37±0.20	33.45±0.24 <sup>d</sup>	33.75±0.18 <sup>d</sup>	33.85±0.22 <sup>d</sup>	34.05±0.15 <sup>l,c,d</sup>
<b>Grup 6: MSU + PINX</b>	33.00±0.25	35.67±0.18 <sup>e</sup>	36.10±0.20 <sup>a,b,c,g</sup>	36.33±0.12 <sup>a,b,c,d</sup>	36.31±0.19 <sup>a,b,c,e</sup>
<b>Grup 7: MSU+PINX+MLT</b>	33.18±0.36	34.33±0.12 <sup>d,f,g</sup>	34.66±0.10 <sup>h,i,c,d,g,f</sup>	34.70±0.12 <sup>h,c,d,f,i,g</sup>	34.87±0.12 <sup>b,k,c,d,f,g</sup>

Veriler aritmetik ortalama±SE olarak ifade edildi (n=8).

0. Saat p>0.05, gruplar arası fark yoktur.

<sup>a</sup> p< 0.001 vs grup 1

<sup>b</sup> p< 0.001 vs grup 2

<sup>c</sup> p< 0.001 vs grup 3

<sup>d</sup>

p< 0.001 vs grup 4

<sup>e</sup> p< 0.001 vs grup 5

<sup>f</sup> p< 0.001 vs grup 6

<sup>g</sup> p< 0.005 vs grup 5

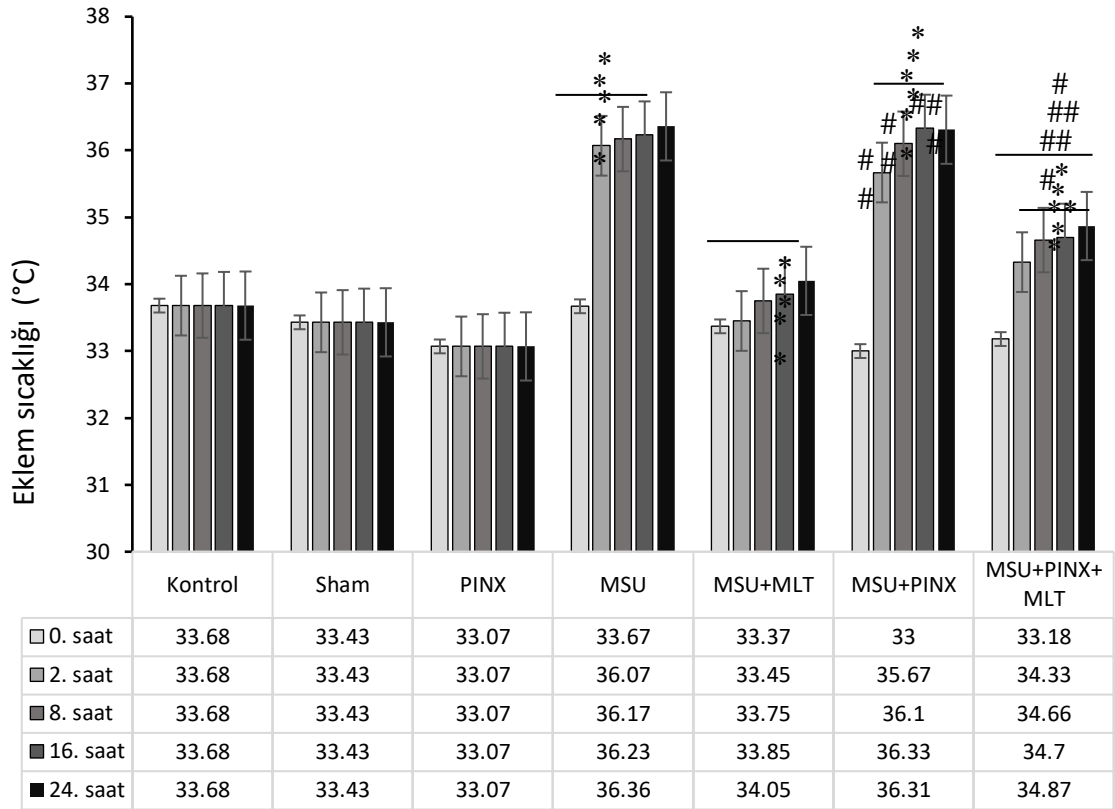
<sup>h</sup> p< 0.05 vs grup 1

<sup>i</sup>

p< 0.005 vs grup 2

<sup>k</sup> p< 0.005 vs grup 1

<sup>l</sup> p< 0.05 vs grup 2



Şekil 6.10. Ortalama eklem sıcaklığı. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SE olarak belirtilmiştir (n=8).  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi. \*  $p < 0.05$  vs grup 1 \*\*  $p < 0.05$  vs grup 2 \*\*\*  $p < 0.05$  vs grup 3 #  $p < 0.05$  vs grup 4 ##  $p < 0.05$  vs grup 5 ###  $p < 0.05$  vs grup 6 .

Çizelge 6.6. Deney gruplarının MSÜ enjeksiyonunu takiben 24 saatlik eklem şişme oranı değişiklikleri.

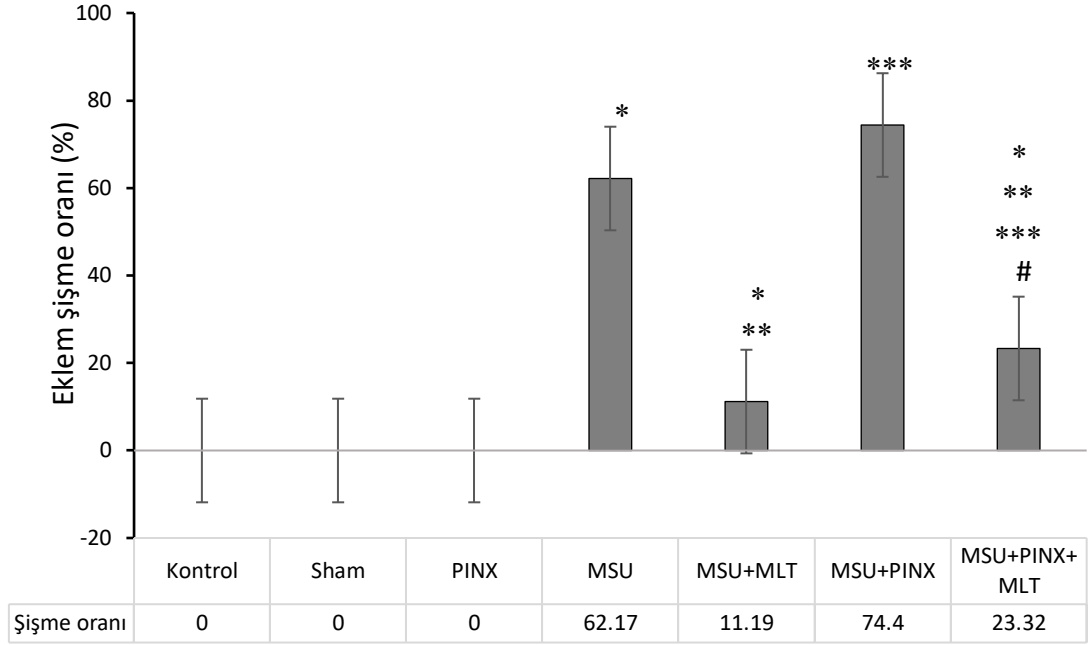
GRUPLAR	Eklem Şişme Oranı
Grup 1: Kontrol	0.00 $\pm$ 0.00
Grup 2: Sham	0.00 $\pm$ 0.00
Grup 3: PINX	0.00 $\pm$ 0.00
Grup 4: MSU	62.17 $\pm$ 3.27 <sup>a,b,c</sup>
Grup 5: MSU + MLT	11.19 $\pm$ 1.03 <sup>d</sup>
Grup 6: MSU + PINX	74.40 $\pm$ 4.18 <sup>e,g</sup>
Grup 7: MSU+PINX+MLT	23.32 $\pm$ 2.82 <sup>d,f,h</sup>

Veriler aritmetik ortalama $\pm$ SE olarak ifade edildi (n=8).

<sup>a</sup>  $p < 0.001$  vs grup 1      <sup>b</sup>  $p < 0.001$  vs grup 2      <sup>c</sup>  $p < 0.001$  vs grup 3      <sup>d</sup>

$p < 0.001$  vs grup 4      <sup>e</sup>  $p < 0.001$  vs grup 5

<sup>f</sup>  $p < 0.001$  vs grup 6      <sup>g</sup>  $p < 0.05$  vs grup 4      <sup>h</sup>  $p < 0.01$  vs grup 5



Şekil 6.11. Ortalama eklem şişme oranı. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  SE olarak belirtilmiştir (n=8).  $p<0.05$  anlamlı kabul edildi. \*  $p<0.05$  vs grup 1, 2, 3 \*\*  $p<0.05$  vs grup 4 \*\*\*  $p<0.05$  vs grup 5 #  $p<0.05$  vs grup 6.

## 6.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Kontrol ve Sham gruplarına ait kesitler normal histolojik görünümdeydi (Şekil 6.13A-D). PINX grubunda hafif derecede enflamasyon görüldü (Şekil 6.13E, F). MSÜ grubunda histopatolojik bulgular belirgindi. Kıkırdak dokuda destrüksiyon, yer yer kemik erozyonu, çevre dokuda yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve hemoraji, sinoviyal membranda kalınlaşma tespit edildi (Şekil 6.14 A, B, C). Kontrol, Sham ve PINX grupları ile MSÜ grubu karşılaştırıldığında MSÜ grubuna ait kesitlerde histopatolojik bulguların artışıyla ortalama hasar skorunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulundu ( $p<0.05$ ). MSÜ+MLT grubunda histopatolojik değişikliklerin belirgin olarak azaldığı tespit edildi (Şekil 6.15 A, B, C). MSÜ+PINX grubu hasarın en şiddetli olduğu gruptu (Şekil 6.14 D, E, F). MSÜ+PINX+MLT grubu ve MSÜ grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ) (Şekil 6.15 D, E, F). Her bir grup için ortalama histopatolojik hasar skoru Çizelge 6.7' de verildi (Şekil 6.12).

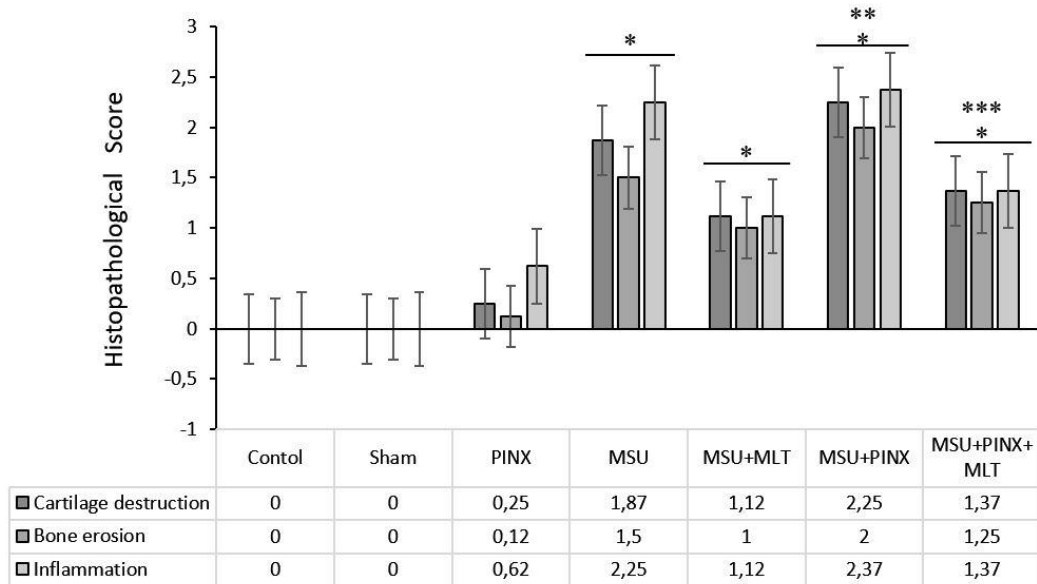


Çizelge 6.7. Histopatolojik hasar skoru.

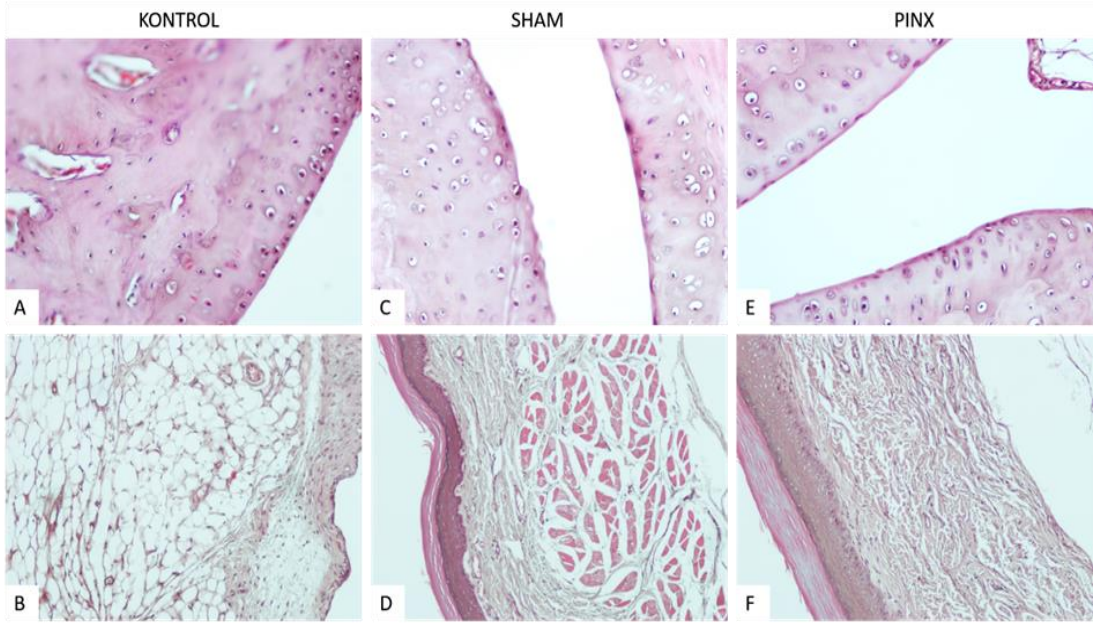
Gruplar	Kıkırdak Destruksiyonu	Kemik Erozyonu	İnflamasyon
Grup 1: Kontrol	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Grup 2: Sham	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Grup 3: PINX	0.25±0.16	0.12±0.12	0.62±0.18 <sup>m,k</sup>
Grup 4: MSU	1.87±0.22 <sup>a,c,f</sup>	1.50±0.18 <sup>a,c,d</sup>	2.25±0.25 <sup>a,c,d</sup>
Grup 5: MSU + MLT	1.12±0.22 <sup>b,e,g</sup>	1.00±0.26 <sup>a,k,g</sup>	1.12±0.12 <sup>a,c,n</sup>
Grup 6: MSU + PINX	2.25±0.25 <sup>a,c,d,i</sup>	2.00±0.26 <sup>a,c,d,i</sup>	2.37±0.26 <sup>a,c,d,p</sup>
Grup 7: MSU + PINX + MLT	1.37±0.18 <sup>a,c,h,j</sup>	1.25±0.16 <sup>a,c,d</sup>	1.37±0.18 <sup>a,c,g,o,j</sup>

Aritmetik ortalama±SE (n=8).

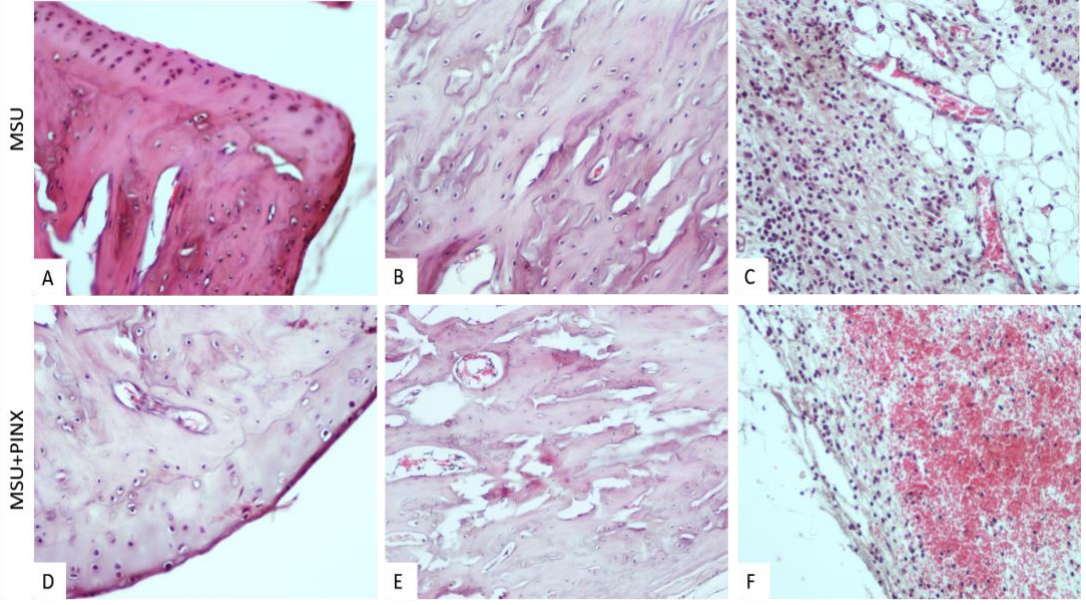
<sup>a</sup> p<0.001 vs grup 1    <sup>b</sup> p<0.005 vs grup 1    <sup>c</sup> p<0.001 vs grup 2    <sup>d</sup> p<0.001 vs grup 3    <sup>e</sup> p<0.005 vs grup 2  
<sup>f</sup> p<0.001 vs grup 3    <sup>g</sup> p<0.05 vs grup 3    <sup>h</sup> p<0.005 vs grup 3    <sup>i</sup> p<0.05 vs grup 5    <sup>j</sup> p<0.05 vs grup 6  
<sup>k</sup> p<0.05 vs grup 2    <sup>m</sup> p<0.05 vs grup 1    <sup>n</sup> p<0.005 vs grup 4    <sup>o</sup> p<0.05 vs grup 4    <sup>p</sup> p<0.005 vs grup 5



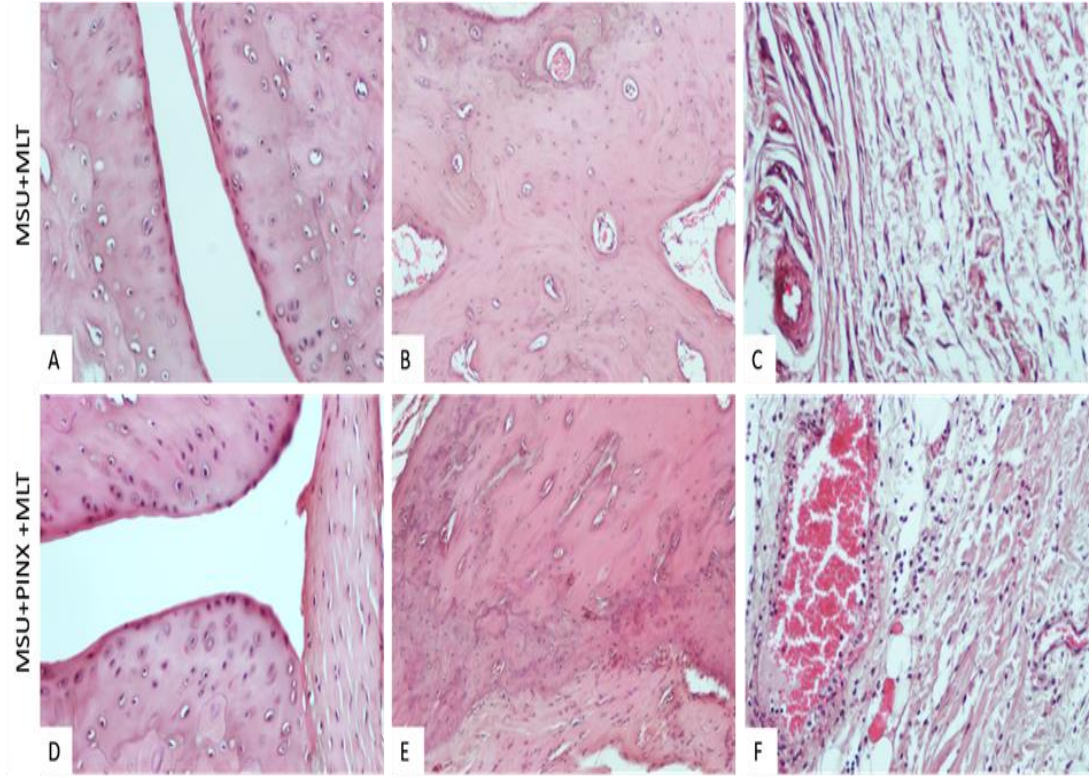
Şekil 6.12. Ortalama histopatolojik hasar skoru. Veriler aritmetik ortalama ± SE olarak belirtilmiştir (n=8). p<0.05 anlamlı kabul edildi. \* p<0.05 vs grup 1, 2, 3    \*\* p<0.05 vs grup 5    \*\*\* p<0.05 vs grup 6.



Şekil 6.13. Kontrol ve Sham grupları normal histolojik görünümdeydi. PINX grubunda hafif derecede enflamasyon görüldü. A. Kontrol grubu, H-E; X20. B. Kontrol grubu, H-E; X10. C. Sham grubu, H-E; X20. D. Sham grubu, H-E; X10. E. PINX grubu, H-E; X20. F. PINX grubu, H-E; X10.



Şekil 6.14. MSÜ ve MSÜ+PINX gruplarında histopatolojik bulgular belirgindi. Kıkırdak dokuda destrüksiyon (A, D) yer yer kemik erozyonu (B, E), çevre dokuda yaygın enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve hemoraji (C, F), sinoviyal membranda kalınlaşma (D) tespit edildi. MSÜ+PINX grubu hasarın en şiddetli olduğu gruptu. A. MSÜ grubu, H-E; X20. B. MSÜ grubu, H-E; X20. C. MSÜ grubu, H-E; X20. D. MSÜ+PINX grubu, H-E; X20. E. MSÜ+PINX grubu, H-E; X20. F. MSÜ+PINX grubu, H-E; X20.



Şekil 6.15. MSÜ+MLT grubunda histopatolojik değişikliklerin belirgin olarak azaldığı tespit edildi. A. MSÜ+MLT grubu, H-E; X20. B. MSÜ+MLT grubu, H-E; X10. C. MSÜ+MLT grubu, H-E; X20. MSÜ+PINX+MLT grubu ve MSÜ grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ). D. MSÜ+PINX+MLT grubu, H-E; X20. E. MSÜ+PINX+MLT grubu, H-E; X10. F. MSÜ+PINX+MLT grubu, H-E; X20.

### 6.3. TARTIŞMA

Metabolik bir hastalık olarak bilinen gut, serum ürat konsantrasyonunun artmasıyla sonuçlanan MSÜ kristal birikiminin neden olduğu enflamasyon ile karakterize edilmektedir [214]. Yapılan birçok çalışmada MSÜ' nun tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interlökin (IL)-1 $\beta$  ve IL-6 dahil olmak üzere çok çeşitli sitokinlerin ekspresyonunu indükleyerek sinovyuma büyük bir nötrofil akışına neden olduğu ortaya konmuştur [215]. Bu nedenle, MSÜ' nun neden olduğu nötrofil alımını inhibe etmek ve enflamatuvar araçların salgılanmasını bloke etmek, gutun kontrolü için faydalı olabilir [216].

Bu çalışmanın amacı, gut oluşumunun melatonin yoksunluğundan (pinealektomi) etkilenip etkilenmediğini, bunun yanında eksojen Melatonin uygulamasının gut oluşumunu önlemede protektif bir etkiye sahip olup olmadığını histolojik ve biyokimyasal olarak ortaya koymaktır.

Sıçanların eklem içerisine MSÜ verilmesi, insanlardaki gutun klinik tablosunu (eklem içi MSÜ birikimi, eklem kızarıklığı, sıcaklık ve ağrı) taklit eden iyi bir deneysel model oluşturmaktadır [217]. MSÜ kristallerinin eklemlerde birikmesi, savunma hücrelerinde oksidatif stresi indükler ve proenflamatuvar mediatörlerin serbest bırakılmasına yol açar [218]. Deneysel ve klinik ortamlarda Melatonin kullanımı oksidatif stresi etkili bir şekilde azaltırken aynı zamanda bazı metabolitleri de toksik türlerin süpürücüleri olduğundan diğer antioksidanlara göre bir avantaja sahiptir [219]. Ancak PINX, MLT' nin etkilerini ortadan kaldırmaktadır. Oksidatif stresin yanı sıra eklemdaki sitokin ve antikor konsantrasyonlarını azalmaktadır, ancak serum oksidatif belirteçlerin seviyesini artırmaktadır [220].

Akut gut enflamasyonu oluşturmak için MSÜ uygulanan C57B/6L fareler üzerinde yapılan bir çalışmada model grubundaki farelerin pençelerinin kalınlığının, kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde arttığı ( $P<0.01$ ) gösterilmiştir [142]. MSÜ kristali ile indüklenen gut artriti üzerine Zisheng Shenqi decoction (ZSD) 'nin etkinliğinin araştırıldığı başka bir çalışmada yine MSÜ enjeksiyonunu takiben 24 saatlik süreçte ayak bileğinin şişmesi en önemli semptom olarak belirlenmiştir [221]. Çalışmamızda eklem içi MSÜ (20mg/ml) enjeksiyonu yapılan model gruplarında (MSÜ grup ve MSÜ+PINX grup), enjeksiyon sonrasındaki 24 saatlik süreçte gözlemlenen en belirgin semptomlar ayak bileği şişmesi ve eklemda sıcaklık artışıydı. Bu semptomların varlığı, oluşturmak istediğimiz modelin başarılı bir şekilde kurulduğunun göstergesiydi. Bunun yanı sıra melatonin tedavisi yapılan MSÜ+MLT grup ve MSÜ+PINX+MLT gruplarında, ayak bileği şişmesinin ve eklemda sıcaklık artışının model gruplarına göre önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Bu durum melatoninin MSÜ'nun neden olduğu enflamasyonu engelleyebileceğini göstermiştir.

Gutun birincil patolojik özelliği, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ve IL-6 ile indüklenen endotel aktivasyonu ile eklem sıvısına nötrofil akışı ve hemen ardından gelen monosit akışıdır [118]. Monositlerin ve nötrofillerin aktivasyonunu takiben, bu hücreler MSÜ kristallerini aktif olarak fagosite eder ve bu da daha sonra enflamatuvar kaspaz yanıtlarını tetikler. Mevcut araştırma çalışmaları, MSÜ kristallerinin, IL-1 $\beta$  üretimini destekleyen NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu yoluyla bir enflamatuvar yanıt tetiklediğini göstermektedir. IL-1 $\beta$ , gut artritinde enflamatuvar yanıtın başlatılması ve yayılması için kritik olan TNF- $\alpha$  dahil olmak üzere diğer proenflamatuvar sitokinleri aktive edebilir [222]. Bu nedenle, enflamatuvar hücre infiltrasyonunun inhibe edilmesi, gut enflamasyonuna karşı etkili bir terapötik strateji olabilir [223]. Çalışmamızda gut enflamasyonundaki temel sitokinlerden IL-6 seviyelerini gözlemledik. MSÜ enjeksiyonu yapılan model gruplarında (MSÜ grup ve MSÜ+PINX grup) serum IL-6 düzeyleri anlamlı düzeyde yüksekti. MSÜ ile indüklenen sıçanlarda akut gut artriti üzerine rebamipidinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 ve TNF- $\alpha$  serum seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir [224]. Polygonum cuspidatum'un etanolik özütünün farelerde NLRP3/ASC/kaspaz-1 eksenini yoluyla akut gut artriti üzerindeki etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise model farelerde ayak bileği eklemının şişme derecesinin önemli ölçüde yükseldiği bunun yanında IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir [225]. Yine yapılan bir çalışmada IL-1 $\beta$  ve IL-6'nın mRNA ekspresyon seviyelerinin Melatonin tarafından inhibe edildiği ortaya konmuştur [142]. Bizim çalışmamızda Melatonin tedavisi yapılan MSÜ+MLT grup ve MSÜ+PINX+MLT gruplarında IL-6 düzeylerinin Melatonin tedavisi yapılmayan model gruplarına göre azaldığı tespit edilmiştir. Melatonin çok düşük toksisite ve yan etkilerinin yanı sıra ideal antioksidanlarda istenen özelliklere sahiptir. Bu durum melatonini oksidatif kaynaklı hasarı önlemek için oldukça çekici bir aday yapmaktadır [226].

Tüm canlı organizmalar hem endojen hem de eksojen kaynaklardan türetilen oksidan ajanlara sürekli olarak maruz kalmaktadır. Oksidatif stres tarafından üretilen serbest radikaller, doku hasarı ve yaşlanmanın gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır [227]. MSÜ kristallerinin doku makrofajları tarafından fagositozu, reaktif oksijen

türlerinin (ROS) oluşumuna ve enflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin üretimine neden olur [228]. Dokudaki oksijen radikallerinin kaynağı, nekrotik bölgeye toplanan nötrofillerin yanı sıra hipoksantin ve ksantinün ürik aside metabolik dönüşümüdür. Daha sonraki reaksiyonlar, lipid peroksidlerin yanı sıra sitotoksik ve oksidasyon ürünleri üretir, bunların arasında MDA bulunmaktadır [229]. Sıçanlarda MSÜ ile oluşturulmuş gut modelinde Selaginella moellendorffii'nin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla gut model grubunda plazmadaki MDA düzeylerinin arttığı ancak SOD seviyelerinin azaldığı gözlemlenmiştir [230]. Gut hastalarında plazma paraoksonaz-1, okside düşük yoğunluklu lipoprotein ve lipid peroksidasyon düzeylerinin araştırıldığı başka bir çalışmada yine gut hastalarında SOD seviyelerinde azalma ve MDA düzeylerinde ise artma sonuçları elde edilmiştir [231]. Travmatik beyin hasarı sonrası PINX ve MLT replasmanının morfolojik ve biyokimyasal iyileşmeye etkisinin incelendiği bir çalışmada PINX' in kontrol grubuna göre MDA, NO, GSH ve ksantin oksidaz (XO) düzeylerinde anlamlı artışa ve GSH düzeylerinde azalmaya neden olduğu bunun yanında eksojen Melatonin uygulamasının MDA, XO ve NO düzeylerini önemli ölçüde azalttığı, GSH düzeylerini artırdığı ve doku lezyon alanını zayıflattığı tespit edilmiştir [232, 233].

Bizim çalışmamızda sıçanlara pinealektomi uygulaması (PINX grup) ve MSÜ enjeksiyonu (MSÜ grup) MDA seviyelerinde kontrol ve sham gruplarına göre ciddi artışlara ( $p < 0.001$ ) neden olmuştur. MDA seviyelerindeki bu yükselme, ROS artışı ve lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkmıştır. Diğer yandan enjeksiyonlardan ve uygulamalardan (MSÜ, PINX) önce melatonin takviyesi yapılan gruplarda melatoninin kuvvetli antioksidan özelliğinden dolayı lipid peroksidasyonunun ve MDA seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. SOD ve CAT gibi antioksidan enzimler, oksidatif hasara karşı temel savunma hattını oluştururlar. SOD ve CAT aktivitelerindeki azalma, hücresel hasara neden olan serbest radikaller, süperoksit ve hidrojen peroksitte ciddi bir artış olduğunu göstermektedir [234]. Gut hastalarında oksidatif stresin incelendiği ve allopurinolün antioksidan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gut hastalarında tedavi öncesi CAT ve SOD seviyelerinin anlamlı ölçüde düşük olduğu ve allopurinol tedavisinin

ardından bu değerlerin artış gösterdiği belirtilmektedir [235]. MSÜ ile indüklenen sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada yine SOD, CAT ve GSH gibi antioksidan enzimlerde önemli düşüş görülmüştür. Çalışmamızda sıçanlara pinealektomi uygulanması (PINX grup) ve MSÜ enjeksiyonu (MSÜ grup) CAT ve SOD antioksidan enzim aktivitelerinde kontrol gruplarına göre düşüşe neden olmuştur. Ayrıca MSÜ enjeksiyonu öncesi Melatonin verilmesi SOD enzim aktivitesinde önemli bir artış sağlarken MSÜ enjeksiyonu öncesi PINX uygulaması SOD enzim aktivitesinde önemli bir düşüşe neden olmaktadır. Ancak hem MSÜ enjeksiyonu öncesi Melatonin verilmesi sonucu artan CAT seviyesi hem de MSÜ enjeksiyonu öncesi PINX uygulaması sonucu azalan CAT seviyesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Farelerde MSÜ ile indüklenen gut artriti üzerine yapılan bir çalışmada MSÜ' nun GSH' yi önemli ölçüde tükettiği gözlemlenmiştir [141]. 15d-PGJ2 yüklü nanokapsüllerin MSÜ ile oluşturulmuş gut artritinde görülen ağrı ve enflamasyona olan etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise GSH seviyesinin ve TAS seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir [236]. Bizim çalışmamızda sıçanlara PINX uygulanması ve MSÜ enjeksiyonu, GSH seviyelerinde ciddi düşümlere neden olmuştur. Bu azalma, artan oksidatif strese bağlı olabilir ve SOD aktivitesi ile süperoksit radikallerinin hidrojen peroksite çevrilmesi ve onların da glutatyon peroksidaz aktivitesi ile suya çevrilmesi esnasında oksidatif stresin üstesinden gelebilmek için GSH'ın tükendiğini göstermektedir. Melatonin takviyesi yapılan sıçan gruplarımızda GSH ve TAS seviyelerinde anlamlı artışlar gözlemlenirken, total oksidan seviyelerinde (TOS) ve oksidatif stres indeksinde (OSI) ciddi iyileşmeler olduğu görülmüştür. Histopatolojik hasar skorları incelendiğinde MSÜ' nun kırkırdak dokuda destrüksiyonu, yer yer kemik erozyonunu, çevre dokuda yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonunu arttırdığı melatoninin ise bu histopatolojik değişiklikleri belirgin olarak azalttığı gözlemlenmiştir. Yapılan bir çalışmada Melatonin'in in vitro olarak çok reaktif ve toksik hidroksil radikalinin oldukça etkili bir temizleyicisi olduğu gösterilmiştir. Eşmolar bazda Melatonin'in, hidroksil radikalini nötralize etmede glutatyon ve mannitolden önemli ölçüde daha etkili olduğu ileri sürülmektedir. Benzer şekilde, Melatonin'in lipid peroksidasyonu sırasında üretilen peroksil radikalini temizlediği bulunmuştur [237].



Antioksidanların kapasitelerinde azalma, serbest radikal üretiminde artma ve yaşlanma süreci ile gut gibi hastalıkların hem prevalansı hem de insidansı artmaktadır. Endojen Melatonin'in bu süreçteki koruyucu etkisi, serbest radikallerin oluşturduğu hücresel hasarları azaltmak ya da immüniteyi düzenlemek suretiyle kendini göstermektedir. Ancak endojen Melatonin'in yetersiz kaldığı durumlarda ise muhtemel protektif etkinin devamlılığı bakımından eksojen Melatonin uygulaması ihtiyacı oluşabilmektedir. Sonuç olarak melatoninin gut hastalığında görülen patolojik değişiklikler üzerine antioksidan ve antienflamatuvar etkisi sayesinde iyileştirici etkiye sahip olduğu, bu nedenle medikal tedavi yanında takviye olarak kullanılabilceğini düşünmekteyiz. Ancak bunun için daha ileri klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Bardin, T. and P. Richette, "Definition of hyperuricemia and gouty conditions", *Current opinion in rheumatology*, 26(2): p. 186-191 (2014).
2. Hainer, B.L., E.M. Matheson, and R.T. Wilkes, "Diagnosis, treatment, and prevention of gout", *American family physician*, 90(12): p. 831-836 (2014).
3. Cabău, G., et al., "Urate-induced immune programming: Consequences for gouty arthritis and hyperuricemia", *Immunological reviews*, 294(1): p. 92-105 (2020).
4. Wilson, L. and J.J. Saseen, "Gouty arthritis: a review of acute management and prevention", *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 36(8): p. 906-922 (2016).
5. Vedder, D., et al., "Dietary interventions for gout and effect on cardiovascular risk factors: a systematic review", *Nutrients*, 11(12): p. 2955 (2019).
6. Ito, S., et al., "Prevalence of gout and asymptomatic hyperuricemia in the pediatric population: a cross-sectional study of a Japanese health insurance database", *BMC pediatrics*, 20(1): p. 1-8 (2020).
7. Álvarez-Lario, B. and J.L. Alonso-Valdivielso, "Hiperuricemia y gota: el papel de la dieta", *Nutricion hospitalaria*, 29(4): p. 760-770 (2014).
8. Rashid, N., et al., "Patient and clinical characteristics associated with gout flares in an integrated healthcare system", *Rheumatology international*, 35(11): p. 1799-1807 (2015).
9. Clebak, K.T., A. Morrison, and J.R. Croad, "Gout: rapid evidence review", *American family physician*, 102(9): p. 533-538 (2020).
10. Roddy, E. and H.K. Choi, "Epidemiology of gout", *Rheumatic Disease Clinics*, 40(2): p. 155-175 (2014).
11. Jankowska, D.A., et al., "A novel enzymatic approach in the production of food with low purine content using *Arxula adenivorans* endogenous and recombinant purine degradative enzymes", *Bioengineered*, 6(1): p.20-25 (2015).
12. Pereira, N., et al., "Influence of dietary sources of melatonin on sleep quality: a review", *Journal of food science*, 85(1): p. 5-13 (2020).
13. Stanciu, A.E., et al., "Clinical significance of serum melatonin in predicting the severity of oral squamous cell carcinoma", *Oncology letters*, 19(2): p. 1537-1543(2020).

14. Huether, G., “The contribution of extrapineal sites of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates”, *Experientia*, 49(8): p. 665-670 (1993).
15. Acuña-Castroviejo, D., et al., “Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions”, *Cellular and molecular life sciences*, 71(16): p. 2997-3025 (2014).
16. Liu, L., et al., “Melatonin target proteins: too many or not enough?”, *Frontiers in endocrinology*, 10: p. 791 (2019)..
17. Salehi, B., et al., “Melatonin in medicinal and food plants: Occurrence, bioavailability, and health potential for humans”, *Cells*, 8(7): p. 681 (2019).
18. Esteban-Zubero, E., et al., “Melatonin's role as a co-adjuvant treatment in colonic diseases: A review”, *Life sciences*, 170: p. 72-81 (2017).
19. Rezzani, R., et al., “Attenuation of ultraviolet A-induced alterations in NIH 3 T 3 dermal fibroblasts by melatonin”, *British Journal of Dermatology*, 170(2): p. 382-391 (2014).
20. Nuki, G. and P.A. Simkin, “A concise history of gout and hyperuricemia and their treatment”, *Arthritis research & therapy*, 8(1): p. 1-5 (2006).
21. Pillinger, M.H., P. Rosenthal, and A.M. Abele, “Hyperuricemia and Gout”, *Bulletin of the NYU Hospital for joint diseases*, 65(3) (2007).
22. Sumiyoshi, R., et al., “Chlamydia-induced reactive arthritis diagnosed during gout flares: a case report and cumulative effect of inflammatory cytokines on chronic arthritis”, *Medicine*, 98(40) (2019).
23. Khanna, D., et al., “2012 American College of Rheumatology guidelines for management of gout. Part 1: systematic nonpharmacologic and pharmacologic therapeutic approaches to hyperuricemia”, *Arthritis care & research*, 64(10): p. 1431-1446 (2012).
24. Li, Z., et al., “Replication of gout/urate concentrations GWAS susceptibility loci associated with gout in a Han Chinese population”, *Scientific reports*, 7(1): p. 1-6 (2017).
25. Dehlin, M., L. Jacobsson, and E. Roddy, “Global epidemiology of gout: prevalence, incidence, treatment patterns and risk factors”, *Nature Reviews Rheumatology*, 16(7): p. 380-390 (2020).
26. Chang, S., et al., “High prevalence of gout and related risk factors in Taiwan's Aborigines”, *The Journal of rheumatology*, 24(7): p. 1364-1369 (1997).
27. Kuo, C.-F., et al., “Global epidemiology of gout: prevalence, incidence and risk factors”, *Nature reviews rheumatology*, 11(11): p. 649-662 (2015).

28. Akkoc, N. and S. Akar, "Epidemiology of rheumatoid arthritis in Turkey", *Clin Rheumatol*, 25(4): p. 560-1 (2006).
29. Zhu, Y., B.J. Pandya, and H.K. Choi, "Prevalence of gout and hyperuricemia in the US general population: the National Health and Nutrition Examination Survey 2007–2008", *Arthritis & Rheumatism*, 63(10): p. 3136-3141 (2011).
30. Hochberg, M.C., et al., "Racial differences in the incidence of gout", *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 38(5): p. 628-632 (1995).
31. Neogi, T., "Gout", *New England Journal of Medicine*, 364(5): p. 443-452 (2011).
32. Dehghan, A., et al., "Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study", *The Lancet*, 372(9654): p. 1953-1961 (2008).
33. Taniguchi, A., et al., "A common mutation in an organic anion transporter gene, SLC22A12, is a suppressing factor for the development of gout", *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 52(8): p. 2576-2577 (2005).
34. Major, T.J., et al., "An update on the genetics of hyperuricaemia and gout", *Nature Reviews Rheumatology*, 14(6): p. 341-353 (2018).
35. Choi, H.K., Y. Zhu, and D.B. Mount, "Genetics of gout", *Current opinion in rheumatology*, 22(2): p. 144-151 (2010).
36. Turner, J., et al., "Uromodulin mutations cause familial juvenile hyperuricemic nephropathy", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(3): p. 1398-1401 (2003).
37. Basseville, A. and S.E. Bates, "Gout, genetics and ABC transporters", *F1000 biology reports*, 3. (2011).
38. Köttgen, A., et al., "Genome-wide association analyses identify 18 new loci associated with serum urate concentrations", *Nat Genet*, 45(2): p. 145-54 (2013).
39. Phipps-Green, A., et al., "Twenty-eight loci that influence serum urate levels: analysis of association with gout", *Annals of the rheumatic diseases*, 75(1): p. 124-130 (2016).
40. Wang, W., et al., "Heritability and genome-wide association analyses of serum uric acid in middle and old-aged chinese twins", *Frontiers in endocrinology*, 9: p. 75 (2018).
41. MacFarlane, L.A. and S.C. Kim, "Gout: a review of nonmodifiable and modifiable risk factors", *Rheumatic Disease Clinics*, 40(4): p. 581-604 (2014).

42. Gordon, T. and W.B. Kannel, "Drinking and its relation to smoking, BP, blood lipids, and uric acid: the Framingham Study", *Archives of Internal Medicine*, 143(7): p. 1366-1374 (1983).
43. Stamp, L.K., et al. "Impaired response or insufficient dosage?—Examining the potential causes of "inadequate response" to allopurinol in the treatment of gout", in *Seminars in arthritis and rheumatism*. Elsevier (2014).
44. Choi, H.K., et al., "Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men", *New England Journal of Medicine*, 350(11): p. 1093-1103 (2004).
45. Choi, H.K., et al., "Alcohol intake and risk of incident gout in men: a prospective study", *The Lancet*, 363(9417): p. 1277-1281 (2004).
46. Choi, H.K. and G. Curhan, "Soft drinks, fructose consumption, and the risk of gout in men: prospective cohort study", *Bmj*, 336(7639): p. 309-312 (2008).
47. Hak, A.E., et al., "Menopause, postmenopausal hormone use and risk of incident gout". *Annals of the rheumatic diseases*, 69(7): p. 1305-1309 (2010).
48. Isomäki, H. and H. Takkunen, "Gout and hyperuricemia in a Finnish rural population", *Acta Rheumatologica Scandinavica*, 15(1-4): p. 112-120 (1969).
49. Popert, A. and J.V. Hewitt, "Gout and hyperuricaemia in rural and urban populations", *Annals of the Rheumatic Diseases*, 21(2): p. 154 (1962).
50. Kuo, C.-F., et al., "Rising burden of gout in the UK but continuing suboptimal management: a nationwide population study". *Annals of the rheumatic diseases*, 74(4): p. 661-667 (2015).
51. Maynard, J.W., et al., "Incident gout in women and association with obesity in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study", *The American journal of medicine*, 125(7): p. 717. e9-717. e17 (2012).
52. Soriano, L.C., et al., "Contemporary epidemiology of gout in the UK general population". *Arthritis research & therapy*, 13(2): p. 1-9 (2011).
53. Obermayr, R.P., et al., "Predictors of new-onset decline in kidney function in a general middle-european population". *Nephrology Dialysis Transplantation*, 23(4): p. 1265-1273 (2008).
54. Krishnan, E., "Chronic kidney disease and the risk of incident gout among middle-aged men: a seven-year prospective observational study", *Arthritis & Rheumatism*, 65(12): p. 3271-3278 (2013).
55. Kuo, C.-F., et al., "Comorbidities in patients with gout prior to and following diagnosis: case-control study", *Annals of the rheumatic diseases*, 75(1): p. 210-217(2016).

56. Merola, J.F., et al., "Psoriasis, psoriatic arthritis and risk of gout in US men and women", *Annals of the rheumatic diseases*, 74(8): p. 1495-1500 (2015).
57. Reynolds, M.D., "Gout and hyperuricemia associated with sickle-cell anemia", *Semin Arthritis Rheum*, 12(4): p. 404-13 (1983).
58. Bruderer, S., et al., "Use of Diuretics and Risk of Incident Gout: A Population-Based Case–Control Study", *Arthritis & rheumatology*, 66(1): p. 185-196 (2014).
59. Choi, H.K., et al., "Antihypertensive drugs and risk of incident gout among patients with hypertension: population based case-control study", *Bmj*, 344 (2012).
60. Lin, H.-Y., et al., "Cyclosporine-induced hyperuricemia and gout", *New England Journal of Medicine*, 321(5): p. 287-292 (1989).
61. Stamp, L., et al., "Gout in solid organ transplantation", *Drugs*, 65(18): p. 2593-2611 (2005).
62. So, A. and B. Thorens, "Uric acid transport and disease", *J Clin Invest*, 120(6): p. 1791-9 (2010).
63. Liebman, S.E., J.G. Taylor, and D.A. Bushinsky, "Uric acid nephrolithiasis", *Current rheumatology reports*, 9(3): p. 251-257 (2007).
64. Terkeltaub, R., D.A. Bushinsky, and M.A. Becker, "Recent developments in our understanding of the renal basis of hyperuricemia and the development of novel antihyperuricemic therapeutics", *Arthritis Research & Therapy*, 8(1): p. 1-9 (2006).
65. Jakše, B., et al., "Uric acid and plant-based nutrition", *Nutrients*, 11(8): p. 1736 (2019).
66. Nyborg, A.C., et al., "A therapeutic uricase with reduced immunogenicity risk and improved development properties", *PloS one*, 11(12): p. e0167935 (2016).
67. Yeldandi, A.V., et al., "Functional expression and peroxisomal targeting of rat urate oxidase in monkey kidney cells", *Gene Expression The Journal of Liver Research*, 5(2): p. 123-132 (1995).
68. Terkeltaub, R.A., "Gout", *New England Journal of Medicine*, 349(17): p. 1647-1655 (2003).
69. Simkin, P.A., "Urate excretion in normal and gouty men", in *Purine Metabolism in Man—II.*, Springer. p. 41-45 (1977).
70. Wortmann, R.L., "Gout and hyperuricemia", *Current opinion in rheumatology*, 14(3): p. 281-286 (2002).

71. Enomoto, A., et al., “Molecular identification of a renal urate–anion exchanger that regulates blood urate levels”, *Nature*, 417(6887): p. 447-452 (2002).
72. Torres, R.J. and J.G. Puig, “Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency: Lesch-Nyhan syndrome”, *Orphanet journal of rare diseases*, 2(1): p. 1-10 (2007).
73. Auberson, M., et al., “SLC2A9 (GLUT9) mediates urate reabsorption in the mouse kidney”, *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 470(12): p. 1739-1751 (2018).
74. Martillo, M.A., L. Nazzari, and D.B. “Crittenden, The crystallization of monosodium urate”, *Current rheumatology reports*, 16(2): p. 400 (2014).
75. Choi, H.K., D.B. Mount, and A.M. Reginato, “Pathogenesis of gout”, *Annals of internal medicine*, 143(7): p. 499-516 (2005).
76. Lee, Y.M., et al., “Effects of Mollugo pentaphylla extract on monosodium urate crystal-induced gouty arthritis in mice”, *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1): p. 1-8 (2017).
77. Pétrilli, V. and F. Martinon, “The inflammasome, autoinflammatory diseases, and gout”, *Joint Bone Spine*, 74(6): p. 571-576 (2007).
78. Liu-Bryan, R., et al., “Innate immunity conferred by toll-like receptors 2 and 4 and myeloid differentiation factor 88 expression is pivotal to monosodium urate monohydrate crystal–induced inflammation”, *Arthritis & Rheumatism*, 52(9): p. 2936-2946 (2005).
79. Scott, P., et al., “Engagement of CD14 mediates the inflammatory potential of monosodium urate crystals”, *The Journal of Immunology*, 177(9): p. 6370-6378 (2006).
80. Kippen, I., et al., “Factors affecting urate solubility in vitro”. *Annals of the rheumatic diseases*, 33(4): p. 313 (1974).
81. Zhang, W.-Z., “Why Does Hyperuricemia Not Necessarily Induce Gout?”, *Biomolecules*, 11(2): p. 280 (2021).
82. Duskin-Bitan, H., et al., “The degree of asymptomatic hyperuricemia and the risk of gout. A retrospective analysis of a large cohort”, *Clinical rheumatology*, 33(4): p. 549-553 (2014).
83. Zalokar, J., et al., “Serum uric acid in 23,923 men and gout in a subsample of 4257 men in France”, *Journal of chronic diseases*, 25(5): p. 305-312 (1972).
84. Schmidt, H.M., E.E. Kelley, and A.C. Straub, “The impact of xanthine oxidase (XO) on hemolytic diseases”, *Redox Biology*, 21: p. 101072 (2019).

85. Hediger, M., “Physiology and biochemistry of uric acid”, *Therapeutische Umschau. Revue therapeutique*, 61(9): p. 541-545 (2004).
86. Lang, S., et al., “A conserved role of the insulin-like signaling pathway in diet-dependent uric acid pathologies in *Drosophila melanogaster*”, *PLoS genetics*, 15(8): p. e1008318 (2019).
87. Chen, C., J.-M. Lü, and Q. Yao, “Hyperuricemia-related diseases and xanthine oxidoreductase (XOR) inhibitors: an overview”, *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 22: p. 2501 (2016).
88. Dai, F., et al., “Expression profile and potential function of circular RNAs in peripheral blood mononuclear cells in male patients with primary gout”, *Frontiers in genetics*, p. 2118 (2021).
89. Ea, H.K., et al., “Severe gouty arthritis and mild neurologic symptoms due to F199C, a newly identified variant of the hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase”, *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 60(7): p. 2201-2204 (2009).
90. Fravel, M.A. and M.E. Ernst, “Management of gout in the older adult”, *The American journal of geriatric pharmacotherapy*, 9(5): p. 271-285 (2011).
91. Maesaka, J.K. and S. Fishbane, “Regulation of renal urate excretion: a critical review”, *American journal of kidney diseases*, 32(6): p. 917-933 (1998).
92. Li, L., Y. Zhang, and C. Zeng, “Update on the epidemiology, genetics, and therapeutic options of hyperuricemia”, *American Journal of Translational Research*, 12(7): p. 3167 (2020).
93. Lipkowitz, M.S., “Regulation of uric acid excretion by the kidney”, *Current rheumatology reports*, 14(2): p. 179-188 (2012).
94. Fathallah-Shaykh, S.A. and M.T. Cramer, “Uric acid and the kidney”, *Pediatric nephrology*, 29(6): p. 999-1008 (2014).
95. Zhou, L., et al., “Systematic review and meta-analysis of the clinical efficacy and adverse effects of Chinese herbal decoction for the treatment of gout”, *PLoS One*, 9(1): p. e85008 (2014).
96. Richette, P. and T. Bardin, Gout. *Lancet*, 375(9711): p. 318-28 (2010).
97. Jelley, M.J. and R. Wortmann, “Practical steps in the diagnosis and management of gout”, *BioDrugs*, 14(2): p. 99-107 (2000).
98. Pittman, J.R. and M.H. Bross, “Diagnosis and management of gout”, *American family physician*, 59(7): p. 1799 (1999).



99. Harris, M.D., L.B. Siegel, and J.A. Alloway, "Gout and hyperuricemia", *American family physician*, 59(4): p. 925 (1999).
100. Neogi, T., et al., "Relation of temperature and humidity to the risk of recurrent gout attacks", *American journal of epidemiology*, 180(4): p. 372-377 (2014).
101. Choi, H.K., et al., "Nocturnal risk of gout attacks", *Arthritis & rheumatology*, 67(2): p. 555-562 (2015).
102. Casademont, J., *Harrison's Principles of Internal Medicine 16th Edition*, Dennis L. Kasper, Eugene Braunwald, Antoni S. Fauci, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson (Eds.), McGraw-Hill Professional Publishing (2004), 2680 pages, ISBN: 0071402357, Hardcover, Illustrated, Price£ 90., Elsevier, (2005).
103. Zhang, W., et al., "EULAR evidence based recommendations for gout. Part II: Management. Report of a task force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCSIT)", *Annals of the rheumatic diseases*, 65(10): p. 1312-1324 (2006).
104. Zell, M., D. Zhang, and J. FitzGerald, "Diagnostic advances in synovial fluid analysis and radiographic identification for crystalline arthritis", *Current opinion in rheumatology*, 31(2): p. 134 (2019).
105. Pascual, E. and M. Doherty, "Aspiration of normal or asymptomatic pathological joints for diagnosis and research: indications, technique and success rate", *Annals of the rheumatic diseases*, 68(1): p. 3-7 (2009).
106. Sivera, F., R. Aragón, and E. Pascual, "First metatarsophalangeal joint aspiration using a 29-gauge needle", *Annals of the rheumatic diseases*, 67(2): p. 273-275 (2008).
107. Gamala, M., et al., "Gouty arthritis: decision-making following dual-energy CT scan in clinical practice, a retrospective analysis", *Clinical rheumatology*, 37(7): p. 1879-1884 (2018).
108. Galvez, J., et al., "Delayed examination of synovial fluid by ordinary and polarised light microscopy to detect and identify crystals", *Annals of the rheumatic diseases*, 61(5): p. 444-447 (2002).
109. Rousseau, I., et al., "Gout: radiographic findings mimicking infection", *Skeletal radiology*, 30(10): p. 565-569 (2001).
110. Rott, K.T. and C.A. Agudelo, Gout. *Jama*, 289(21): p. 2857-60 (2003).
111. Yu, K.-H., et al., "Intermittent elevation of serum urate and 24-hour urinary uric acid excretion", *Rheumatology*, 43(12): p. 1541-1545 (2004).

112. Davies, J., et al., "Recent developments in advanced imaging in gout", *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, 11: p. 1759720X19844429 (2019).
113. Dalbeth, N., et al., "Mechanisms of bone erosion in gout: a quantitative analysis using plain radiography and computed tomography", *Annals of the rheumatic diseases*, 68(8): p. 1290-1295 (2009).
114. Perez-Ruiz, F. and E. Naredo, "Imaging modalities and monitoring measures of gout", *Current opinion in rheumatology*, 19(2): p. 128-133 (2007).
115. Khanna, D., et al., "2012 American College of Rheumatology guidelines for management of gout. Part 2: therapy and antiinflammatory prophylaxis of acute gouty arthritis", *Arthritis care & research*, 64(10): p. 1447-1461 (2012).
116. Schlesinger, N., et al., "Local ice therapy during bouts of acute gouty arthritis", *The Journal of rheumatology*, 29(2): p. 331-334 (2002).
117. Engel, B., et al., "Treatment options for gout", *Deutsches Ärzteblatt international*, 114(13): p. 215 (2017).
118. Cronstein, B.N. and R. Terkeltaub, "The inflammatory process of gout and its treatment", *Arthritis Research & Therapy*, 8(1): p. 1-7 (2006).
119. Roddy, E., C.D. Mallen, and M. Doherty, Gout. *Bmj*, 347: p. f5648 (2013).
120. Rainer, T.H., et al., "Oral prednisolone in the treatment of acute gout: a pragmatic, multicenter, double-blind, randomized trial", *Annals of internal medicine*, 164(7): p. 464-471 (2016).
121. Pillinger, M.H. and B.F. Mandell. "Therapeutic approaches in the treatment of gout", in *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. Elsevier (2020).
122. Beyl Jr, R.N., L. Hughes, and S. Morgan, "Update on importance of diet in gout", *The American journal of medicine*, 129(11): p. 1153-1158 (2016).
123. Kakutani-Hatayama, M., et al., "Nonpharmacological management of gout and hyperuricemia: hints for better lifestyle", *American journal of lifestyle medicine*, 11(4): p. 321-329 (2017).
124. Rho, Y.H., Y. Zhu, and H.K. Choi. "The epidemiology of uric acid and fructose". in *Seminars in nephrology*. Elsevier. (2011).
125. Madlala, H.P., G.J. Maarman, and E. Ojuka, "Uric acid and transforming growth factor in fructose-induced production of reactive oxygen species in skeletal muscle", *Nutrition reviews*, 74(4): p. 259-266 (2016).

126. Dalbeth, N., et al., “Effects of skim milk powder enriched with glycomacropeptide and G600 milk fat extract on frequency of gout flares: a proof-of-concept randomised controlled trial”, *Annals of the rheumatic diseases*, 71(6): p. 929-934 (2012).
127. Feyisa, T.O., et al., “Investigation of the effect of coffee on body weight, serum glucose, uric acid and lipid profile levels in male albino Wistar rats feeding on high-fructose diet”, *Laboratory animal research*, 35(1): p. 1-8 (2019).
128. Pham, N.M., et al., “The relation of coffee consumption to serum uric acid in Japanese men and women aged 49–76 years”, *Journal of nutrition and metabolism*, 2010. (2010).
129. Peluso, I. and M. Serafini, “Antioxidants from black and green tea: From dietary modulation of oxidative stress to pharmacological mechanisms”, *British journal of pharmacology*, 174(11): p. 1195-1208 (2017).
130. Choi, H.K., W. Willett, and G. Curhan, “Coffee consumption and risk of incident gout in men: a prospective study”, *Arthritis & Rheumatism*, 56(6): p. 2049-2055 (2007).
131. Amaral, F.G.d. and J. Cipolla-Neto, “A brief review about melatonin, a pineal hormone”, *Archives of endocrinology and metabolism*, 62: p. 472-479 (2018).
132. Bhattacharya, S., et al., “Melatonin and its ubiquitous anticancer effects”, *Molecular and cellular biochemistry*, 462(1): p. 133-155 (2019).
133. Kappers, J.A., “The development, topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat”, *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie*, 52(2): p. 163-215 (1960).
134. Zhao, D., et al., “Melatonin synthesis and function: evolutionary history in animals and plants”, *Frontiers in endocrinology*, 10: p. 249 (2019).
135. Reiter, R.J., “Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions”, *Endocrine reviews*, 12(2): p. 151-180 (1991).
136. Hardeland, R., “Taxon-and site-specific melatonin catabolism”, *Molecules*, 22(11): p. 2015 (2017).
137. Hardeland, R., et al., “On the primary functions of melatonin in evolution: mediation of photoperiodic signals in a unicell, photooxidation, and scavenging of free radicals”, *Journal of pineal research*, 18(2): p. 104-111 (1995).
138. Jockers, R., et al., “Update on melatonin receptors: IUPHAR Review 20”, *British journal of pharmacology*, 173(18): p. 2702-2725 (2016).
139. Bonmati-Carrion, M.-A. and A. Tomas-Loba, “Melatonin and cancer: a polyhedral network where the source matters”, *Antioxidants*, 10(2): p. 210 (2021).

140. Luo, J., et al., "Effect of melatonin on T/B cell activation and immune regulation in pinealectomy mice", *Life sciences*, 242: p. 117191 (2020).
141. Rossaneis, A.C., et al., "[Ru (bpy) 2 (NO) SO3](PF6), a Nitric Oxide Donating Ruthenium Complex, Reduces Gout Arthritis in Mice", *Frontiers in pharmacology*, 10: p. 229 (2019).
142. Xiao, W.-z., et al., "Melatonin Alleviates Acute Gouty Inflammation In Vivo and In Vitro", *Current Medical Science*, p. 1-7 (2021).
143. Cao, Z., et al., "Melatonin alleviates cadmium-induced liver injury by inhibiting the TXNIP-NLRP3 inflammasome", *Journal of Pineal Research*, 62(3): p. e12389 (2017).
144. He, Y., H. Hara, and G. Núñez, "Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation", *Trends in biochemical sciences*, 41(12): p. 1012-1021 (2016).
145. Martin, W.J., M. Walton, and J. Harper, "Resident macrophages initiating and driving inflammation in a monosodium urate monohydrate crystal-induced murine peritoneal model of acute gout", *Arthritis & Rheumatism*, 60(1): p. 281-289 (2009).
146. Furman, D., et al., "Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span", *Nature medicine*, 25(12): p. 1822-1832 (2019).
147. Kunnumakkara, A.B., et al., "Chronic diseases, inflammation, and spices: how are they linked?", *Journal of translational medicine*, 16(1): p. 1-25 (2018).
148. Robb, C., et al. "Key mechanisms governing resolution of lung inflammation", in *Seminars in immunopathology*. Springer (2016).
149. Prasad, S., B. Sung, and B.B. Aggarwal, "Age-associated chronic diseases require age-old medicine: role of chronic inflammation", *Preventive medicine*, 54: p. S29-S37 (2012).
150. Abudukelimu, A., et al., "Predictable irreversible switching between acute and chronic inflammation", *Frontiers in immunology*, 9: p. 1596 (2018).
151. Fullerton, J.N. and D.W. Gilroy, "Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier", *Nature reviews Drug discovery*, 15(8): p. 551-567 (2016).
152. Serhan, C.N., "Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology", *Nature*, 510(7503): p. 92-101 (2014).
153. Wang, S., et al., "S100A8/A9 in Inflammation", *Frontiers in immunology*, 9: p. 1298 (2018).

154. Rahman, A., et al., "Inhibition of ErbB kinase signalling promotes resolution of neutrophilic inflammation", *Elife*, 8: p. e50990 (2019).
155. Zuo, L., et al., "Inflammaging and oxidative stress in human diseases: from molecular mechanisms to novel treatments", *International journal of molecular sciences*, 20(18): p. 4472 (2019).
156. Chung, H.Y., et al., "Redefining chronic inflammation in aging and age-related diseases: proposal of the senoinflammation concept", *Aging and disease*, 10(2): p. 367 (2019).
157. Witherden, D. and W. Havran, " $\gamma\delta$  T cells in homeostasis and host defence of epithelial barrier tissues", *Nat Rev Immunol*, 17(12): p. 733-45 (2017).
158. Gracey, E., et al., "Tendon and ligament mechanical loading in the pathogenesis of inflammatory arthritis", *Nature Reviews Rheumatology*, 16(4): p. 193-207 (2020).
159. Poudel, P., et al., Inflammatory Arthritis. (2018).
160. Louati, K. and F. Berenbaum, "Fatigue in chronic inflammation-a link to pain pathways", *Arthritis research & therapy*, 17(1): p. 1-10 (2015).
161. Muley, M.M., E. Krustev, and J.J. McDougall, "Preclinical assessment of inflammatory pain", *CNS neuroscience & therapeutics*, 22(2): p. 88-101 (2016).
162. Sun, X., et al., "Glycyrrhizin ameliorates inflammatory pain by inhibiting microglial activation-mediated inflammatory response via blockage of the HMGB1-TLR4-NF-kB pathway". *Experimental cell research*, 369(1): p. 112-119 (2018).
163. Uchiyama, T., et al., "Multi-frequency bioelectrical impedance analysis of skin rubor with two-electrode technique", *Journal of tissue viability*, 17(4): p. 110-114 (2008).
164. Elias, M., et al., "The color of skin: red diseases of the skin, nails, and mucosa", *Clinics in dermatology*, 37(5): p. 548-560 (2019).
165. Schmidt, K., et al., "Heat, cold and inflammation", *Zeitschrift Fur Rheumatologie*, 38(11-12): p. 391-404 (1979).
166. Newman, S.L., J.E. Henson, and P.M. Henson, "Phagocytosis of senescent neutrophils by human monocyte-derived macrophages and rabbit inflammatory macrophages", *The Journal of experimental medicine*, 156(2): p. 430-442 (1982).
167. Khanna, G., et al., "Causes of facial swelling in pediatric patients: correlation of clinical and radiologic findings", *Radiographics*, 26(1): p. 157-171 (2006).

168. Gopal, S., “Syndecans in inflammation at a glance”, *Frontiers in immunology*, 11: p. 227 (2020).
169. Chang, X., et al., “Natural drugs as a treatment strategy for cardiovascular disease through the regulation of oxidative stress”, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. (2020).
170. Hendrix, J., et al., “The interplay between oxidative stress, exercise, and pain in health and disease: potential role of autonomic regulation and epigenetic mechanisms”, *Antioxidants*, 9(11): p. 1166 (2020).
171. Rice-Evans, C., et al. “Oxidative stress: the paradox of aerobic life”, in *Biochemical Society Symposia*. Portland Press (1995).
172. Mahmood, N., A. Hameed, and T. Hussain, “Vitamin E and selenium treatment alleviates saline environment-induced oxidative stress through enhanced antioxidants and growth performance in suckling kids of beetal goats”, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. (2020).
173. Lourenço, S.C., M. Moldão-Martins, and V.D. Alves, “Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications”, *Molecules*, 24(22): p. 4132 (2019).
174. Schuermann, D. and M. Mevissen, “Manmade Electromagnetic Fields and Oxidative Stress—Biological Effects and Consequences for Health”, *International journal of molecular sciences*, 22(7): p. 3772 (2021).
175. Cadet, J., et al., “Formation and repair of oxidatively generated damage in cellular DNA”, *Free Radical Biology and Medicine*, 107: p. 13-34 (2017).
176. Di Meo, S., et al., “Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions”, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016. (2016).
177. Macotpet, A., et al., “Oxidative stress in cancer-bearing dogs assessed by measuring serum malondialdehyde”, *BMC veterinary research*, 9(1): p. 1-6 (2013).
178. Folden, D.V., et al., “Malondialdehyde inhibits cardiac contractile function in ventricular myocytes via a p38 mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism”, *British journal of pharmacology*, 139(7): p. 1310-1316 (2003).
179. Rani, A., et al., “Microorganisms: A Potential Source of Bioactive Molecules for Antioxidant Applications”, *Molecules*, 26(4): p. 1142 (2021).
180. Rosa, A.C., et al., “Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses”, *Molecules*, 26(7): p. 1844 (2021).

181. Okado-Matsumoto, A. and I. Fridovich, "Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu, Zn-SOD in mitochondria", *Journal of Biological Chemistry*, 276(42): p. 38388-38393 (2001).
182. Fridovich, I., "Superoxide dismutases: an adaptation to a paramagnetic gas", *Journal of Biological Chemistry*, 264(14): p. 7761-7764 (1989).
183. Weydert, C.J. and J.J. "Cullen, Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue", *Nature protocols*, 5(1): p. 51-66 (2010).
184. Jing, M., et al., "Catalase and superoxide dismutase response and the underlying molecular mechanism for naphthalene", *Science of The Total Environment*, 736: p. 139567 (2020).
185. Nandi, A., et al., "Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases", *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019. (2019).
186. Peng, Y.-J., et al., "Pycnogenol attenuates the inflammatory and nitrosative stress on joint inflammation induced by urate crystals", *Free Radical Biology and Medicine*, 52(4): p. 765-774 (2012).
187. Cillero-Pastor, B., et al., "Effect of nitric oxide on mitochondrial activity of human synovial cells", *BMC Musculoskelet Disord*, 12: p. 42 (2011).
188. Zhang, D.X. and D.D. Gutterman, "Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells", *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 292(5): p. H2023-31 (2007).
189. Cordero, M.D., "[Oxidative stress in fibromyalgia: pathophysiology and clinical implications]", *Reumatol Clin*, 7(5): p. 281-3 (2011).
190. Ning, J.L., L.W. Mo, and X.N. Lai, "Low- and high-dose hydrogen peroxide regulation of transcription factor NF-E2-related factor 2", *Chin Med J (Engl)*, 123(8): p. 1063-9 (2010).
191. Chenevier-Gobeaux, C., et al., "Superoxide production and NADPH oxidase expression in human rheumatoid synovial cells: regulation by interleukin-1beta and tumour necrosis factor-alpha", *Inflamm Res*, 55(11): p. 483-90 (2006).
192. Kurz, B., J. Steinhagen, and M. Schünke, "Articular chondrocytes and synoviocytes in a co-culture system: influence on reactive oxygen species-induced cytotoxicity and lipid peroxidation", *Cell Tissue Res*, 296(3): p. 555-63 (1999).
193. George, J. and A.D. Struthers, "Role of urate, xanthine oxidase and the effects of allopurinol in vascular oxidative stress", *Vasc Health Risk Manag*, 5(1): p. 265-72 (2009).

194. Jhang, J.J., et al., "Monosodium urate crystals trigger Nrf2- and heme oxygenase-1-dependent inflammation in THP-1 cells", *Cell Mol Immunol*, 12(4): p. 424-34 (2015).
195. Krishnan, E., "Inflammation, oxidative stress and lipids: the risk triad for atherosclerosis in gout", *Rheumatology (Oxford)*, 49(7): p. 1229-38 (2010).
196. Ortiz-Bravo, E., M.S. Sieck, and H.R. Schumacher, Jr., Changes in the proteins coating monosodium urate crystals during active and subsiding inflammation. Immunogold studies of synovial fluid from patients with gout and of fluid obtained using the rat subcutaneous air pouch model. *Arthritis Rheum*, 36(9): p. 1274-85 (1993).
197. Martinon, F., "Mechanisms of uric acid crystal-mediated autoinflammation", *Immunol Rev*, 233(1): p. 218-32 (2010).
198. Alvarez-Soria, M.A., et al., "Diacerein has a weak effect on the catabolic pathway of human osteoarthritis synovial fibroblast--comparison to its effects on osteoarthritic chondrocytes", *Rheumatology (Oxford)*, 47(5): p. 627-33 (2008).
199. van't Hof, R.J., et al., "Nitric oxide is a mediator of apoptosis in the rheumatoid joint", *Rheumatology (Oxford)*, 39(9): p. 1004-8 (2000).
200. Jaramillo, M., P.H. Naccache, and M. Olivier, "Monosodium urate crystals synergize with IFN-gamma to generate macrophage nitric oxide: involvement of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and NF-kappa B", *J Immunol*, 172(9): p. 5734-42 (2004).
201. Punzi, L., et al., "Gout as autoinflammatory disease: new mechanisms for more appropriated treatment targets", *Autoimmun Rev*, 12(1): p. 66-71 (2012).
202. Coderre, T.J. and P.D. Wall, "Ankle joint urate arthritis (AJUA) in rats: an alternative animal model of arthritis to that produced by Freund's adjuvant", *Pain*, 28(3): p. 379-393 (1987).
203. Czechowska, G., et al., "Protective effects of melatonin against thioacetamide-induced liver fibrosis in rats", *J Physiol Pharmacol*, 66(4): p. 567-79 (2015).
204. Keeble, J., et al., "Involvement of transient receptor potential vanilloid 1 in the vascular and hyperalgesic components of joint inflammation", *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 52(10): p. 3248-3256 (2005).
205. Matsubara, E., et al., "Melatonin increases survival and inhibits oxidative and amyloid pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease", *Journal of Neurochemistry*, 85(5): p. 1101-1108 (2003).
206. Chamorro, V., et al., "Effects of quercetin in a rat model of hemorrhagic traumatic shock and reperfusion", *Molecules*, 21(12): p. 1739 (2016)



207. Ohkawa, H., N. Ohishi, and K. Yagi, "Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction", *Analytical biochemistry*, 95(2): p. 351-358 (1979).
208. Ellman, G.L., "Tissue sulfhydryl groups", *Arch Biochem Biophys*, 82(1): p. 70-7 (1959).
209. Sun, Y., L.W. Oberley, and Y. Li, "A simple method for clinical assay of superoxide dismutase", *Clinical chemistry*, 34(3): p. 497-500 (1988).
210. Burnie, J., A. Coke, and R. Matthews, "Restriction endonuclease analysis of *Aspergillus fumigatus* DNA", *Journal of clinical pathology*, 45(4): p. 324-327 (1992).
211. Lowry, O.H., et al., "Protein measurement with the Folin phenol reagent", *Journal of biological chemistry*, 193: p. 265-275 (1951).
212. Erel, O., "A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status", *Clinical biochemistry*, 38(12): p. 1103-1111 (2005).
213. Erel, O., "A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation", *Clinical biochemistry*, 37(4): p. 277-285 (2004).
214. Chen, H., et al., "The effect of resveratrol on the recurrent attacks of gouty arthritis", *Clinical rheumatology*, 35(5): p. 1189-1195 (2016).
215. Cao, Y., "Icariin alleviates MSU-induced rat GA models through NF- $\kappa$ B/NALP3 pathway", *Cell Biochemistry and Function*, 39(3): p. 357-366 (2021).
216. Dhanasekar, C., S. Kalaiselvan, and M. Rasool, "Morin a bioflavonoid suppresses monosodium urate crystal-induced inflammatory immune response in RAW 264.7 macrophages through the inhibition of inflammatory mediators, intracellular ROS levels and NF- $\kappa$ B activation", *PLoS One*, 10(12): p. e0145093 (2015).
217. Shi, L., et al., "Modified Simiaowan prevents articular cartilage injury in experimental gouty arthritis by negative regulation of STAT3 pathway", *Journal of Ethnopharmacology*, 270: p. 113825 (2021).
218. Bernardes, A.C.F.P.F., et al., "Sesquiterpene lactones from *Lychnophora* species: Antinociceptive, anti-inflammatory, and antioxidant pathways to treat acute gout", *Journal of Ethnopharmacology*, 269: p. 113738 (2021).
219. Reiter, R.J., et al., "Mitochondria: central organelles for melatonin' s antioxidant and anti-aging actions", *Molecules*, 23(2): p. 509 (2018).

220. Jahanban-Esfahlan, R., et al., “Melatonin in regulation of inflammatory pathways in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: involvement of circadian clock genes”, *British journal of pharmacology*, 175(16): p.3230-3238. (2018).
221. Han, J., et al., “Zisheng Shenqi decoction ameliorates monosodium urate crystal-induced gouty arthritis in rats through anti-inflammatory and anti-oxidative effects”, *Molecular medicine reports*, 14(3): p. 2589-2597 (2016).
222. Kingsbury, S.R., P.G. Conaghan, and M.F. McDermott, “The role of the NLRP3 inflammasome in gout”, *Journal of inflammation research*, 4: p. 39 (2011).
223. Han, J., et al., “Zisheng Shenqi Decoction Ameliorates Monosodium Urate-Mediated Gouty Arthritis in Rats via Promotion of Autophagy through the AMPK/mTOR Signaling Pathway”, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021. (2021).
224. Wang, G., et al., “Effect of rebamipide on the acute gouty arthritis in rats induced by monosodium urate crystals”, *Beijing da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Peking University. Health Sciences*, 53(4): p. 716-720 (2021).
225. Ma, T.-H., et al., “Effect of ethanolic extract of Polygonum cuspidatum on acute gouty arthritis in mice through NLRP3/ASC/caspase-1 axis”, *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*, 44(3): p. 546-552 (2019).
226. Galano, A. and R.J. Reiter, “Melatonin and its metabolites vs oxidative stress: From individual actions to collective protection”, *Journal of Pineal Research*, 65(1): p. e12514 (2018).
227. Rizzo, A.M., et al., “Endogenous antioxidants and radical scavengers, in Bio-Farms for Nutraceuticals”, *Springer*. p. 52-67. (2010).
228. Zoghebi, K.A., et al., “Design and biological evaluation of colchicine-CD44-targeted peptide conjugate in an in vitro model of crystal induced inflammation”, *Molecules*, 25(1): p. 46 (2020).
229. Serel, T.A., F. Özgüner, and S. Soyupek, “Prevention of shock wave-induced renal oxidative stress by melatonin: an experimental study”, *Urological research*, 32(1): p. 69-71 (2004).
230. Zhao, P., et al., “Pharmacological basis for use of Selaginella moellendorffii in gouty arthritis: antihyperuricemic, anti-inflammatory, and xanthine oxidase inhibition”, *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2017. (2017).
231. Jiang, X.-L., et al., “Plasma paraoxonase-1, oxidized low-density lipoprotein and lipid peroxidation levels in gout patients”, *Cell biochemistry and biophysics*, 61(2): p. 461-466 (2011).

232. Ates, O., et al., “Effect of pinealectomy and melatonin replacement on morphological and biochemical recovery after traumatic brain injury”, *International journal of developmental neuroscience*, 24(6): p. 357-363 (2006).
233. Shi, H., et al., “Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L). Pers.] by exogenous melatonin”, *Journal of experimental botany*, 66(3): p. 681-694 (2015).
234. Kumar, M., et al., “Baicalein protects isoproterenol induced myocardial ischemic injury in male Wistar rats by mitigating oxidative stress and inflammation”, *Inflammation Research*, 65(8): p. 613-622 (2016).
235. Acharya, C., A. Sharma, and N. Kantharia, “Involvement of oxidative stress in patients of gout and antioxidant effect of allopurinol”, *Int J Med Sci Public Health*, 4(2): p. 168-72 (2015).
236. Ruiz-Miyazawa, K.W., et al., “15d-PGJ 2-loaded nanocapsules ameliorate experimental gout arthritis by reducing pain and inflammation in a PPAR-gamma-sensitive manner in mice”, *Scientific reports*, 8(1): p. 1-13 (2018).
237. Reiter, R.J., “Functional pleiotropy of the neurohormone melatonin: antioxidant protection and neuroendocrine regulation”, *Frontiers in neuroendocrinology*, 16(4): p. 383-415 (1995).

**EK AÇIKLAMALAR A.**

**ALFABETİK KAYNAK GÖSTERİMİ**



T.C.  
**ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**



**TOPLANTI TARİHİ** : 07/05/2020  
**TOPLANTI NO** : 2020/04

- 3- Karabük Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2020-10-07/05 protokol no'lu "Pinealektomi Yapılmış Sıçanlarda Monosodyum Ürat Kristal Kaynaklı Gut Artriti Üzerine Eksojen Melatoninin Etkileri" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

**ASLI GİBİDİR**

  
**Prof. Dr. Emine YILMAZ CAN**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı**

## **ÖZGEÇMİŞ**

Arwa Fadhil Haqi BALLUR ilk ve orta öğrenimini Irak'ta tamamladı. Tuz Kız Lisesinden mezun oldu. 2018 yılında Kerbala University Applied Medical Sciences bölümünden mezun oldu. 2022 yılında Karabük Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim dalında yüksek lisans programını tamamladı.