



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

UZMANLIK TEZİ



**RATLARDA DENEYSEL OSTEOARTRİT MODELİNDE OZON VE
HİPERBARİK OKSİJEN UYGULAMASININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. ONUR YILMAZ

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

UZMANLIK TEZİ

**RATLARDA DENEYSEL OSTEOARTRİT MODELİNDE OZON VE
HİPERBARİK OKSİJEN UYGULAMASININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. ONUR YILMAZ

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 10/04/2020

Tez Danışmanı:

Dr. Öğr. Üyesi Ali Bilge

İkinci Danışman:

Doç. Dr. Hüseyin Yener Erken

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı uzmanlığı çerçevesinde yürütülmüş
olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Dr. Onur Yılmaz'ın **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 10/04/2020

TEZ KONU BAŞLIĞI

Ratlarda Deneysel Osteoartrit Modelinde Ozon ve Hiperbarik Oksijen
Uygulamasinin Karşılaştırılması

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ali BİLGE
İkinci Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hüseyin Yener ERKEN

Tez Jürisi Üyeleri:
Adı Soyadı

Doç. Dr. Hüseyin Yener Erken

Dr. Öğr. Üyesi Ali BİLGE

Dr. Öğr. Üyesi Burak GÜNAYDIN

İmzası

.....

.....

.....

ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim
Kurulunun 30.10.4.12020 tarih ve 1..16...10.2... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tamer Demir
Dekan


İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

TAAHHÜTNAME

Uzmanlık tezi olarak sunduğum "Ratlarda Deneysel Osteoartrit Modelinde Ozon ve Hiperbarik Oksijen Uygulamasının Karşılaştırılması " adlı çalışmanın tarafımdan bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve bunu onurumla doğrularım.

Tarih 10/04/2020

Dr. Onur Yılmaz



TEŞEKKÜR

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'nda ihtisas eğitimim süresince, bilgi ve deneyimi ile teorik ve pratik olarak bana kazandırdığı mesleki becerilerin yanı sıra hastalarımıza olan yaklaşımı ile bana daima örnek olan saygıdeğer tez danışmanı hocalarım sayın Dr. Öğr. Gör. Ali BİLGE ve Doç. Dr. H. Yener ERKEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle her zaman bana örnek olan ve üzerimde büyük emekleri olan saygıdeğer hocalarım Doç.Dr. Burak KAYMAZ, Dr. Öğr. Üyesi Gürdal NUSRAN, Dr. Öğr. Üyesi Tolgahan KURU ve Dr. Öğr. Üyesi Sedit Murat Kıvançlı 'ya teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimine başladığım Bağcılar E.A.H Ortopedi ve Travmatoloji Kliniğindeki hocam Prof. Dr. M. Akif Güleç'e ve klinikte bana her daim destek olan abilerim ve arkadaşlarım Dr. Oktay Adanır, Dr. Y. Mahsut Dinçel, Dr. Yılmaz Eren, Dr. Erdinç Genç, Dr. Tolgahan Atçı, Dr. Abdurrahman Acar, Dr. Hakan Özbay, Dr. Fatih Taşçı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan büyük mutluluk ve onur duyduğum ÇOMÜ Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniğindeki asistan abilerim ve arkadaşlarım Dr. Hasan Keser, Dr. Umman Menendi, Dr. Ramazan Tıskaoğlu, Dr. Murat Bilgin, Dr. Ali Osman Taşova, Dr. Doğukan Anapa, Dr. Görkem Çıkrıkçıoğlu, Dr. Mert Karşlı, Dr. K. Arda Mirel, Dr. Özgün Özarı, Dr. Çağrı Şataflı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde sağladığı katkıdan ötürü Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine, hayvan deneylerindeki katkıları ve yardımlarından dolayı Vet. Hek. Sait Elmas'a ve Ufuk Demir'e teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca beni her zaman destekleyen, bu zorlu sürece benimle birlikte katlanan ve her türlü fedakârlığı yapan sevgili eşim Menije Balyemez Yılmaz'a;

Hayatımıza girdiği andan itibaren varlığıyla bize mutluluk yaşatan ve büyük çaba harcayarak bitirdiğim tıpta uzmanlık bitirme tezimi kendisine armağan ettiğim biricik oğlum Eymen Efe'ye;

Bugünlerime gelebilmemi onlara borçlu olduğum, hayatımın kısa bir anında yanımda olabilen, her zaman özlemini duyduğum ve eksikliğini hissettiğim rahmetli babama, tüm hayatım boyunca benden her türlü desteğini ve sevgisini esirgemeyen kıymetli anneme; her zaman yanımda olan sevgili abilerim ve ablalarım Türkan, Hayrettin, Ali, Nurdan ve Özkan'a sonsuz teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunuyorum.

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: TTU-2019-3122.

Onur YILMAZ
Çanakkale, NİSAN 2020

SİMGELER VE KISALTMALAR

OA	Osteoartrit
HBO	Hiperbarik Oksijen
O3	Ozon
ESM	Ekstraselüler Matriks
GAG	Glikozaminoglikan
KOMP	Kıkırdak Oligomerik Matriks Protein
ÖÇB	Ön Çapraz Bağ
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
KMY	Kemik Mineral Yoğunluğu
KMP	Kemik Morfojenik Protein
IL	İnterlökin
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
TGF	Transforme Edici Büyüme Faktörü
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
MMP	Matriks Metalloproteinaz
PG	Prostaglandin
LTB4	Lökotrien B4
HT	Hemotransfüzyon
SH	Sülfhidril
ROT	Reaktif Oksijen Türevleri
LOÜ	Lipid Oksidasyon Ürünleri
NO	Nitrik Oksit
OSP	Oksidatif Şok Proteinleri
RA	Romatoid Artrit
ÇOMÜ	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

ÖZET

RATLARDA DENEYSEL OSTEOARTRİT MODELİNDE OZON VE HİPERBARİK OKSİJEN UYGULAMASININ KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Onur YILMAZ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ali BİLGE

İkinci Danışman: Doç. Dr. Hüseyin Yener Erken

10/04/2020

Amaç: Bu çalışmada ratlarda geliştirilen deneysel osteoartrit (OA) modelinde ozon (O₃) ve hiperbarik oksijen (HBO) tedavilerinin kıkırdak dokusu üzerindeki etkilerini histopatolojik yöntemle incelemeyi amaçladık.

Materyal ve Metod: 27 adet Wistar Albino cinsi erkek rat, sağ diz eklemlerine deneysel OA oluşturmak için artrotomi yapılarak ön çapraz bağ (ÖÇB)'leri kesilerek O₃, kontrol (K) ve HBO olmak üzere üç gruba ayrılıp numaralandırıldı. Tüm gruplardaki ratların sol diz eklemlerine ÖÇB kesisi yapılmadan sadece artrotomi yapılarak negatif kontrol olarak kaydedildi. Yapılan cerrahiye takiben 2. haftanın sonunda K grubuna herhangi bir tedavi verilmezken, O₃ grubuna günde 1 kez intraperitoneal 30 µg 2ml O₃, HBO grubuna günde 2 kez 60 dakika HBO tedavisi 3 hafta boyunca verildi. Ratlar 10. haftada sakrifiye edilerek her iki diz eklemi kıkırdak dokusu histopatolojik olarak değerlendirildi. Diz eklemi medial kompartmanı kıkırdak dokusunun lezyonlarının histopatolojik ve histopatolojik evrelemede Mankin skorlama sistemi, kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak gruplar arasında karşılaştırıldı.

Bulgular: ÖÇB kesisi yapılan sağ dizlerde femur medial kondilde gelişen lezyonların değerlendirilmesiyle elde edilen ortalama Mankin skorları K grubunda 8,2±2,22, HBO grubunda 6,22±1,56 ve O₃ grubunda 4,67±1,32 olarak saptandı. Femur medial kondil kıkırdak dokusu için yapılan Mankin skorlamasından elde edilen puanlar gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, HBO grubu ile K grubu arasında fark saptanmadı (p: 0,086). O₃ ve HBO deney grupları ile O₃ ve K deney grupları arasında anlamlı fark

mevcuttu ((p: 0,033, p:0,001). O3 grubu hem K hem de HBO grubundan Mankin skorları açısından yapılan değerlendirmede daha düşük skorlara sahipti ve istatistiksel olarak bu fark anlamlı olarak bulundu.

Çıkarımlar: Bu çalışmanın sonuçlarına göre, O3'ün kıkırdak hasarının gelişimini azaltmada ve dejeneratif sürece yol açan mekanizmanın önlenmesinde etkili olduğu düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: Deneysel Osteoartrit Modeli, Hiperbarik Oksijen, Osteoartrit, Ozon



ABSTRACT

COMPARISON OF OZONE AND HYPERBARIC OXYGEN TREATMENT ON EXPERIMENTAL OSTEOARTHRITIS MODEL IN RATS

Dr. Onur Yılmaz

Çanakkale Onsekiz Mart University

Faculty of Medicine

Thesis

Thesis in Medical Specialty

Advisor: Asist. Prof. Dr. Ali BİLGE

Co-Advisor: Assoc. Prof. Dr. H. Yener ERKEN

10/04/2020

Objective: In this study, we aimed to investigate the effects of ozone (O₃) and hyperbaric oxygen (HBO) treatments on cartilage tissue in his experimental osteoarthritis (OA) model by using histopathological method.

Methods: 27 Wistar Albino male rats were divided into three groups as O₃, control (K) and HBO, by performing an arthrotomy to create experimental osteoarthritis to the right knee joints. Anterior cruciate ligament transection (ACLT) was performed to create experimental OA in the right knees of 27 male rats. Rats in all groups were recorded as negative control by performing an arthrotomy without performing anterior cruciate ligament (ACL) transection to the left knee joints. Following the surgery, at the end of the 2nd week, no treatment was given to the K group, while the O₃ group received intraperitoneal 30 µg 2ml of O₃ once a day, and the HBO group for 60 minutes twice a day for 3 weeks. The rats were sacrificed at the 10th week and cartilage tissue of both knee joints was evaluated histopathologically. The medial compartment of the knee joint was evaluated using the Mankin scoring system for histological and histopathologic staging of the lesions of cartilage tissue. The obtained results were statistically compared around the groups.

Results: The average Mankin scores obtained by evaluating the lesions developing in the femur medial condyle in the right knees with ACL incision were found to be 8.2 ± 2.22 in the K group, 6.22 ± 1.56 in the HBO group and 4.67 ± 1.32 in the O₃ group. When the scores obtained from the Mankin scoring for the femoral medial condyle cartilage tissue

were compared among the groups, there was no difference between the HBO group and the K group ($p > 0.086$). There was a significant difference between O3 and HBO experimental groups ($p: 0.033$). There was a significant difference between O3 and K experimental groups ($p: 0.001$). The O3 group had lower scores in both the K and HBO group in terms of Mankin scores and statistically significant difference was found.

Conclusions: According to the results of this study, O3 was thought to be effective in reducing the development of cartilage damage and preventing the mechanism leading to the degenerative process.

Keywords: Experimental Osteoarthritis Model, Hyperbaric Oxygen, Osteoarthritis, Ozone



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
TABLolar DİZİNİ	xiv
RESİMLER DİZİNİ	xv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER.....	1
2.1. Hareketli (Sinovyal/Diartrodiyal) Eklemlerin Anatomisi	3
2.2. Kıkırdak Tipleri	3
2.3. Kıkırdak Embriyolojisi.....	4
2.4. Eklem Kıkırdağı.....	5
2.4.1. Eklem Kıkırdağının Yapısı	6
2.4.2. Kondrositler.....	9
2.4.3. Ekstraselluler Matriks	11
2.4.4. Ekstraselüler Matriksin Bölgeleri.....	11
2.4.5. Su.....	12
2.4.6. Kollajen.....	13
2.4.7. Proteoglikanlar	13
2.4.8. Nonkollajenöz Proteinler ve Glikoproteinler	15
2.5. Kıkırdak Dokunun Biyomekaniği.....	15

2.6. Ön Çapraz Bağın Genel Özellikleri	17
2.7. Osteoartrit	18
2.7.1. Osteoartrit Epidemiyolojisi	19
2.7.2. Osteoartritin Risk Faktörleri	20
2.7.3. Osteoartrit Patofizyolojisi	23
2.8. Ozon	25
2.8.1. Ozonun Tanımı	25
2.8.2. Ozonun Etki Mekanizması	26
2.8.3. Medikal Ozon Kullanımı	29
2.8.4. Ozon Terapinin Klinik Uygulamaları	30
2.8.5. Ozon Terapinin Kullanım Alanları	30
2.8.6. Osteoartrit Tedavisinde Ozonun Kullanımı	31
2.8.7. Ozon terapinin Yan Etkileri ve Kontrendikasyonları	33
2.9. Hiperbarik Oksijen	34
2.9.1. Hiperbarik Oksijen Tanımı ve Tarihçesi	34
2.9.2. Hiperbarik Oksijenin Etki Mekanizması	34
2.9.3. Hiperbarik Oksijen Tedavisi Endikasyonları	35
2.9.4. Hiperbarik Oksijen Tedavisi Kontrendikasyonları	35
2.9.5. Hiperbarik Oksijen Tedavisi Komplikasyonları	36
2.9.6. Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Ortopedik Uygulamaları	36
2.10. Osteoartrit Çalışmalarında Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri	40
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE YÖNTEM	43
3.1. Çalışma Planı	43
3.2. Deneysel Osteoartrit Modelinin Oluşturulması	44
3.3. Ozon Uygulaması	47
3.4. Hiperbarik Oksijen Uygulaması	47

3.5. Histopatolojik Değerlendirme	48
3.6. İstatiksel Analiz	49
BÖLÜM 4	
BULGULAR.....	50
4.1. Klinik Bulgular.....	50
4.2. Histopatolojik Değerlendirme Bulguları	50
4.2. İstatiksel Değerlendirmeler	59
BÖLÜM 5	
TARTIŞMA	62
BÖLÜM 6	
ÇIKARIMLAR	72
KAYNAKLAR	I
ÖZGEÇMİŞ	XVII

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Hyalin kıkırdağın yapısı	4
Şekil 2. Elastik kıkırdağın yapısı	4
Şekil 3. Fibröz kıkırdağın yapısı	4
Şekil 4. Eklem kıkırdağının tabakaları.....	7
Şekil 5. O3 tedavisinin etkileri.	29
Şekil 6. Grupların Mankin skorları dağılım grafiği	54



TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Kıkırdak metabolizmasında rol oynayan sitokinler	24
Tablo 2. Kanın ozonlanmasının vücutta bilinen etkileri.....	28
Tablo 3. Deney hayvanları dağılım tablosu.	43
Tablo 4. Mankin skorlaması.....	49
Tablo 5. ÖÇB kesilmeden sadece artrotomi sol dizlerin patolojik inceleme sonuçları.....	51
Tablo 6. ÖÇB kesilen sağ dizlerin patolojik değerlendirme sonuçları.....	52
Tablo 7. Grupların histopatolojik incelemelerinin Mankin skorlamasına göre ortalama sonuçları.....	54
Tablo 8. Grupların ÖÇB kesilen sağ dizlerinin ve ÖÇB kesisi yapılmayan sol dizlerinin Mankin Skorlarının P değerleri.....	59
Tablo 9. Grupların ÖÇB kesilen sağ dizlerinin Mankin skorlarına göre P değerleri.....	60

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

Resim 1. Orta hattan uygulanan longitudinal cilt insizyonu	45
Resim 2. Ratın diz eklemine artrotomi yapılarak ÖÇB'nin görülmesi.....	46
Resim 3. ÖÇB'nin kesilmesi	46
Resim 4. ÖÇB kesisi sonrası ön çekmece testi ile muayenesi	47
Resim 5. Tıbbi ozon jeneratörü	47
Resim 6. HBO basınç odası.....	48
Resim 7. Ratların basınç odasına yerleştirilmesi.....	48
Resim 8. K grubu, ÖÇB kesilmeden sadece artrotomi yapılan sol diz.	55
Resim 9. HBO grubu, ÖÇB kesilmeden sadece artrotomi yapılan sol diz.	55
Resim 10. Ozon grubu, ÖÇB kesilm eden sadece artrotomi yapılan sol diz.	56
Resim 11. K grubu, ÖÇB kesisi yapılan sağ diz,	56
Resim 13. HBO grubu, ÖÇB kesisi yapılan sağ diz.	57
Resim 14. HBO grubu, ÖÇB kesisi yapılan sağ diz.	58

BÖLÜM 1

GİRİŞ ve AMAÇ

Eklem kıkırdağının normal kıkırdak yapı ve fonksiyonunun ilerleyici kaybı sonucu oluşan, eklem kıkırdağı ve subkondral kemikte yıkım ve yapım arasındaki normal dengenin bozulması sonucu gelişen dinamik bir hastalık süreci olarak tanımlanan primer OA'da kıkırdak harabiyetini yavaşlatacak ve tedavinin son basamağı olan total eklem replasmanı uygulamasını geciktirecek kıkırdak koruyucu tedavilerin geliştirilmesi amacıyla günümüzde birçok araştırma yapılmaktadır.¹⁻³ OA'da bozulan bu yapım yıkım dengesinin yeniden oluşturulmasını sağlayabilecek ajanların geliştirilmesi ise yüksek maliyet ve ileri teknoloji gerektirmektedir. Eklemde meydana gelen kıkırdak hasarının kendi kendine iyileşme ihtimali avasküler yapısından dolayı çok sınırlıdır.^{4,5} Bu nedenle travmatik veya dejeneratif nedenlerle oluşabilen kıkırdak hasarının tedavi seçenekleri birçok konservatif veya invaziv yöntemlerin yanı sıra yeni tedavi modalitelerini de içermektedir.

Tıbbi O₃ belli bir akımda saf tıbbi oksijenin yüksek elektriksel voltaja tabi tutulmasıyla elde edilir. Son yıllarda özellikle neoanjiyogenez sonrası oksijenizasyonda artış, anti-inflamatuvar özellikleri ve antinosiseptif sistem stimülasyonu ile sağladığı analjezi gibi birtakım etkileri nedeniyle intraartiküler uygulanan O₃ enjeksiyonu OA tedavisinde yer bulmuştur.⁶ O₃ özellikle sinovyal dokuyu stimüle ederek kıkırdak tamirini desteklerken, diğer yandan eklem içi vasküler yapılardaki kompresyonu ve stazı azaltarak mikro-sirkülasyonu ve oksijenizasyonu sağladığı için nöronal hipoksiye bağlı ortaya çıkan ağrıyı azaltmaktadır.⁷ O₃'ün eklem içinde anti-inflamatuvar etkinliği pro-inflamatuvar prostaglandin (PG) sentezini baskılaması, bradikinin salınımını inhibe etmesi ve pro-inflamatuvar sitokin antagonistleri salınımını arttırmasına bağlı ortaya çıkmaktadır.⁸ Literatürde tıbbi O₃'le ilgili yapılmış olan randomize kontrollü çalışma çok az sayıda olduğundan, tedavi sonuçlarına ilişkin genel çıkarımlarda bulunmak henüz oldukça zordur. Mevcut klinik çalışmalarda, eklem ve omurga OA'da O₃ tedavisi sonrası ağrıda rahatlama sağladığı iddia edilmektedir.^{9,10} O₃, etkisi ve özellikleri açısından doz bağımlı bir tedavi ajanıdır ve bir doz / etki oranına sahiptir. Fakat belli endikasyonlar için önerilen uygulama dozları ve şekli ile ilgili kılavuzlar olsa da günümüzde uygulanacak O₃ gazı dozu, gaz hacmi, seans sayısı ve sıklığı konusunda varılan bir görüş birliği henüz yoktur.^{11,12}

HBO tedavisi veya hiperoksijenasyon, medikal bir durumu tedavi etmek için kapalı bir basınç odasında 1 atmosferden (1 ATA=760 mmHg) daha yüksek basınç altında,

maske, başlık veya endotrakeal tüp aracılığı ile aralıklı olarak %100 oksijen solutmak sureti ile uygulanan bir tedavi yöntemidir.¹³ HBO tedavisi doku üzerindeki etkilerini hiperoksijenasyon, neovaskülarizasyon, antimikrobiyal aktivite, basınç etkisi, vazokonstrüksiyon ve reperfüzyon hasarının azaltılması aracılığı ile yapar.^{13,14} Bu özellikleri sayesinde birçok hasarlı doku tamirinde kullanımları mümkündür. HBO, nekrotizan yumuşak doku enfeksiyonları, akut travmatik iskemi, ezilme yaralanması, kompartman sendromu, problemlili yaralar, sorunlu cilt greftleri ve flepler, refrakter osteomyelit, osteonekroz, spor yaralanmaları, kırık iyileşmesi, sinir iyileşmesi gibi birçok ortopedik hastalıkta başarılı uygulama sonuçları vardır. Diğer yandan bazı endikasyonlarda ise, mevcut kanıtların zayıflığı ve randomize kontrollü çalışmaların eksikliği nedeniyle, HBO tedavisinin etkinliğini belirlemek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.¹⁵ HBO'nun kırıkta doku üzerinde etkisine yönelik literatürde birçok araştırma yapılmıştır ve bu araştırma sonuçlarında HBO'nun kırıkta doku üzerinde olumlu etkilerine yönelik bulgular elde edilmiştir fakat yapılan araştırmalar daha çok prelinik çalışmalara dayanmakta ve sınırlı sayıdadır.^{16,17,18}

Bu çalışmalar ışığında ve literatür taramalarında güncel tedavi metotlarının kırıkta hasarı tamirinde yeterli olmadığı görülmekte, HBO ve O₃ uygulamasına yönelik çalışmaların daha çok mesafe kat edeceğini tahmin etmekteyiz. Bu çalışmada ratlarda oluşturulan deneysel OA modelinde O₃ ve HBO tedavisinin eklem kırıktağı üzerine etkisinin histopatolojik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

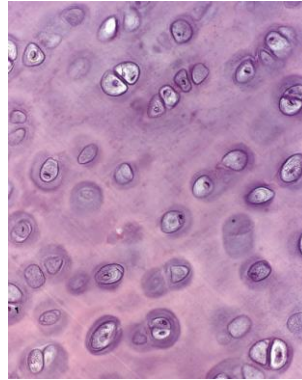
2.1. Hareketli (Sinovyal/Diartrodiyal) Eklemlerin Anatomisi

Diartrodial eklemler (sinovyal eklemler-hareketli eklemler) canlıların kas-iskelet sisteminde hareketi sağlayan yapılardır. Tüm diartrodiyal eklemlerin bazı ortak yapısal özellikleri vardır. Birincisi genellikle bağlarla güçlendirilen güçlü bir fibröz kapsül içinde yerleşirler. İkincisi sahip oldukları kapsül sinovyum adı verilen ve sinovyal sıvıyı salgılayarak eklem lubrikasyonunu sağlayan metabolik olarak aktif bir doku ile kaplıdır. Üçüncü olarak, eklemi oluşturan kemiklerin uçları hiyalin kıkırdak ile kaplı olup birbirlerinden eklem boşluğu adı verilen boşluk ile ayrılmıştır. Eklem boşluğu, fibröz membran, ligamentler ve tendonlar tarafından sınırlandırılır. Eklem boşluğunda eklem lubrikasyonunu sağlayan ve sinovyal membran tarafından üretilen sinovyal sıvı ile mevcut olup bu ayrıca avasküler kıkırdakta bulunan kondrositlerin beslenmesini sağlamaktadır.¹⁹ Bazı sinovyal eklemlerin yapısında, eklem stabilitesinin korunması ve eklem üzerindeki basıncı azaltma görevini üstlenen menisküs veya labrum adı verilen yapılar da mevcuttur.²⁰

2.2. Kıkırdak Tipleri

Memelilerdeki kıkırdak doku histolojik olarak ekstraselüler matriks (ESM)'nin içerdiği kollajen tipine ve dağılımına göre üç alt gruba ayrılırlar.²¹

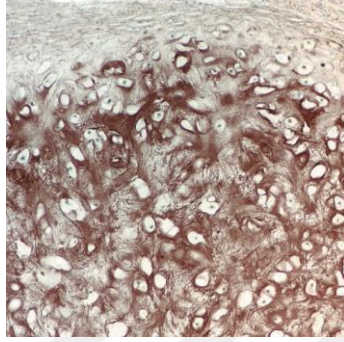
2) **Hiyalin kıkırdak;** Kıkırdak doku matriksinde yoğun olarak glikozaminoglikan (GAG)'ların olduğu ve insan vücudunda en sık görülen kıkırdak tipidir. Eklem yüzeylerinde bulunan ve endokondral kemiklerin embriyonik dönemindeki kıkırdak doku hiyalin kıkırdak yapısındadır.²¹ Matrikslerinde, tip II kollajen lifleri mevcuttur ve



makroskopik olarak açık mavi saydam renklidir (Şekil 1.).

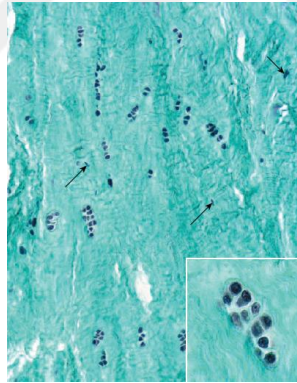
Şekil 1. Hiyalin kıkırdağın yapısı²¹

2) Elastik kıkırdak; ESM’de tip II kollajene ek olarak elastik lifler içeren kıkırdak tipidir. Dış kulak, östaki tüpü ve epiglottiste bulunur²¹ (Şekil 2.).



Şekil 2. Elastik kıkırdağın yapısı²¹

3) Fibröz kıkırdak; ESM’de tip 1 kollajen birikimi ile birlikte organize olmuş fibröz doku içerir. İntervertebral disk, menisküs ve temporomandibular eklem fibröz kıkırdak yapısındadırlar.²¹ (Şekil 3)



Şekil 3. Fibröz kıkırdağın yapısı²¹

2.3. Kıkırdak Embriyolojisi

Tüm bağ dokuları gibi kıkırdak dokusu da mezenkim dokusundan köken alarak gelişir.¹⁵ Kıkırdak doku gelişimi, kıkırdağın yoğun mezenkim dokusundan oluştuğu bir süreç olup bazı mezenkim hücrelerinin blastema oluşturmak üzere toplanmasıyla gebeliğin 5. haftasından itibaren gelişir. Blastema hücrelerinin kıkırdak matriksi salgılamaya başlaması ve ilerleyen aşamalarda üretilen hücre dışı matriks, hücreleri yavaş yavaş ayırırlar. Blastema hücreleri daha sonra kondroblastlara farklılaşarak kıkırdak matriksini oluşturan molekülleri salgılamaya başlarlar. Bu özelleşmiş matriksle örtülen kondroblastlar

ileriki aşamada kendilerine ait küçük hücresel kompartmanlara yerleşerek kondrositlere dönüşürken blastemayı çevreleyen mezenkimal doku ise perikondrium adı verilen zarı oluşturur.^{21,22}

Kıkırdağın gelişimi aposizyonel ve interstisyel olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir.²¹ Apozisyonel büyüme perikondriumda, interstisyel büyüme ise kıkırdağın iç kısmında gerçekleşir. İntertisyel büyümede kıkırdak içerisindeki kondrositler mitoz bölünme ile çoğalarak matriks üretirler. İntertisyel büyüme hiyalin kıkırdağın oluşumu esnasında ve kemiğin boyuna uzamasına neden olan epifiz plağında görülür. Apozisyonel büyümede perikondriumdaki kondrojenik hücrelerin bölünerek kondroblastlara farklılaşmasıyla oluşur. Kondroblastlarda kıkırdak matriksi sentezleyerek büyüme sağlar ve kondrositlere dönüşürler.^{21,23,24} Her iki tür kıkırdaklaşma da gelişim çağına kadar devam eder fakat aposizyonel büyümeyi sağlayan perikondriumun kondrojenik özelliği devam ederek herhangi bir kıkırdak hasarı durumunda rejenerasyonu sağlar.²¹

2.4. Eklem Kıkırdağı

Eklem kıkırdağı diartrodiyal yapıdaki eklemlerde bulunan, hiyalin kıkırdak yapısında, subkondral kemiği kaplayan ve çok iyi derecede özelleşmiş bir bağ dokusudur.^{25,26} Hiyalin kıkırdak sinovyal eklem kavitesine bitişik eklem yüzeyini oluşturmakta olup ağırlıklı olarak tip 2 kollajen, proteoglikan ve kollajen olmayan bir ağın içerisinde bulunan kıkırdak hücrelerinden oluşan ileri derecede farklılaşmış bir dokudur.²⁶ Eklem kıkırdağı sinovyal sıvı ile birlikte diartrodiyal eklemlerde sürtünme katsayısını azaltarak pürüzsüz denecek kadar düz, kaygan ve neredeyse sürtünmesiz bir eklem yüzeyi sağlayarak eklem binen yükü absorbe eden ve eklemi mekanik stresten koruyan son derece dayanıklı bir dokudur.²⁷⁻²⁹

Eklem kıkırdağının kalınlığı hücre yoğunluğu, ağ yapısı ve mekanik özellikleri türler arasında, aynı türün farklı eklemlerinde ve aynı eklemde değişik bölgeleri arasında dahi farklılık gösterebilir ve en kalın olduğu insan diz eklemde bile kalınlığı 1 cm 'in altında olup ince yapısına rağmen basıya dayanıklıdır.²⁷ Yüklenme sırasında eklemde oluşan kompresyona karşı direnç göstererek üzerine binen yükleri eklem yüzeyine eşit olarak dağıtarak ve subkondral kemiğe aktarılan yükü önemli ölçüde soğurarak azaltır. Böylece yükü subkondral kemiğe yayarak eklem yüzeyindeki stresi azaltır ve eklem hareketlerini stabilize eder. Diğer yandan eklem lumbrikasyonuna katılır ve sürtünmeyi azaltarak ağrısız bir hareket sağlar.^{25,27,30,31}

Eklem kıkırdağı kan damarları, lenfatikler ve sinirlerden yoksundur ve vasküler ağa sahip olmadığından dolayı sinovyal sıvıdan difüzyonla beslenirler ve bu nedenle enerji elde etmede anaerobik metabolik yolağı kullanırlar. ^{26,32} Eklem kıkırdağı iyileşme ve onarım için sınırlı bir kapasiteye sahip olmasının yanında metabolik olarak yavaş aktivitesine ve maruz kaldığı ağır fiziksel yüke rağmen özelliklerini ve fonksiyonlarını uzun yıllar sürdürebilen bir dokudur. ^{26,30}

2.4.1. Eklem Kıkırdağının Yapısı

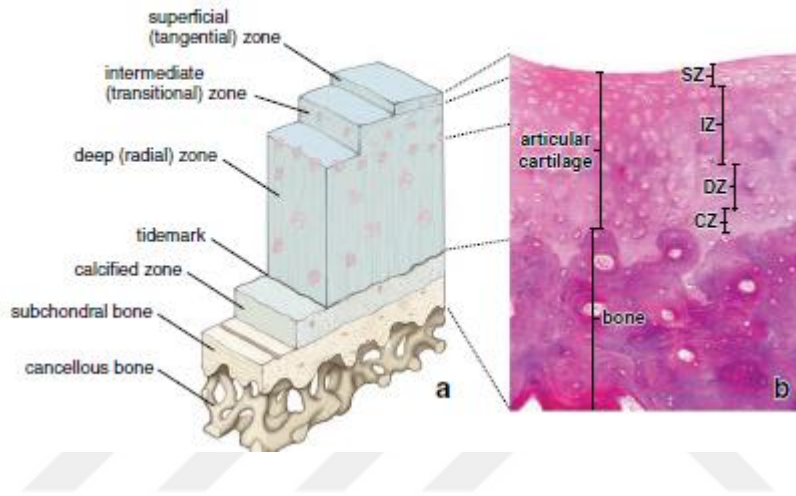
Eklem kıkırdağı, su dolu bir makro moleküler ağdan oluşan ESM içine yerleşmiş olan kondrositlerden oluşur. ESM yapısında %65-80 oranında su, %10-20 kollajen, %10-20 proteoglikanlar ve daha düşük oranda proteinler ve glikoproteinler bulunmaktadır. ^{28,31}

Kondrositler eklem kıkırdağının toplam hacminin sadece %2'sini ve ıslak ağırlığının ise %5'ini oluştururlar. ³¹ Kıkırdak ESM'nin sentezlenmesinden ve korunmasından sorumludurlar. Düşük turnover hızları ve eklem kıkırdağında seyrek olarak dağılımları hücreden hücreye temaslarının daha az olmasına neden olur. Metabolik olarak aktif olan kondrositler, büyüme faktörleri ve mekanik etkenler gibi uyaranlara yanıt verme yeteneğine sahiptir ve bu sayede anabolik ve katabolik süreçte yer alırlar. ^{5,31}

Eklem kıkırdağının avasküler yapısı nedeniyle kondrositler oksijen ve besin ihtiyacını sinovyal sıvıdan basit difüzyonla karşılarlar. ^{4,5} Besin maddeleri sinovya ve sinovyal sıvıdan kıkırdak matriksine difüzyonla geçer. Kondrositlere difüzyonla besinlerin ve oksijenin taşınması işlemi sıvı fazı ve katı faz olmak üzere iki fazdan oluşan çift difüzyon sistemi ile olur. Öncelikle sinovyal dokunun dış kısmı daha kanlı olduğundan sinovyal dokudan sinovyal sıvıya difüzyon olur. Oradan da besinlerin kıkırdaktaki membrandan 6-8 mikrometrelik porlardan geçilerek kondrositlere ulaştırıldığı ikinci bir difüzyon olur. Ayrıca aktif transport ve aralıklı yüklenmenin yaptığı pompalama da beslenmelerinde önemli bir yer tutar. ^{4,5,33} Kondrositlerin beslenmesi için, aralıklı mekanik güç uygulanması gerekir. Yük altında iken intertisyel sıvı matriksten dışarı akarken yük kalktığında, besin içeren sıvı matriks içine geri döner. Yüklenme değişiklikleri, matriksin yapısını artırmakta ve yanıt yükün sıklığına ve gücüne göre oluşmaktadır. ^{4,5} Diğer yandan eklem kıkırdağının avasküler yapısı kondrositlerin metabolizmasının anaerobik süreci izlemesine ve enerji gereksinimini birincil olarak glikolizle sağlamasına neden olur. ⁴ Eklem kıkırdağı, eklem yüzeyinden subkondral kemiğe kadar yapısal olarak kondrositler ve matriksteki morfolojik farklılıkları açıkça ayırt edilebilen ve bu yapısal özelliklerinin içerdiği karakteristiklere göre dört farklı tabakaya ayrılmıştır (Şekil 4). ^{4,28,31} Her bir

tabakanın kendine has özellikleri ve yapısı vardır. Her tabakadaki kondrositler bölgeden bölgeye farklı dizilime sahiptir. Ayrıca her bir tabakanın kollajen dağılımı, agregan ve sıvı dinamikleri her bölgede farklılık göstermektedir. ³⁴ Eklem kıkırdağının tabakaları;

- ❖ Yüzeysel tabaka
- ❖ Orta (geçiş-transizyonel) tabaka
- ❖ Derin (radiyal) tabaka
- ❖ Kalsifiye tabaka



Şekil 4. Eklem kıkırdağının tabakaları ²¹

1) Yüzeysel Tabaka

Yüzeysel tabaka, eklem yüzeyine paralel uzanan, sıkıca paketlenmiş kollajen liflerinden ve düzleşmiş elipsoid şekilli kondrositlerden oluşan ve eklem kıkırdağının yaklaşık %10-20'lik bölümünü oluşturan en ince tabakasıdır. ^{22,25,28} Yüzeysel tabakanın korunması, kıkırdağın daha derin bölgelerinin korunması için önemlidir. ²⁸

Yüzeysel tabaka hücre ihtiva etmeyen ve az miktarda poliskkarid içeren düzgün eklem yüzeyini kaplayan bir fibril tabakası olan lamina splendens ve daha derinde eklem yüzeyine paralel uzanan yassılaştırmış elipsoid şekilli kondrositleri içeren kısım olmak üzere iki bölümden oluşmaktadır. ³⁴

Eklem yüzeyinde bulunan özelleşmiş kondrositler superfisyal zon proteini adı verilen bir molekülü sentezler. ³⁵ Bu protein megakaryosit stimüle edici faktör ya da lubrisin olarakta bilinir. ³⁶ Lubrisin eklem kıkırdağının eklem yüzeyini saran bir film tabaka oluşturur ve neredeyse sürtünmesiz eklem yüzeyi oluşturarak eklem kayganlığının sağlanmasında önemli bir rol oynar. ^{22,36} Nitekim lubrisini sentezleyen PRG4 genindeki

mutasyona bağılı oluşan kamptodaktili-artropati-koksa vara-perikarditis sendromu büyük eklemlerde tahribata neden olan bir hastalıktır. ³⁷

Yüzeyel tabakadaki hücreler genellikle birbirine ve eklem yüzeyine paralel uzanan ince kollajen fibrillerinin çok kutuplu sıkı şekilde örgüsü ile çevrilidir. Eklem yüzeyine paralel uzanan tip 2 kollajen ve arasında bulunan Tip IX kollajen, bu tabakada kıkırdakta artmış gerilim ve makaslama kuvvetlerine karşı direnç oluşturmaktadır. ^{22,28,34}

Yüzeyel tabakadaki kondrositler, diğer kıkırdak tabakalarına oranla daha fazla kollajen (özellikle tip II ve tip IX) konsantrasyonu ve daha az proteoglikan konsantrasyonu olan matriks sentezlediğinden dolayı bu tabaka eklem en yüksek su oranına sahip tabakasıdır. Bu tabaka agrekan içeriğinin en düşük seviyede olduğu tabaka olup ³⁸ sinovyal sıvı ile kıkırdak arasındaki büyük moleküllerin geçişini sınırlayarak kıkırdak dokuyu, sinovyal doku immün sistemine karşı korumaktadır. ^{28,31,34}

2) Transizyonel Tabaka (Geçiş Tabakası)

Transizyonel tabaka eklem kıkırdağının toplam hacmin yaklaşık %40-60'ını oluşturan, yüzeyel ve derin tabaka arasında anatomik ve fonksiyonel olarak köprü oluşturan ve yüzeyel tabakaya göre daha düşük yoğunlukta hücre ihtiva eden kıkırdağın orta bölgesi olarak da bilinen geçiş tabasıdır. ²⁵ Bu tabaka daha yuvarlak şekilli kondrositler ve proteoglikan-agrekan açısından zengin geniş bir hücre dışı matrikse sahip olup, hiyalin kıkırdağın tipik morfolojik özelliklerine sahiptir. ^{25,26} Bu bölgedeki kollajen lifleri daha büyük çaplı, oblik şekilli ve daha düzensiz yerleşimlidir. ^{25,26,28} Yüzeyel tabakaya göre hücrelerde daha yüksek konsantrasyonda endoplazmik retikulum ve golgi organelleri mevcut olup daha fazla proteoglikan konsantrasyonu ihtiva ederken, daha düşük su konsantrasyonu ve kollajene sahiptir. ^{22,25}

Transizyonel tabakadaki kondrositlerin şekil değişikliği ve kollajen liflerinin dizilimi fonksiyonel olarak eklem gelen kompresyon kuvvetlerine karşı ilk direnç hattını oluştururlar. ²⁵ Transizyonel tabaka, esas olarak kompresyon kuvvetlerine karşı koyar fakat aynı zamanda yüzeydeki makaslama kuvvetleri ile daha derin katmanlardaki basınç kuvvetleri arasında bir geçiş görevi görürler ve bu sayede kompresyon kuvvetlerinin oluşturduğu enerjinin emilerek azaltılmasını sağlayarak kıkırdak dokunun dayanıklılığını artırır. ^{28,39} Bu tabakadaki hücreler, hacimlerini %40' a kadar azaltan kompresyon altında bile canlılığını koruyabilirler. ³⁹

3) Derin Tabaka ((Radyal Tabaka)

Derin tabaka, kalsifiye tabaka ve transizyonel tabaka arasında yer alır ve eklem

kıkırdağının %30'nu oluşturur. ²⁶ Hücre yoğunluğu en düşük seviyededir fakat bu tabakanın ESM'yi en yüksek agrekan-proteoglikan konsantrasyonuna ve en düşük konsantrasyonda su oranına sahiptir. En düşük kollajen içeriğine sahip olmasına rağmen kollajen fibril çapı en yüksek olan bölgedir. ³⁸ Bu tabakada kondrositler kolon şeklinde eklem yüzeyine dik olan kollajen fibrilleri boyunca hizalanırlar. ³⁴ Kondrositlerin ve kollajen liflerin bu şekilde dizilimi sayesinde kompresif kuvvetlere karşı doku direnci oluşturulmaktadır ve bu nedenle bu tabaka kompresif kuvvetlere karşı en yüksek direnci oluşturan tabakadır. ^{25,34}

4) Kalsifiye Tabaka

Kalsifiye tabaka derin tabakadan tidemark ya da kısmi kalsifiye tabaka olarak da adlandırılan bazik boyalara afinitesi olan ince bir kalsifiye kıkırdak bölgesi ile ayrılır. ^{4,22,26} Tidemark denilen yapı, kalsifiye olmayan kıkırdak ve subkondral kemik arasında ara mekanik özelliklere sahip bir tampon sağlar. ²⁶ Kalsifiye tabaka, derin tabakanın tidemarkı geçerek kalsifiye tabakaya kadar uzanan kollajen fibrillerini subkondral kemiğe tutturulmasında ve kıkırdağın kemiğe sabitlenmesinde önemli bir rol oynar. ²⁵

Kalsifiye tabaka düşük metabolik aktiviteye sahip, kalsifiye bir matriks içine yerleşmiş az sayıda hücre içermektedir. Bu hücreler daha küçüktür ve sadece birkaç organel içerirler. ^{4,26} Kalsifiye tabakadaki kondrositler, hipertrofik yapıda olmaları yanında Tip X kollajen sentezledikleri ve hücre dışı matriksi kalsifiye edebildikleri için özgün yapıda hücrelerdir. ^{22,25,26} Kemik oluşumundan farklı olarak, bu kalsifiye matriks gelişim aşamasında tam olarak emilmez ve genellikle vasküler invazyona direnirler. ²⁶ Tip X kollajen sentezi aynı zamanda kıkırdağın ciddi bir yapısal bütünlük göstermesini, kıkırdağa binen yüklere karşı direnç oluşturmasını ve subkondral kemikle kıkırdak dokunun birbirlerine çok iyi entegre olmalarını sağlamaktadır. ^{22,24}

2.4.2. Kondrositler

Kondrositler, kıkırdak dokuda bulunan ve seyrek olarak yerleşmiş ve son derece özelleşmiş hücrelerdir. ²² Mezenkimal kök hücrelerden köken alan kondrositlerin kıkırdakta yerleştikleri kompartmanlara ise lakün adı verilmektedir. ^{22,34} Kondrositler tüm matriks bileşenlerinin sentezinden, matriks metabolizmasının düzenlenmesinden, remodeling ve turnover'dan sorumludurlar. Kondrositlerin sağlıklı bir şekilde görevlerini yapmaları, hücre dışı matriksi sentezlemeleri ve hiyalin kıkırdağın çeşitli kısımlarına yaptıkları katkılar nedeniyle eklem kıkırdak sağ kalımının ayrılmaz bir parçasıdır. ^{4,22,34} Turnover hızları düşük olması ve eklem kıkırdağında seyrek olarak dağılmaları nedeniyle

hücre-hücre temasları çok azdır ve iskelet gelişimi tamamlandıktan sonra çok düşük oranda bölünürler.^{5,22,40} Kondrositler, farklı kıkırdak tabakalarında farklı büyüklüğe, şekillere ve farklı metabolik aktiviteye sahiptir fakat bütün hücreler matriks sentezi için gerekli olan endoplazmik retikulum ve golgi aygıtı gibi organellere sahiptirler.³⁰

Kondrositler, hücre dışı matriksle yakın bir etkileşim içinde olup büyüme faktörleri ve sitokinler için reseptörler içerirler. Bu sayede anabolik ve katabolik süreçte yer alan metabolik olarak aktif hücrelerdir ve bu nedenle büyüme faktörleri, IL'ler, farmasötik ajanlar, mekanik yüklenmeler, elektriksel uyarılar ve hidrostatik basınç değişiklikleri gibi uyarılara yanıt verme yeteneğine sahiptirler.^{5,22,34} Kondrositlerin hayatta kalmaları, büyüme faktörleri, mekanik yükler, hidrostatik basınçlar ve piezoelektrik kuvvetler dâhil olmak üzere uygun kimyasal ve mekanik ortama bağlı olup diğer yandan lokal parakrin etkilerinin de kondrojenik süreçleri yönlendirdiği gösterilmiştir.^{28,34}

Matriks devamlılığının sağlanması yapım ve yıkım sürecinin dengede olmasına bağlıdır. Bu nedenle matriksin yapım ve yıkımı kondrositler tarafından dikkatle bir şekilde düzenlenir.⁴ Kondrositler, bir taraftan matriks sentezlerken, diğer taraftan matriksi yıkan enzimleri salgırlar ve böylece kıkırdak dokunun normal dengesi sağlanmaktadır. Matriks turnover düzenlenmesinde anabolik ve katabolik sitokinlerin yanı sıra mekanik yüklenme etkili olsa da yeterli düzeyde anlaşılammıştır.⁴

Kıkırdak dokunun avasküler oluşu ve hipoksik bir ortamın mevcudiyetinden dolayı kondrositler temel olarak anaerobik hücrelerdir ve enerji gereksinimlerini temel olarak glikolizle sağlanmaktadır.³⁴ Diğer yandan bu avasküler yapı nedeniyle kondrositler oksijen ve besin ihtiyacını sinovyal sıvıdan basit difüzyonla karşırlar.^{4,5} Besin maddeleri sinovya ve sinovyal sıvıdan kıkırdak matriksine difüzyonla geçer. Kondrositlere difüzyonla besinlerin ve oksijenin taşınması işlemi sıvı fazı ve katı faz olmak üzere iki fazdan oluşan çift difüzyon sistemi ile olmaktadır. Taşıma işleminde öncelikle sinovyal dokudan sinovyal sıvıya difüzyon gerçekleşmektedir. Sonrasında ise kıkırdaktaki membranda bulunan 6-8 mikrometrelik porlardan geçilerek kondrositlere ulaştırıldığı ikinci bir difüzyon olur. Ayrıca aktif transport ve aralıklı yüklenmenin yaptığı pompalamada kıkırdak dokunun beslenmesinde önemli yer tutmaktadır.^{4,5,33} Kondrositlerin beslenmesi için, aralıklı mekanik güç uygulanması gerekir. Yük altında iken intertisyel sıvı matriksten dışarı akarken yük kalktığında, besin içeren sıvı matriks içine geri döner. Yüklenme değişiklikleri, matriksin yapımını artırmakta ve yanıt yükün sıklığına ve gücüne göre oluşmaktadır.^{4,5}

2.4.3. Ekstraselüler Matriks

Eklem kıkırdağının matriksi su ve dokuya biçimini, stabilitesini veren yapısal makromoleküller olmak üzere iki bileşenden oluşmaktadır. ESM'nin yapısındaki su ile makromoleküllerin etkileşimi, kıkırdak dokuya sertlik ve esneklik gibi mekanik özellikler kazandırır.³² Normal eklem kıkırdağında, su toplam ağırlığın %65 ile %80'ini oluşturur.⁴¹ ESM'nin ıslak ağırlığının yüzde 20 ile 40'ını oluşturan makromoleküller çerçeveyi ise kollajenler, proteoglikanlar ve kollajenöz olmayan proteinler oluşturmaktadır. Bu üç makromolekül sınıfı, doku içindeki konsantrasyonları ve doku özelliklerine katkıları bakımından farklılık gösterirler. Kıkırdağın kuru ağırlığının yaklaşık %60'ına kollajen, %25-35'ine proteoglikanlar ve %15-20 oranında ise kollajenöz olmayan proteinler ve glikoproteinler katkıda bulunur.³²

2.4.4. Ekstraselüler Matriksin Bölgeleri

ESM yapısal olarak kollajen yapısı ve dizilimi açısından gösterdiği varyasyonlara göre periselüler bölge, territorial bölge ve interterritorial bölge olmak üzere üç bölgeye ayrılır.^{22,32} Periselüler ve territorial bölgelerin görevi, kondrositlerin ihtiyaçlarına karşılama, hücre zarlarını matriks makromoleküllerine bağladığı ve hücreleri dokunun yüklenmesi ve deformasyonu sırasında hasardan korumak ve eklem yüklenmesi sırasında matriks deforme olduğunda mekanik sinyallerin kondrositlere iletilmesine de yardımcı olmaktır.³²

Periselüler matriks kondrosit yüzeyini halka şeklinde saran çok ince bir bölgedir. Kondrosit hücre zarı, hücre yüzeyini kaplayan periselüler matriksin ince kenarına yapışmaktadır. Bu bölge proteoglikanlar açısından zengin olup hücre zarı ile ilişkili molekül olan anchorin CII gibi nonkollajenöz proteinler ve tip VI kollajen gibi fibril olmayan kollajen içermektedir. Fibril kollajeni çok azdır veya hiç yoktur. Kondrositlerden gelen sitoplazmik uzantılar, perikelüler matriks içine ve territorial matrikse doğru uzanırlar.^{32,42-44}

Territorial matriks, birbirinden ayrı olarak bulunan kondrositlerin periselüler matriksini ve bazı yerlerde kondrosit çiftlerini veya kümelerini ve bunların periselüler matrikslerini çevreler.³² Hücreye en yakın territorial matriksin ince kollajen fibrilleri periselüler matrikse yapışmaktadır. Territorial bölgede kollajen lifler birbirini çaprazlayarak yoğun bir fibriller ağ oluştururlar. Bu kollajen ağ, dokunun yüklenmesi ve deformasyonu sırasında kondrositler için mekanik koruma sağlar. Kollajen fibril çapında ani bir artış ve fibrillerin ağ benzeri yöneliminden daha paralel bir düzenlemeye geçişi, territorial ve interterritorial arasındaki matrikse işaret eder. Bununla birlikte, birçok

kollajen fibril iki bölgeyi birbirine bağlar ve aralarındaki sınırı kesin olarak tanımlamayı zorlaştırır. ^{32,44} Territorial matriks kollajen fibrilleri kondrositleri çevrelemek için organize edilmemişlerdir ve eklem yüzeyine göre yönlerini yüzeyel tabakadan derin tabakaya doğru 90 derece değiştirirler. Yüzeyel tabakada fibriller nispeten küçük bir çapa sahiptir ve genellikle eklem yüzeyine paralel uzanırken transizyonel tabakada interterritorial matriksin fibrilleri eklem yüzeyine göre daha eğik açılar ile yerleşmişlerdir. Derin tabakada ise genellikle eklem yüzeyine dik uzanacak şekilde yerleşim gösterirler ^{22,30,32,44}

Interterritorial matriks, olgun eklem kıkırdağı hacminin çoğunluğunu oluşturur ve en fazla matriks hacmini oluşturan bölgedir. En büyük çapa sahip kollajen fibrillerini içerir ve proteoglikan açısından zengin bir bölgedir. ³² İnterterritorial matriksin birincil işlevi dokunun mekanik özelliklerini sağlamaktır.

2.4.5. Su

Kıkırdak dokuda intermoleküler alanlardaki boşluklar su ve çözünmüş elektrolitler ile doludur. ⁴¹ Eklem kıkırdağının su içeriği ıslak ağırlığa göre %60-%85 arasında değişir. ⁴⁵⁻⁴⁷ Bu suyun küçük bir yüzdesi hücre içi bölmede bulunur. Hücre dışı olarak bulunan intertisyel sıvının yaklaşık %30'u kollajen liflerinin intrafibriler bölmesinde ve geri kalanı proteoglikan moleküllerinin çözelti alanında bulunurlar. ⁴⁵ Doku sıvısı matriks makromolekülleri ile etkileşim halindedir. Bu etkileşim kıkırdak dokunun mekanik özelliklerini önemli ölçüde etkiler. Matriksteki suyun hacmi, konsantrasyonu ve davranışı büyük ölçüde yapısal makromoleküllere (özellikle suyun matriks içinde tutulmasına yardımcı olan büyük agregasyon proteoglikanlarına) ve sıvıdaki elektrolit konsantrasyonlarına bağlı oluşan birtakım nedenlere bağlıdır. ³² Bunlardan ilki intertisyel sıvı içinde çözünmüş toplam iyon konsantrasyonuna bağlı oluşan Donnan ozmotik basınç etkisi ve proteoglikanların neden olduğu sabit yük yoğunluğu (fixed charge density: proteoglikanların yapısındaki birbirine yakın yerleşimli olan negatif yük gruplarının itme kuvveti)'nin birlikte oluşturdukları şişme basıncıdır. İkincisi kollajen ağlarının anizotropik ve homojen olmayan dağılımı, üçüncüsü ise kollajen-proteoglikan katı matriksin malzeme özellikleridir. ^{41,47,48}

ESM'deki makromoleküller pozitif yüklü iyonları çeken ve negatif yüklü iyonları iten çok sayıda negatif yüklü sülfat ve karboksilat grubuna sahiptirler. Bu nedenle ESM'deki sodyum gibi pozitif iyonların konsantrasyonunu artırırken ve klorür gibi negatif iyonların konsantrasyonunu azaltırlar. Diğer yandan doku sıvısı, negatif yüklü proteoglikanları dengelemek için gazlar, küçük proteinler, metabolitler ve yüksek katyon konsantrasyonu (inorganik sodyum, potasyum ve kalsiyum tuzları) içerir. Pozitif yüklü

iyonlar, negatif yüklü proteoglikan bileşikleriyle etkileşerek doku biyomekaniğinde görev alırlar. Toplam inorganik iyon konsantrasyonundaki artış Donnan etkisine neden olarak dokunun ozmolaritesini artırırken ESM yapısındaki kollajen ağı ise bu oluşan (proteoglikanlarla ilişkili inorganik iyonların neden olduğu) Donnan ozmotik basıncına karşı koymaktadır.^{32,41,49}

ECM'deki suyun bir kısmı, doku içinde ve dışında serbestçe hareket edebilir. Bu durum kıkırdak dokudan özellikle kompresif kuvvetler altında suyun bir kısmının eklem aralığına geçmesine neden olurken diğer yandan dokunun beslenmesini, madde geçişini ve eklem kıkırdağının kayganlığını sağlamaktadır.^{25,30,32}

2.4.6. Kollajen

Kıkırdağın ıslak ağırlığının %20'sini oluşturan kollajen, ekstraselüler dokuda en fazla bulunan yapısal makromoleküldür ve kıkırdağın yüzeyel tabakası hariç tüm katmanları boyunca nispeten eşit olarak dağıtılır.^{22,25,32} Eklem kıkırdağı genetik olarak farklı yapıda özellikle tip II, VI, IX, X ve XI kollajenler olmak üzere çok sayıda kollajen tipleri içermektedir.^{32,41}

Tip II, IX ve XI kollajenlerin birbirlerini çaprazlayarak elektron mikroskobu ile görülebilen çapraz bantlı fibriller oluştururlar. Bu fibriller tüm kıkırdak boyunca kollajen fibriller ağ örgüsü oluşturarak kıkırdağa biçim ve gerilme mukavemeti verir.⁵⁰ Ayrıca eklem kıkırdağının doku gerginliğini ve mukavemetini sağlayarak kıkırdak dokuya binen yüklere karşı direnç oluşturulmasını sağlarlar.^{30,32,51} Ayrıca bu çapraz bağlanma sonucu büyük proteoglikanların mekanik olarak tutulmasıyla geniş çaptaki proteoglikanlar matriks içerisinde hapsedilerek matriks stabilize edilir ve şok emilimine katkı sağlanır.^{30,32}

Tip II kollajen mevcut kollajenin %90-95'ini oluşturur ve ESM'nin ana kollajenidir. Tip II kollajen birbirine çapraz kovalan bağlarla bağlanan üç adet polipeptid zincirinden oluşan üçlü heliks yapısındadır. Ayrıca çapraz bantlı fibrillerin birincil bileşenini oluştururlar.^{25,32}

Tip-IX kollajen ve Tip-XI kollajen çapraz bantlı fibrillerin yapısına katılan kollajenlerdir. Tip-VI kollajen, kondrositleri hemen çevreleyen periselüler matriksin önemli bir bölümünü oluşturur ve kondrositlerin matrikse yapışmasına yardımcı olur.⁵² Tip-X kollajenin sadece eklem kıkırdağının kalsifiye kıkırdak bölgesinin hücreleri ve büyüme plakasının hipertrofik bölgesinin yakınında bulunmakta ve kıkırdağın mineralizasyonunda rol oynamaktadır.³²

2.4.7. Proteoglikanlar

Proteoglikanlar kondrositler tarafından üretilerek ESM'ye salınan, bir protein

çekirdek ve birbirine kovalan bağlarla bağlanmış bir veya daha çok GAG zincirinden oluşan ESM'nin en büyük ikinci makromolekül grubudur. ^{32,53,54}

Proteoglikanların yapısındaki her bir disakkarit birimi, en az bir negatif yüklü karboksilat veya sülfat grubuna sahiptir. Bu nedenle GAG'ler diğer negatif yüklü molekülleri iten ve katyonları çeken uzun negatif yük dizileri oluşturularak matriks içerisindeki suyu ve pozitif yüklü iyonları çeker. ³² Aynı zamanda yapısında bulunan keratan sülfat ve kondroitin sülfatın birbirini itmesiyle proteoglikanlar kollajen içerisinde hapsolurlar. Bu özellikler kıkırdağın biyomekanikğine katkı sağlamaktadır. ^{32,55}

Eklem kıkırdağında, agrekan olarak bilinen büyük agregasyon monomerleri olan proteoglikanlar ve küçük proteoglikanlar olan decorin, biglycan ve fibromodulin gibi proteoglikanları içeren iki sınıf proteoglikan vardır. ^{25,32,53} Ayrıca GAG bileşenine sahip olması nedeniyle tip-IX kollajen de bir proteoglikan olarak kabul edilir. ⁵³ Kıkırdağ doku, yapı ve kompozisyon olarak agrekanlara benzeyen ve bozulmuş agrekanları temsil eden büyük nonagregan proteoglikanları da içermektedir. ³²

GAG'ler glikolize bağ ile çekirdek proteine bağlanarak kıkırdağ dokuda en fazla bulunan ve eklem kıkırdağının ana yapısal proteoglikanı olan agregan molekülünü oluştururlar. Agrekan, 100'ün üzerinde kondroitin sülfat ve keratan sülfat GAG zincirine sahip uzun bir protein çekirdeğinden oluşmaktadır. ⁵³ Agrekan molekülleri büyük proteoglikan agregatları oluşturmak için bağlantı (link) proteini aracılığıyla hyalüronik asite bağlanarak proteoglikan agregatını oluştururlar. ^{32,53,56} Link proteinlerinin agrekan monomerleri ile hyalüronik asit arasındaki ilişkiyi stabilize ettiği ve agregatların bir araya gelişinin yönlendirilmesinde rol aldığı düşünülmektedir. ^{56,57}

Agregat oluşumu proteoglikanların matriks içinde tutulmasına yardımcı olarak dokunun deformasyonu sırasında yer değiştirmelerini önler. Hem GAG zincirlerinin sağladığı agrekan molekülleri üzerindeki yüksek anyonik yük hem de agregat oluşumunun sağladığı matriks içindeki lokalizasyon agrekan fonksiyonu için gereklidir. Kıkırdağın sıkıştırma yüklerine dayanma yeteneği veren ozmotik özelliklerini sağlayarak kıkırdağ dokunun kompresyona direnci ve devamlılığı sağlanmış olur. ^{25,30,53}

Küçük nonagregan proteoglikanlar, agrekan moleküllerinden daha kısa protein çekirdeklerine sahiptirler ve agrekanlar gibi dokunun mekanik davranışına doğrudan katkıda bulunmazlar. ^{25,32,53} Decorin bir dermatan-sülfat zincirine sahiptir, biglikan iki dermatan sülfat zincirine sahiptir ve fibromodülün birkaç keratan sülfat zincirine sahiptir. ⁵³ Dekorin ve fibromodülün tip II kollajen ağ örgüsünün düzenlenmesinde ve stabilizasyonunda rol oynamaktadır. Biglikan periselüler matriks içinde konsantre

edilmekte ve tip-VI kollajen ile etkileşime girmektedir. ⁵²

2.4.8. Nonkollajenöz Proteinler ve Glikoproteinler

Kollajen olmayan proteinler ve glikoproteinler normal eklem kıkırdağı içinde geniş bir çeşitliliği olan ve esas yapı itibariyle proteinden oluşmakla birlikte, monosakkarit ve oligosakkarit içeren yapılardır. ⁵⁸ Bazı nonkollajenöz proteinler matriksin makromoleküler çerçevesinin düzenlenmesine ve stabilize edilmesine yardımcı olurken, bir kısmı da kondrositlerin matriksin makromoleküllerine bağlanmasına yardımcı olur. ³²

Kollajen bağlayıcı bir kondrosit yüzey proteini olan anchorin CII, kondrositlerin matriksin kollajen fibrillerine bağlanmasına yardımcı olur. ⁵⁹ Kıkırdak oligomerik matriks proteini (KOMP) ise ESM proteinlerinin bağlanması, tip II kollajen fibrillerinin polimerizasyonunun katalizlenmesi ve kondrosit çoğalmasının düzenlenmesi fonksiyonları vardır. ⁶⁰ KOMP'nin ayrıca osteoartrozlu hastalarda kıkırdak döngüsünün ve kıkırdak dejenerasyonunun ilerlemesinin bir belirteci olduğu düşünülmektedir. ⁶⁰ Fibronektin ve tenascin kıkırdak dokudaki nonkollajenöz proteinlerdir. Eklem kıkırdağındaki işlevleri tam olarak anlaşılamamakla birlikte matriks organizasyonu, hücre-matriks etkileşimleri ve inflamatuvar artrit ve osteoartrozdaki doku cevabında rolleri olabileceği düşünülmektedir. ³²

2.5. Kıkırdak Dokunun Biyomekaniği

ESM'nin sıvı ortamında proteoglikanlar polianyonik moleküllerdir ve bu nedenle yapısındaki negatif karboksil ve sülfat gruplarındaki negatif yüklerin birbirlerini karşılıklı itmesi, proteoglikan agregatlarının kıkırdak dokuya yayılmasına ve büyük bir hacim işgal etmesine neden olur. Proteoglikan agregatlarının kollajen çerçeveye karşı yayılımı, kıkırdağın mekanik tepkisinde önemli bir unsurdur. Kıkırdak üzerine kompresyon uygulandığında agrekan üzerindeki negatif yüklü bölgeler birbirine doğru itilmekte ve bu da karşılıklı itme kuvvetlerinin daha da çok artmasına ve kıkırdağın kompresif sertliğinin oluşmasına katkıda bulunmaktadır. Eklem kıkırdağının kompresif sertliği, proteoglikan içeriğine bağlıdır. Nonagrekan proteoglikanlar ise kolaylıkla sıkışmadıklarından, kıkırdağın kompresif yüklenmeye karşı direncinin oluşumunda etkili değildirlir. ⁶¹

Kompresyon karşısında kıkırdak doku, sadece yükün uygulandığı yönde komprese olmaz, aynı anda Poisson ratio etkisi olarakta bilinen şekilde yatay yönde de genişler ve makaslama stresine de maruz kalır. Oluşan bu makaslama stresi ise derin tabaka ile kalsifiye tabaka arasındaki tidemark bölgesinde maksimuma değere ulaşarak derin zon ile tidemark arasındaki kollajen lifler ve proteoglikanlar makaslama kuvvetlerine karşı makaslama direnci oluşturulmasında görev alırlar. ^{4,5} Böylece makaslama stresi altında kıkırdağın sertliği ve enerji dağıtımını derin zon ile tidemark arasında yerleşmiş olan

proteoglikan ve kollajen yapısı ile sağlanmış olur. Diğer yandan kompresif kuvvetler uygulandığında oluşan Poisson ratio etkisi gerilme stresi de oluşturacaktır. Kıkırdağın gerilme stresine olan primer yanıtı kollajen lif miktarı ve düzenlenme şekli ile belirlenmekte olup yoğun kollajen lifler içeren yüzeyel tabaka tarafından sağlanmaktadır. ⁴

Kıkırdağın biyomekanik özellikleri yapısındaki suyun doku içinden kolayca akmasına izin vermeyen bir sünger gibi davranmasının yanında katı ve sıvı olmak üzere bifazik bir materyal davranış özellikleri göstermesine bağlı olarak açıklanmaktadır. ^{5,61} Bu sıvı akışının ve deformasyonun birbirine bağlı olmasıyla açıklanabilir ve kıkırdağın sıvı ve katı bileşenlerin bir karışımı olarak modellenmesi ise iki fazlı kıkırdak modeli olarak adlandırılır. ^{46,61,62} Proteoglikanlar, kollajen, hücreler ve lipitler katı fazı oluşturmak için bir araya gelirken matriks içinde serbestçe hareket edebilen interstisyel sıvı ise sıvı fazını oluşturur. ⁶¹ Kıkırdağın mekanik davranışı genel olarak bu katı ve sıvı komponentlerinin etkileşimine dayanmakta ve mekanik gücü ise katı fazı oluşturan matriksin geçirgenliğine, interstisyel sıvının doku içindeki akımına ve katı-sıvı fazın dengesine bağlı olarak değişmektedir. Sıvı basıncı, kompresif yüke olan desteğin önemli bir kısmını sağlayarak katı matrikse etki eden stresi azaltır. ^{5,61} Kompresyon uygulandığında kıkırdağın sıvı içeriği azalarak proteoglikan içeriği artar ve bu durum geçirgenliğinin de azalmasına yol açmaktadır. Bunun sonucunda oluşan kompresif yüklenme nedeniyle dokudan olan hızlı ve aşırı sıvı kaybı önlenerek siklik yüklenme sırasında kıkırdağın enerji dağıtma yeteneği düzenlenir ve deformasyon önlenir. ^{5,31,61}

Eklem kıkırdağı, içerdiği su miktarı nedeniyle viskoelastik bir yapıda olup fizyolojik koşullarda bası altındaki kıkırdağın üstündeki yükün kaldırılmasıyla viskoelastik özellik göstermesi nedeniyle eski şekline dönebilen bir yapıdadır. ⁵ Kıkırdağa olan bir yüklenme öncelikle kıkırdak dokuda deformasyona yol açar. Bu durum interstisyel sıvının dışarı sızmasına ve proteoglikan içeriğinin artmasına yol açarak osmotik basıncın artışıyla birlikte sıvının tekrar matriks içine alınmasına ve kıkırdak üzerine binen yükün karşılanarak deformasyonun azaltılmasını sağlar. Eğer kıkırdak sürekli olarak kompresif bir yüke maruz kalırsa, yükün karşılanması kademeli olarak sıvı fazdan katı faza geçerek kıkırdak doku üzerindeki deformasyon zamana bağlı bir davranış göstererek artar ve üzerindeki yük kalkana kadar bu durum sürer. ^{5,61} Fakat kıkırdak tam olarak düzelmeden ikinci bir yüklenme olursa, proteoglikan içeriği artar, osmotik basınç yükselir, su matriks içinde kalarak artan sıvı basıncı ile kollajen liflerde stres oluşur ve plastik deformasyon ile kıkırdak zarar görür. ⁵

2.6. Ön Çapraz Bağın Genel Özellikleri

ÖÇB, femur ile tibia arasında uzanan ve diz ekleminin translasyonel ve rotasyonel stabilitesinde görev alarak tibiofemoral eklem kinematığında önemli bir rol oynayan intraartiküler bağ yapısıdır. Anatomik yerleşimi itibariyle tibia proksimal yüzündeki ön interkondiler bölgede medial tibial çıkıntının hemen ön yan tarafındaki tibial yapışma yerinden kendi çevresinde kıvrılarak posterolaterale doğru ilerler ve lateral femoral kondilin posteromedialine yapışacak şekilde uzanım gösterir.⁶³ Ortalama uzunluğu 32mm çapı 7-12 mm'dir. Tibiadaki yapışma yerlerine göre bazı araştırmacılara göre iki bazalarına göre üç adet banttıan oluşmakta olup bu bantlar sırasıyla anteromedial, intermediate ve posterolateral bantlardır.⁶³⁻⁶⁵

ÖÇB diz ekleminin stabilitesini sağlayan en önemli yapılardan biri olup tibianın öne kaymasını ve dizin ekstansiyondayken iç rotasyona gitmesini önler. Bu bağ özellikle yüksekten düşme, spor yaralanmaları gibi yüksek enerjili yaralanmalarda zarar görebilmektedir. ÖÇB dizde en sık hasar gören bağ olmakla birlikte izole yırtıkları sık görülmez ve çoğunlukla bu yaralanmaya eşlik eden menisküs, bağ, eklem kıkırdağı, subkondral kemik ve kansellöz kemik hasarı gibi başka bir komponentleri içermektedir.⁶⁶ ÖÇB'nin kendi kendine iyileşme kapasitesi olmadığı için bu olgular rekonstrüksiyon cerrahileri ile tedavi edilebilmektedir.⁶⁷

Yapılan çalışmalar ÖÇB rüptürü yıllık insidansı konusunda farklı tahminlerde bulunmaktadır (30/10000, 81/10000). Bunun nedeni pek çok farklı nedenlerden dolayı hastaneye başvurmıyan hastaların bu ölçümlerde sayıyı olduğundan düşük göstermesi olabilir ve ÖÇB rüptürü olan olguların sayısının bu hastalar düşünüldüğünde sayının çok daha fazla olacağı söylenebilir. ÖÇB hasarı sonrası diz ekleminde oluşan instabilite ve tibiofemoral eklemdaki anormal kinematik eklemin fizyolojik yük dağılımını etkiler ve bu duruma cevap olarak OA oluşumıyla sonuçlanan patofizyolojik mekanizmaların başlamasına neden olmaktadır.⁶⁸

Literatürde yapılan çalışmalar ÖÇB hasarı olan futbolcuların, ÖÇB sağlam olan oyunculara göre diz OA geliştirme olasılığının daha yüksek olduğunu göstermektedir.⁶⁹ Yapılan başka bir çalışmada ÖÇB hasarı mevcut olan hastaların yürüme sırasında hasarlanmamış karşı dizlerine veya sağlıklı kontrollere kıyasla tibiofemoral eklem hareketlerinde belirgin değişikliklerin mevcut olduğunu rapor etmişlerdir.⁷⁰ ÖÇB hasarı olan futbolcular üzerinde yapılan gözlemsel bir çalışmada, ÖÇB'nin cerrahi olarak onarılıp onarılmadığına bakılmaksızın sonraki dönemlerinde OA riskinin önemli ölçüde arttığını bulmuştur.⁷¹ Diğer yandan erken ÖÇB rekonstrüksiyonun, genç sağlıklı yetişkinlerde

onarım sonrası dönemde menisküs ve kıkırdak yaralanmaları oranlarını azalttığını gösteren çalışmalarda mevcuttur. ⁷² Ayrıca diğer çalışmalar erken ÖÇB onarımının diz OA riskini en aza indirdiğini göstermektedir. ⁷³

2.7. Osteoartrit

OA, insanda görülen artritin en yaygın şekli ve yetişkin popülasyonda sakatlığın başlıca nedeni olup eklem kıkırdağının dejenerasyonu, normal kıkırdak yapısı ve fonksiyonunun ilerleyici kaybı sonucu oluşmaktadır. Bir zamanlar eklem kıkırdağının birincil bozukluğu olarak tanımlanmış olmasına rağmen günümüzde kalsifiye kıkırdak, subkondral kemik, kortikal kemik, trabeküler kemik, eklem kapsülü ve çevresi yumuşak dokular ve sinovyum dahil olmak üzere tüm eklem yapılarının etkilendiği, eklem kıkırdağı ve subkondral kemikte yıkım ve yapım arasındaki normal dengenin bozulması sonucu gelişen dinamik bir hastalık süreci olarak tanımlanmaktadır. ^{30,74}

OA eklemlerde kronik ağrı, deformite, fonksiyon kaybı, kontraktürler ve kas atrofisinin gelişmesine neden olarak hastaların hayat kalitesinin önemli ölçüde bozulmasına, engelliliğe ve tedavi maliyetlerinin artmasına neden olan kronik bir hastalıktır. Yapılan araştırmalar eklem artriti ve romatizmal hastalıkların (büyük çoğunluğu OA) 18 yaş üzerindeki engelliliğin en fazla nedeni olduğunu bildirmektedir. ²⁸ OA ağırlıklı olarak yaşlı popülasyonu etkileyen bir hastalık olması nedeniyle özellikle yaşlı ve yaşlanan nüfusa sahip ülkeler için önemli bir halk sağlığı sorunudur. OA epidemiyolojik olarak yaşlanma, herediter ve genetik faktörler, konjenital ve gelişimsel hastalıklar, travma, mekanik ve yapısal bozukluklar, obezite gibi birçok faktörün rol aldığı multifaktöriyel hastalıktır. ²⁸

Günümüzde OA etyopatogenezi tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte travma, genetik, gelişimsel, nörolojik, metabolik, enfeksiyöz ve biyokimyasal faktörler gibi birtakım etkenlerin OA gelişmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. ^{28,75,76}

OA'nın başlangıcı ve progresyonu ile ilişkili patolojik ve patojenik süreçlere ilişkin öngörüler, eklem kıkırdağının kompozisyonunun ve yapısal organizasyonunun tanımlanmasında ve kondrositlerin anabolik ve katabolik aktivitelerini düzenleyen moleküler mekanizmaların aydınlatılmasındaki bilimsel gelişmelerle sağlanmıştır. Benzer şekilde, OA ile ilişkili periartiküler kemikteki yapısal ve fonksiyonel değişiklikleri karakterize etmede ve iskelet dokularını yeniden şekillendiren ve yerel çevresel ve sistemik faktörlere adapte eden kemik hücresi popülasyonlarının aktivitelerini kontrol eden faktör ve süreçlerin tanımlanmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. ⁷⁴

OA'da birincil değişiklikler eklem kıkırdağında olmakta ve subkondral ve

metafizler kemik, sinovya, ligamentler, eklem kapsülü ve eklemle ilişkili kaslar gibi sinovyal eklemle bağlantılı bütün dokular OA'da gelişen eklem dejenerasyonundan etkilenmektedir. ^{30,75} Mikroskopik değerlendirmede histolojik olarak en erken bulgular yüzeysel tabakada fibrilasyon ve bozulmayken ilerleyen dönemlerde derin tabakaya uzanan yarıklar, tidemarkta vaskülarizasyon ve subkondral kemikte remodelizasyon görülmektedir. ^{30,75,77} Bunu takiben kırıkdam tamir çabalarının eşlik ettiği ilerleyici kırıkdam hasarı, subkondral kemiğin remodelizasyonu ve daha sonraki dönemlerde subkondral kemikte kistik oluşumlar ve osteofitler görülmektedir. ^{30,75}

OA patofizyolojisi ile ilgili insanlarda yapılan çalışmalar daha çok hastalığın geç ve son aşamalarına odaklandığından kemik ve kırıkdamdaki bu değişikliklerin OA patolojisine katkılarının etkisi henüz belirlenmemiştir. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, hastalık başlangıcında ve progresyon sırasında eklem kırıkdamındaki subkondral kemikte zamana bağlı histomorfometrik değişikliklerin göreceli olarak değerlendirilmesine izin vermiştir. ⁷⁸ Genetik ve cerrahi OA fare modellerindeki çalışmalar, iskelet gelişimini, eklem kırıkdam bütünlüğünü ve kemik kütlesini kontrol eden ve iskelet sistemi ile sinir sistemi ve yağ dokusu da dahil olmak üzere diğer organ sistemleri arasındaki ilişkileri tanımlayan genetik faktörlerin etkisinin anlaşılabilmesine katkı sağlamıştır. Diğer yandan kırıkdam matriksinin sentez ve yıkım ürünlerinde kantitatif ve dinamik değişiklikleri yansıtan biyomarker tahlillerinin geliştirilmesindeki ilerlemeler, eklem hastalığı olan hastalar için hastalık modifiye edici tedavilerin etkinliğinin erken teşhisi ve daha doğru izlenmesi için umut vermektedir. Biyomarker ve hastadan elde edilen klinik bilgilerin kullanılmasıyla kemik remodeling bozukluklarının teşhisi için algoritmalar da mükemmelleştirilerek eklem kırıkdamı ve subkondral kemikteki değişikliklerin daha iyi tespit edilmesine ve terapötik müdahalelerin daha etkili bir şekilde değerlendirilmesine izin vermektedir. ⁷⁴

2.7.1. Osteoartrit Epidemiyolojisi

OA prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalar OA'nın kadavra çalışmalarındaki prevalansı, toplumdaki radyolojik OA prevalansı ve toplumdaki klinik olarak tespit edilen semptomatik OA'nın prevalansı üzerinde yapılan çalışmalardan oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda radyolojik ve patolojik bulgularla klinik semptomların her zaman örtüşmediği görülmektedir. Özellikle semptomatik OA'nın toplum sağlığı için önemli etkileri vardır. OA uzun süreli engelliğe neden olabilen, toplum ve bireyler için ciddi maliyet işgücü kaybına neden olabilen bir halk sağlığı problemidir.

Yapılan otopsi çalışmaları 65 yaşın üzerindeki tüm olgularda OA'nın mevcut

olduğunu göstermiş, diz OA'sının 60 yaşından sonra neredeyse evrensel olarak mevcut olduğunu ve artan yaşla ilişkili olduğunu göstermektedir. ^{79,80} Yapılan diğer bir otopsi çalışmasında olguların diz eklemlerinin %48'inde orta ila şiddetli histolojik OA bulguları olmasına rağmen, bu hastaların sadece %10'unda klinik olarak diz OA bulguları olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle patolojik bulgular ile klinik semptomlar arasındaki bağlantı hala tam olarak anlaşılammıştır. ⁸¹

Radyolojik olarak OA prevalansı ile ilgili çalışmalar, el OA'sının diz OA'sından daha yaygın olduğunu, kalça OA'sının bunlara nispeten sıklığının daha az olduğunu göstermiştir. Radyolojik diz OA insidansı ilgili A.B.D. 'de yapılan bir çalışmada 63-93 yaş aralığındaki erkeklerin %31'inin ve kadınların %34'ünün radyografik diz OA belirtileri olduğunu, el OA ile ilgili yapılan bir çalışmada 60-70 yaş aralığındaki kadınların %75'inde distal interfalangeal eklem OA'sı olduğunu bildirmiştir. ²⁸ Kalça OA prevalansı 60 yaş ve üstü bireylerde %4,4 ila 5,3 arasında bildirilmiştir. ⁸²

Semptomatik OA prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalarda semptomatik diz OA'sı 63-93 yaş aralığındaki insanların yaklaşık %9,5'inde, ⁸³ semptomatik kalça OA'sı 55 yaşın üzerindeki insanların %4,4'ünde ⁸⁴ olduğunu göstermiştir.

2.7.2. Osteoartritin Risk Faktörleri

OA risk faktörleri yapısal risk faktörleri, aktiviteye bağlı risk faktörleri, Yapısal mekanik faktörler, davranışsal ve hormonal faktörler ve lokal osseöz faktörler olmak üzere 5 grupta incelenmektedir. ²⁸

1. Yapısal risk faktörleri

- ❖ Hereditör ve Genetik Faktörler
- ❖ Konjenital ve Gelişimsel Hastalıklar

2. Aktiviteye Bağlı Risk Faktörleri

- ❖ Mesleki aktiviteler ve tekrarlayan Aktiviteler
- ❖ Spor aktiviteleri
- ❖ Spor dışı travma

3. Lokal mekanik faktörler

- ❖ Vücut Kitle İndeksi (VKİ)
- ❖ Kas Güçsüzlüğü
- ❖ Alignment ve Dizilim Bozuklukları

3. Davranışsal ve Hormonal Faktörler

- ❖ Sigara
- ❖ Östrojen

4. Lokal Osseöz Faktörler

- ❖ Kemik İliği Lezyonları
- ❖ Kemik Mineral Yoğunluğu (KMY)

Genetik faktörlerin primer OA gelişme riskini etkilediği birçok çalışmada görülmektedir. İkizlerde yapılan çalışmalar, kadınlarda OA'nın %39 ile %65 arasında kalıtım oranına sahip olduğunu, total diz veya kalça protezi nedeniyle opere olan hastaların kardeşlerinde primer OA'nın artmış olduğunu ve ciddi düzeyde OA'nın kalıtım oranının %27 olduğunu göstermiştir. ⁸⁵ Diğer yandan yapılan çalışmalar Tip I, II ve IX kollajeni kodlayan veya düzenleyen genlerin, kemik morfojenik proteini (KMP)'nin, D vitamini reseptörünün, östrojen reseptörlerinin ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF)-1'in artmış primer OA riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir. ⁸⁶

Normal eklem anatomisinin gelişimini önleyen herhangi bir bozukluk eklem uyumsuzluğuna ve deformiteye yol açarak sekonder OA'ya neden olabilir. Gelişimsel kalça Displazisi, Legg-Calve-Perthes Hastalığı ve Femur Başı Epifiz Kayması gibi çocukluk çağı hastalıkları erken teşhis edilirse değiştirilebilir risk faktörleri olduğu için önemlidir. Bu bozukluklar tedavi edilmezse, femur başı ve asetabulumun anatomik düzensizliklerine neden olur ve bu da ilerleyen dönemde kalça OA'ya yol açmaktadır. Diğer yandan Multipl Epifizyal Displazi ve Akondroplazi gibi büyüme plağını etkileyen nadir genetik bozukluklar, anormal kemik büyümesine ve sıklıkla ciddi OA'ya neden olmaktadır. ²⁸

Eklem aşırı yüklenmesi beraberinde tekrarlayan hareketlerin yapıldığı işlerin OA gelişimi ile ilişkisi uzun süredir bilinen ve araştırılan bir konudur. Bu konuda belli meslek gruplarında OA gelişimi arasındaki ilişkiyi bildiren çalışmalar mevcut olmakla birlikte kadınlarda bu ilişki erkeklere nispeten daha zayıf olarak saptanmıştır. ⁸⁷ Yapılan çalışmalar haftada en az 10 defa ve en az 10 kg ağır kaldırma, günde 1 saatten fazla diz çökme ve günde 1 saatten fazla çömelme ile ilişkili faaliyetlerin istihdam türünden bağımsız olarak şiddetli diz OA'sı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. ⁸⁸

Spor aktivitelerinin ve egzersizlerin OA ile ilişkisi hakkında yapılan gözlemsel insan çalışmaları ve hayvan deneylerinden elde edilen veriler düzenli fiziksel aktivitenin kalça veya diz OA riskini veya ilerlemesini artırmadığını göstermiştir. ²⁸ Yapılan hayvan deneylerinde orta düzey egzersizin kıkırdak kalınlığını ve proteoglikan içeriğini arttırdığını yoğun çalışmanın kıkırdak proteoglikan içeriğinin azalmasına ve subkondral kemiğin yeniden şekillenmesine yol açtığını ancak eklemlerin kıkırdak yüzeylerinin erken OA bulguları olmadan sağlam kaldığını göstermiştir. ²⁸ Diğer yandan fizyolojik olmayan

tekrarlayan yüklenme koşullarında yapılan hayvan deneyi çalışmalarında eklemlerde hızla erken OA belirtilerine yol açtığı gözlenmiştir. ⁸⁹ Spor eklem yaralanmasına neden olarak ve OA gelişiminde rol oynayabilen bir etkidir. Yapılan çalışmalar ÖÇB rüptürü olan futbolcuların, ÖÇB sağlam olan oyunculara göre diz OA geliştirme olasılığı daha yüksek olduğunu göstermiştir. ⁵⁹

Spor dışındaki travmalar sonrası oluşan eklem yaralanmalarının, sporcu olmayanlarda da gelecekte oluşacak OA riskini önemli ölçüde artırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir. ^{90,91} Diğer yandan artroskopi operasyonu öyküsü olanlarda iyatrojenik yaralanmanın OA riskini de artırabileceğine dair yayınlar mevcuttur. Yapılan bir çalışma izole bir menisküs yırtığı nedeniyle parsiyel menisektomi geçiren hastaların kontrol grubuna oranla 21 yıl sonra OA riskinde anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur. ⁹²

Obezite OA ile ilişkisi en fazla olan risk faktörlerinden biridir. Yüksek VKİ'ye sahip olmak, semptomatik ve radyografik diz OA'sının gelişme oranını güçlü bir şekilde artırmakta olup VKİ'si 27'den fazla olanlarda VKİ'nin artan her bir artışında diz OA riski yaklaşık %15 artırmadır. ⁹³ Normal bir aralıkta bile artan VKİ, diz OA oranlarındaki artışla ilişkili olmakta ve VKİ değeri 23-25 olan erkeklerde VKİ <23 olan erkeklere kıyasla dört kat artmış OA riski olduğu gösterilmiştir. ⁹⁴

Yapılan çalışmalar ekstremitelerdeki varus/valgus aligmentinin tibiofemoral OA progresyonu riskini üç kat ve daha az oranda da patellofemoral OA progresyonu riskini artırdığını göstermiştir. ⁹⁵

Östrojenin, OA'ya karşı koruyucu olduğu hipotezini destekleyen birçok biyolojik mekanizma vardır. Kondrositler östrojen reseptörlerini eksprese ederler ve östrojen bu reseptörlere doza bağlı olarak bağlanarak kıkırdağı etkileyebilmektedir. ^{96,97} Hücre kondrosit kültürlerinde in vitro yapılan çalışmalar östrojenin proteoglikanların sentezini artırdığını gösterse de yapılan epidemiyolojik çalışmalar östrojen ve OA veya östrojen replasman tedavisi ve OA arasında koruyucu bir ilişki göstermemiştir. ²⁸

Kemik iliği lezyonları MR görüntülemeye özellikle T2 sekansta gözlenmekte olup bu lezyonların varlığı hafif-orta derecede radyografik diz OA'sı olan bir hastanın klinik semptomatik ağrısının olma ihtimalini 3,3 kat artırdığını ve lezyon büyüdükçe bu ağrı olasılığını altı kata kadar artırdığını göstermiştir. ⁹⁸ Direkt grafilerde gözlenen şiddetli OA bulguları klinik olarak nispeten asemptomatik olabilmekte, radyografik olarak çok hafif bulgular veren hastalarda şiddetli semptomlar olabilmektedir. Bu durum özellikle OA'nın radyografik bulguları ile klinik semptomlar arasındaki ilişkinin iyi bilinmekle birlikte çok iyi anlaşılammış olmasına bağlıdır.

Osteoporoz ile OA ilişkisini araştırmak için yapılan çalışmalar osteoporozun ve düşük KMY'nin OA riski ile ters ilişkili olduğunu, yüksek KMY'nin diz OA riskini artırdığını gösterse de OA varlığının osteoporozu ve buna bağlı kırıkları önlemediğini göstermektedir. ^{99,100}

2.7.3. Osteoartrit Patofizyolojisi

OA, normal kıkırdak dokudaki yapım ve yıkım arasındaki dinamik dengenin yıkım yönünde bozulması ve eklem kıkırdağının dejenerasyonu ile kıkırdak dokunun ilerleyici yapı ve fonksiyon kaybıyla oluşan bir hastalıktır. ^{30,74} Günümüzde OA'nın patogenezi tam olarak anlaşılamamakla birlikte travma, genetik, gelişimsel, nörolojik, metabolik, enfeksiyöz ve biyokimyasal nedenli birçok faktörün OA gelişiminde etkili olduğu düşünülmektedir. ⁷⁶ OA'da oluşan primer etkiler ve değişiklikler eklem kıkırdağını etkilemekle birlikte kıkırdak doku çevresindeki subkondral ve metafizer kemik, sinoviya, ligamentler, eklem kapsülü ve eklemle ilişkili kaslar gibi sinovyal eklemle bağlantılı bütün dokular eklem dejenerasyonundan etkilenmektedir. ^{30,74}

Normal eklem kıkırdağında yapım ve yıkım arasında bir denge mevcut olup sentez ve yıkım arasındaki dengeyi sağlayan, kondrositlerden ve sinoviyadan sentezlenen ve kıkırdak dokuyu fizyolojik olarak etkileyen çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve mekanik faktörler bulunmaktadır. OA'da bu yapım ve yıkım arasındaki denge bozulmakta ve katabolik süreç ağırlık kazanmaktadır. Kondrositler intrinsik ve ekstrinsik büyüme faktörleri, sitokinler ve diğer inflamatuvar medyatörlerin yanı sıra kıkırdak matriksteki mekanik kuvvetlere ve yapısal değişikliklere cevap verebilen hücrelerdir. ¹⁰¹ Kondrosit fonksiyonunun düzenlenmesi ile ilgili olarak; kıkırdak matriks yıkımını artırmak için hedef hücreler üzerinde etkili olan katabolik sitokinler (IL1 β , TNF (Tümör Nekrozis Faktör)- α , IL17, IL18), katabolik sitokinlerin aktivitesini inhibe eden veya antagonize eden antikatabolik veya inhibitör sitokinler (IL4, IL10, IL13, IL1ra, IFN- γ), regülatör sitokinler (IL6, IL8, LIF, OSM(oncostatin M) ve sentetik aktiviteyi arttırmak için kondrositler üzerinde büyüme ve farklılaşma faktörleri olarak hareket eden anabolik sitokinler (IGF-1, TGF (Transforme Edici Büyüme Faktörü)- β 1,2,3, KMP-2,4,6,7,9,13, FGF (Fibroblast Büyüme Faktörü)-2,4,8) mevcuttur (Tablo 1). ¹⁰² OA'da dengenin bozulmasıyla beraber dengenin yıkım yönünde ilerlemesiyle birlikte kıkırdağın fonksiyonel ve yapısal bütünlüğünde bozulmalar meydana gelmektedir.

Tablo 1. Kıkırdak metabolizmasında rol oynayan sitokinler

Katabolik	Regülatör	İnhibitör	Anabolik
IL1 1 β	IL6	IL4	IGF-1
TNF- α	IL8	IL10,	TGF- β 1,2,3
IL17	LIF	IL13	KMP-2,4,6,7,9,13
IL18	OSM	IL1ra	FGF-2,4,8
		IFN- γ	

Mikroskopik değerlendirmede histolojik olarak en erken bulgular yüzeysel tabakada fibrilasyon ve bozulmayken ilerleyen dönemlerde derin tabakaya uzanan yarıklar, tidemarkta damarlanma ve subkondral kemiğin remodelizasyonu görülmektedir. ^{30,75} OA'nın patolojik süreci incelendiğinde birbiriyle iç içe geçmiş üç evreye ayrıldığını görmekteyiz;

Birinci evrede rol oynayan temel faktör kıkırdak ara maddesi olan matriksin makromoleküler yapısında bozulmalar ve kıkırdak dokudaki su yoğunluğunun artmasıdır. Matriksteki tip II kollajen yoğunluğu değişmemektedir fakat GAG zincirlerinde kısalma, agregan konsantrasyonunun azalması ve proteoglikanların agregasyonunda azalma görülür. Kollajen lifleri ile minör kollajen lifler arasındaki bağlantı bozulur bu da kollajen ağ yapısında bozulmalara neden olarak agregan moleküllerin su içeriğinin artmasına ve şişmesine yol açar. Tüm bu değişiklikler sonucunda doku geçirgenliği artar ve su miktarında artışıyla kıkırdak dokusunun sertliği azalır ve mekanik yüklere karşı daha savunmasız hale gelir. ^{30,75}

İkinci evrede kıkırdak dokudaki kondrositler tüm bu değişikliklere yanıt olarak kıkırdak dokuyu onarmak ve kaybedilen matriksi yerine koymak için anabolik ve mitojenik büyüme faktörlerinde etkisiyle metabolik aktivitelerini artırarak matriks makromoleküllerinin sentezini artırır ve prolifer olurlar. ^{30,76} Ayrıca kıkırdak doku üzerine binen yüklerin etkisi ile kondrosit ve sinovyal doku kaynaklı IL-1 ve TNF- α sentezinde ve bu sitokinlerin reseptör sayılarında artış olur. Özellikle oluşan IL-1 ve TNF- α OA patogenezi en çok etkileyen iki sitokindir. ¹⁰³ Bu sitokinler hem kendilerinin hem de inflamasyona neden olarak kıkırdak hasarını arttırıcı etkileri olan IL-6, IL-8, PGE2 gibi diğer sitokinlerin sentez ve salınımını arttırmaktadır. Eklem sıvısında PGE2 ve LTB4 (Lökotrien B4) konsantrasyonlarında yükselme olur. Bütün bu proinflamatuvar sitokinlerinde etkisiyle matriks metalloproteinaz (MMP) olarak bilinen ve kıkırdak dokudaki matriks makromoleküllerinin yıkımına ve azalmasına neden olan MMP-2, MMP-3 (Stromelisin), MMP-9 (Jelatinazlar), MMP-1, MMP-8 ve özellikle MMP-13 (Kollajenazlar) gibi metalloproteinaz enzimlerinin sentezinde ve salınımında artış olur. MMP'ler kendi sentezlerini arttırırken, inhibitörleri olan

doku metalloproteinaz doku inhibitörü (TIMP-1)'in sentezini ise azaltırlar. ^{75,103-105} Sonuç olarak MMP'lerin ve diğer sinovyal enzimlerin de olaya dahil olmasıyla proteoglikanlarda sürekli bir kayıp olur ve kıkırdak matriksinin yıkımı ilerleyerek devam eder. ¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ Kıkırdak makromolekülleri ve proteoglikan sentezindeki artış özellikle orta ve derin tabakalarda olduğundan dolayı yüzeysel tabaka hasardan ilk etkilenen ve proteoglikan kaybının en fazla olduğu tabakadır. ¹⁰⁵

OA'da kıkırdak dokudaki oluşun mekanik ve kimyasal değişikliklere bağlı olarak IL-1 ve TNF- α vasıtasıyla uyarılan kondrositlerden salınımı ve sentezinde artış olan bir diğer madde de nitrik oksit (NO)'tir. Güçlü potent bir mediatör olan NO dokuda hızlıca yayılarak matrikste kollajen ve proteoglikan sentezini azaltır. MMP sentezini arttırarak eklemdeki ve özellikle yüzeysel kıkırdak tabakadaki kondrosit apoptozisini uyararak, kıkırdak yıkımındaki bu kısır döngüye yardım etmiş olur. ^{75,105,109}

İkinci evrede oluşun makromoleküllerin sentezinde artma ve daha az oranda hücrel proliferasyon gibi onarım çabaları bazen proteazların yıkıcı etkisini dengeleyerek kıkırdak dokuda stabilizasyon oluşturabilir. ⁷⁵ Fakat bu dengenin oluşamadığı durumlarda ise bu proteoglikan sentezindeki artış kıkırdak dokudaki yıkımı karşılayamaz ve onarım çabaları yeterli olmaz. Hücrel onarımın ve stabilizasyonun sağlanamadığı durumlarda kondrositlerin anabolik ve proliferatif cevap verme yeteneğinin kaybolması ve kıkırdak dokunun ilerleyici kaybıyla karakterize üçüncü ve son evreye geçilir. Kıkırdak dokudaki kayıp sonrası OA'nın klinik bulguları olan ağrı ve fonksiyon kaybı gibi belirtileri ortaya çıkarken kıkırdak dokuda fibrilasyonlar, yarıklar, tidemarkta damarlanma artışı ve daha ileri ki dönemde osteofit oluşumu görülmektedir. ^{30,76}

2.8. Ozon

2.8.1. Ozonun Tanımı

O₃, oksijenin allotropik, kararsız formu olan, florin ve persülfattan sonra bilinen en güçlü üçüncü oksidan ajan olması nedeniyle yüksek reaktiviteye sahip olan bir gazdır. ^{11,110,111} Suda, plazmada, hücre dışı sıvıda, deriyi kaplayan ince su tabakasında, özellikle solunum yolları mukozası olmak üzere genitoüriner sistem ve vajina mukozasında çözünür, biyolojik sıvılarda yer alan protein, karbonhidrat ve özellikle çoklu doymamış yağ asitleri gibi antioksidan maddelerle karşılaştığında hızlı şekilde reaksiyona girebilir. ¹¹ Analjezik, antiinflamatuvar, immünomodülatör ve trofik özelliklere sahip olduğu bilinen O₃ birçok infeksiyöz, otoimmün, dejeneratif ve ortopedik hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. ^{111,112} O₃ yapı olarak spontan ayrışabilen ve yapısı bozulan bir molekül olup konsantrasyonu süreye ve ortam

sıcaklığına olarak azalmaktadır bu nedenle depolanması ve saklanması zor bir moleküldür. O₃ konsantrasyonu 30 C° sıcaklıkta 25 dakika içinde, 20C° sıcaklıkta 40 dakika içinde ve -50C° sıcaklıkta ise 3 ay içinde yarılanmaktadır. ¹¹ O₃ çok reaktif olan ve anti-enfeksiyöz, antiviral, anti parazitik, antifungal ve antitoksik özelliklere sahip O₂ ve O- (monatomik O) molüllerine hızla kendi içinde ayrışarak parçalanması sonucu önemli bir periferik vazodilatör etki yaratan 24,27 kcal enerjiyi açığa çıkarır. ¹¹³

2.8.2. Ozonun Etki Mekanizması

O₃ oksijene göre 1,6 kat daha yoğundur ve suda çözünürlüğü oksijene göre on kat daha fazladır. Saf suda diğer gazlar gibi Henry kanununa göre çözünür. Çözünmesi ısıya, basınca ve oluşan konsantrasyona bağlı olarak değişir. Biyolojik sıvılarda O₃ oksijenden farklıdır ve hızlıca biyomoleküller ile reaksiyona girer. Buna bağlı olarak HT (hemotransfüzyon) sırasında uygulanan O₃/oksijen karışımındaki O₃ afinite sırasıyla çoklu doymamış yağ asitleriyle, antioksidanlarla ve sistein gibi sülfhidril (SH) grubu taşıyan tiyol bileşikleri ile reaksiyona girer. O₃'ün verildiği miktara bağlı olarak karbonhidratlar, proteinler (dolayısıyla da enzimler), DNA ve RNA da bu reaksiyondan etkilenebilir. O₃'ün bu birçok molekül ile reaksiyona girmesi iki temel süreçte gerçekleşir;

1. Öncelikli olarak O₃'ün bir miktarı ilk olarak askorbik asit, ürik asit, proteinler ve glikoproteinlerin SH gruplarının oksidasyonunda harcanır ve buna da “O₃ ilk reaksiyonu” adı verilir. Aynı zamanda albümin, askorbik asit ve ürik asit O₃'ün güçlü reaktivitesini kırarlar. Bu birinci reaksiyon önemlidir çünkü ex vivo ortamda kanda birçok biyokimyasal algoritmayı başlatabilecek reaktif oksijen türevleri (ROT)'nin oluşmasına neden olur. ROT'leri antioksidan sistem tarafından 0,5-1 dakika içinde nötralize edilirler. ¹¹⁴
2. İkinci reaksiyona “lipid peroksidasyonu” denir. Hidrofilik plazmada 1 mol olefin (özellikle plazma trigliseritleri ve şilomikronlarda yer alan araşidonik asit) ve 1 mol O₃, 2 mol aldehit ve 1 mol hidrojen peroksit oluşturur.

Bu iki reaksiyon saniyeler içinde sonlanır ve toplam O₃ miktarının çoğu kullanılmış olur. Bu reaksiyonların sonucunda hidrojen peroksit, radikal olmayan oksidan bir molekül (genelde ROT'den biri) ve lipid oksidasyon ürünleri (LOÜ) olarak bilinen aldehit türlerinden bazıları üretilmiş olmaktadır. ¹¹⁵ O₃'ün vücutta değişik hücre gruplarında meydana getirdiği bir dizi biyokimyasal reaksiyon, plazmada ortaya çıkan biyolojik etkileri

ROT ve LOÜ olarak adlandırılan O₃ habercilerinin oluşumundan kaynaklanmaktadır. ¹¹⁴

Bu moleküllerden ROT erken aşamada üretilir ve kan üzerindeki erken biyolojik

etkilerden (eritrositler, lökositler, trombositler) sorumludur. ROT'nin yarı ömürleri bir saniyeden daha kısa sürmektedir. Hidrojen peroksit, oluştuktan hemen sonra hızlı bir şekilde plazmadan hücrelere geçmekte ve geçtiği hücrenin tipine bağlı olarak (eritrosit, lökosit ve plateletler) bir dizi olayı tetiklemektedir. Hidrojen peroksit, eritrositlerde 2,3-difosfogliserat seviyesini artırma yoluyla hemoglobin-oksijen ayrışma eğrisinin sağa kaymasına ve böylece oksijenin dokulara daha kolay bırakılmasına sebep olmaktadır.¹¹⁴ Hidrojen peroksit lökositlerde çeşitli interferon, IL, TGF sentezini artıran uyarıları tetiklemek suretiyle immün sisteme etki göstermektedir. Plateletlerde, makrofajlarda, endotelial hücrelerde ve respiratuar epitelyumda ise çeşitli otokoid ve büyüme faktörlerini arttırmaktadır.¹¹⁶

Aynı anda üretilen ve diğer O₃ habercisi molekül olan LOÜ yarı ömürlerinin daha uzun olması sebebiyle yarı ömrü çok kısa olan ROT'nin ilk etkileri sonrasında O₃'ün gecikmiş etkilerinden sorumlu tutulmaktadır. Bu nedenle lipit oksidasyon ürünlerinin vücutta oluşan akut oksidatif stresi tüm hücrelere bildiren ikincil haberciler oldukları düşünülmektedir. Bu O₃ habercileri vasküler sisteme ulaşırlar ve geç etkileri tetikledikleri birkaç organla etkileşime girerler. Bu gerçek hedeflerden bazıları karaciğer (kronik hepatitte), vasküler sistem (vaskülopatilerde) iken, diğer organlardaki (merkezi sinir sistemi, gastrointestinal sistem, mukozal ilişkili lenfoid doku) etkileri muhtemelen normal homeostazın restorasyonudur. Özellikle kemik iliği, akut oksidatif strese cevap olarak, antioksidan enzimleri artırır ve eritrogenезisi tetikler. Bunun sonucunda kemik iliğindeki diğer kök hücrelerin salınımını arttırarak bu molekülleri iskemik dokulara sunmaktadır. Buna ek olarak lipit oksidasyon ürünleri endotelyuma etki eder ve güçlü vazodilatör olan NO salınımını arttırmakta ve nöroimmünomodülatör bir etki ile de O₃ tedavi sırasında hastalar tarafından ifade edilen 'kendini iyi hissetmeden' sorumlu tutulmaktadır. Son olarak, LOÜ diğer organlar üzerinden Oksidatif Şok Proteinleri (OSP)'nin ve antioksidan enzimleri (Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon-peroksidaz) upregülasyonunu aktive ederler.^{11,112,114,116}

Medikal O₃ uygulamasının amacı akut oksidatif stres oluşturmaktır. Oluşturulan bu stres yeterli düzeyde (aksi takdirde plasebodur), hesaplanmış (eşik seviyelerinin altında ya da çok üzerinde değil) ve geçici (kronik oksidatif stres değil) olmalıdır ve antioksidan sistemi etkisiz bırakmaması, herhangi bir toksiteye neden olmaması son derece önemlidir.¹¹ O₃ bu yönüyle biyolojik oksidatif stres için etkili bir modüle edici ajan gibi davranarak pro-oksidan ve antioksidan sistemleri ve ayrıca inflamasyonu

stabilize eder. ¹¹³ Tekrarlayan O3 uygulamaları ile de bu oksidatif strese karşı adaptasyon gelişmektedir ve bunun sonucunda antioksidan enzim ve molekül düzeyleri artmaktadır. Böylelikle vücut oksidatif strese karşı daha dirençli hale gelip yaşlanma, kronik enfeksiyonlar, diyabet, ateroskleroz, dejeneratif hastalıklar, kanser ve diğer hastalıklara bağlı oluşan kronik oksidatif stresi tam tersine çevirebilmektedir. ¹¹⁷

Tablo 2. Kanın Ozonlanmasının Vücutta Bilinen Etkileri

<p>Kan reolojisinin iyileştirilmesi.</p> <p>Eritrositlerdeki glikolitik yolağın iyileştirilmesi.</p> <p>2,3-DPG miktarının artırılmasıyla eritrositlerdeki heksoz-monofosfat şantının aktive edilmesi.</p> <p>HbO₂ disosiyasyon eğrisinin sağa kaydırılmasıyla hipoksik dokulara oksijen sunumunun artırılması.</p> <p>Hipoksik dokularda bulunan eritrositlerdeki ATP miktarının artırılması.</p> <p>NO ve prostosiklin salınımının artırılmasıyla vazodilatasyon oluşturulması.</p> <p>Trombositlerden büyüme faktör ve lökositlerden sitokin salınımı.</p> <p>O₃ toleransı ve antioksidan enzim sistemi kapasitesinin artırılması.</p> <p>CO ve bilirubin salınımıyla HO-1 aktivitesinin artırılması.</p>
--

ROT sadece O₃'ün ex vivo ortamda, deney tüpünde, bulunduğu kısa süre zarfında üretilebilmekte olup O₃'ün kandaki erken biyolojik etkilerini oluştururlar. Diğer yandan eşzamanlı olarak oluşan, daha uzun yarılanma ömrüne sahip LO₂ ise donöre O₃'lü kan reinfüzyonları süresince var olduğundan dolayı vasküler sistem ve neredeyse tüm vücutta oluşan geç dönem etkilerden sorumludurlar. HT sonrası ozonlanmış kanın vücuda verilmesiyle oluşan terapötik etkiler Şekil 5'de gösterilmiştir. ¹¹⁷

2.8.4. Ozon Terapinin Klinik Uygulamaları

O3 tedavisi, özellikle inflamatuvar sürecin yoğun olarak meydana geldiği ve immün sistemin ön planda tutulduğu fizyopatolojik durumlarda yardımcı tedavi protokolü olarak kullanılmaktadır. Medikal O3'ün vazodilatasyona neden olan NO düzeyini arttırması, iskemik dokulara oksijen, glikoz ve ATP sunumunu arttırması, anjiyogenezi uyarıp doku rejenerasyonunu arttırması, kemik iliği kök hücrelerini uyarması, antioksidan enzimleri arttırıp nörohümorale cevabı uyararak hayat kalitesini düzeltmesi nedeniyle geniş bir hastalık grubunda etkili olduğu düşünülmektedir.¹¹⁴ O3 uygulamaları yara iyileşmesi, yaşa bağlı makuler dejenerasyon, iskemik ve enfeksiyöz hastalıklarda yapılan vaka analiz çalışmalarında olumlu etkiler göstermekle birlikte basit diş ve ağız enfeksiyonlarından hepatitlere kadar uzanan geniş bir aralıktaki çeşitli enfeksiyon hastalıklarında etkin tedavi yöntemi olarak uygulanmaktadır.^{118,119}

2.8.5. Ozon Terapinin Kullanım Alanları

Şimdiye dek objektif olarak tartışılmış mevcut klinik çalışmaların gösterdiği üzere ozonoterapinin kullanıldığı bazı hastalıklar¹¹;

❖ Birinci kategori;

- 1) Osteomyelit, plevral ampiyem, fistülize abseler, enfekte yaralar, ağır yaralar, kronik ülserler, diyabetik ayak ve yanıklar.
- 2) İleri iskemik hastalıklar (alt ekstremitte iskemisi ve kardiyak iskemi).
- 3) Senil maküla dejenerasyonu (atrofik form).
- 4) Ortopedik rahatsızlıklar ve lokalize osteoartroz.
- 5) Kronik yorgunluk sendromu ve fibromiyalji.
- 6) Primer diş kökü çürükleri, özellikle çocuklarda.
- 7) Kronik veya rekürren oral kavite enfeksiyonları.

❖ İkinci kategori:

- 1) Akut ve kronik enfeksiyon hastalıkları, özellikle kemoresistans bakteri, virüs ve mantar enfeksiyonları (hepatit, herpetik enfeksiyonlar ve herpes zoster, papillomavirüs enfeksiyonu, onkomikozis ve kandidiyazis, giardiyazis ve kriptosporidiozis)
- 2) Kansere ilişkili yorgunlukta modern tedavi yöntemleriyle birlikte uygulanan O3 terapi sonuçları iyileştirmekte.

❖ Üçüncü kategori:

- 1) Otoimmün hastalıklar (multiple sklerozis, romatoid artrit (RA), Crohn hastalığı, psöriyazis).

- 2) Senil demans.
- 3) Pulmoner hastalıklar (amfizem, astım, KOAH, idiyopatik pulmoner fibrozis ve ARDS).
- 4) Deri hastalıkları (psöriyazis ve atopik dermatit).
- 5) Metastatik kanser.
- 6) Ciddi sepsis ve multiple organ yetmezliği.

❖ **Dördüncü kategori:**

- 1) Retininis pigmentoza
- 2) Ani işitme kaybı ve tinnitus.

Bu hastalıklarda modern tedavi yöntemleriyle birlikte ozonoterapi uygulanması artık etik zeminde uygun görülmekte ancak hala yeterince klinik kanıt yoktur. ozonoterapi düşük maliyet ve yan etkisiz oluşuyla birlikte konvansiyonel tedavi yöntemlerine eş değer etkinliğe sahiptir ve hala keşfedilmeyi beklemektedir.

2.8.6. Osteoartrit Tedavisinde Ozonun Kullanımı

O₃'ün tıbbi literatürde ilk olarak tendinit ve miyofasyal ağrıdan etkilenen hastalarda uygulanması 1970'lerde Dr. Alexander Balkany tarafından yapılmıştır. Sonrasında birçok araştırmacı tarafından akut ve kronik poliartriti (diz OA, kalça, interfalangeal eklemler, sakroiliak eklemler, vb.), epikondilit ve karpal tünel sendromu olan hastalarda O₃ tedavisi uygulanmıştır. Yapılan kapsamlı bir derlemede akut ve kronik ağrılı eklem hastalıklarında tıbbi O₃ uygulamasının, hızlı ağrı kesici, ödemin giderici, lokal sıcaklığın azaltılması ve hareketliliğin artırılması için tamamlayıcı bir tedavi yöntemi olduğunu bildirmiştir. Ayrıca uzman kişilerce uygulandığında risksiz ve 5-10 dakika içinde kaybolan geçici lokal ağrı dışında olumsuz etkisi olmayan bir tedavidir.¹²⁰

O₃ osteoartiküler hastalıklarda; kemikte ve kıkırdakta vaskülarizasyonu artırarak anabolizmi ve iyileşmeyi hızlandırır, PG'ler üzerinde O₃ aktivasyonu ile anti-enflamatuar etki, otoimmün ve enflamatuar hastalıklar (örneğin RA ve OA) üzerinde immünomodülatör etki, kemik ve kıkırdak üzerindeki trofik etkiler ile etkisini gösterir.¹¹³ Sinovyal boşluğa enjekte edilen güçlü bir oksidan olan O₃ buradaki iltihap veya dejenerasyonu artırmaz tam tersine paradoksal etki ile inflamasyonu azaltıcı yönde davranır.¹¹

O₃ sinovyal sıvı üzerine enjekte edildikten sonra etkilerini O₃ habercileri (ROT ve LOÜ) üzerinden yapmaktadır. Bu erken haberciler;

- a) Proteolitik enzimlerin / proinflamatuvar sitokinlerin salınmasının inaktivasyonu-

inhibisyonu;

b) Artmış matriks ve muhtemelen eklem kıkırdağı sentezi ile kondrositlerin (muhtemelen H₂O₂, ROT yoluyla) ve fibroblastların proliferasyonunun uyarılması.

c) Antioksidan enzimlerin (süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz) sentezinin uyarılması ile O₃'ün kronik oksidan durumuna uyarlanabilir yanıtta çok önemli bir olaydır. Bu yüzden başlangıçta O₃ düşük dozlarda enjekte edilmelidir.

d) Ödem ve ağrının giderilmesi ile bradikinin salınmasının / enflamatuar PG'lerin sentezinin muhtemel inhibisyonu;

e) IL-1, IL-8, IL-12, IL-15 ve TNF-a gibi proenflamatuar sitokinleri nötralize edebilen IL-1 çözümlü reseptörünün veya diğer bazı çözümlü reseptörlerin ve antagonistlerin salınımının artırılması.

f) İmmünesüpresif sitokinlerin (TGF- β 1 ve IL-10) salınarak inflamasyonun engellenmesi gibi birtakım mekanizmalar aracılığıyla etkisini göstermektedir.^{110,111}

O₃ habercileri olan ROT ve LOÜ'nün oluşumunun sinoviyal sıvılarda iki fazda etki edeceği varsayılmaktadır. İlk aşamada O₃, inflamasyonu azaltan proenflamatuar sitokinleri (azalan fosfolipaz A₂, COX I ve COX II inhibisyonu yoluyla PGE₂ ve lökotrienler gibi) kallikrein ve bradikinin azaltarak inhibe eder. Kollajenaz, jelatinaz ve agrekanaz gibi metaloproteinazların ve serotoninin salınmasını engelleyerek kıkırdak hasarını önlemektedir.^{11,121} Geç aşamada, O₃ antioksidan enzimlerin, inhibitör sitokinlerin (IL-4, IL-10, TGF- β), neoanjyogenez, NO sentezinin uyarılması ve endorfin, ACTH ve kortizol salınımının uyarılması üzerinde etki etmektedir. Tüm bunlar, proteoglikanları, GAG'leri ve kollajeni sentezlemek için kondrositleri, fibroblastları ve kök hücreleri uyararak eklemdeki onarıcı süreçte rol almaktadır.¹¹

Günümüzde O₃'ün diz OA'sı veya disk herniasyonunda ağrı ve inflamasyonun azaltılmasındaki etkinliği üzerine birkaç klinik çalışma bulunmaktadır.¹²² O₃'ün diz OA genel olarak etkisi diz eklem fizyolojisi üzerindeki etkilerine bağlıdır. O₃'ün diz OA'da hareket aralığını geliştirdiği, dejeneratif süreci yavaşlatmakta ve hücre geçirgenliğini arttırarak eklem efüzyonunu azaltmaktadır.¹¹³ O₃ OA'da meydana gelen kıkırdak yıkımından ve onarımından sorumlu olan birkaç sitokin üzerinde etkili olmasıyla etkisini göstermektedir. O₃, hücre iyileşmesini hızlandıran TGF- β 1 üretimini uyarırken, IFN-y, IFN- β , IL-2, IL6, IL-8, TNF- α , TGF- β , IL-4 ve IL 12 gibi birtakım sitokinlerin üretimini indüklemektedir.¹²⁰ Yapılan bir çalışma sinovyal sıvıdaki O₃'ün proenflamatuar sitokinlerin (IL 6, IL-1 ve TNF-a) üretimini azalttığını göstermiştir.¹²³

Diz OA'sında O₃ tedavisinin enjeksiyon uygulanma şekli hacmi ve gaz

konsantrasyonu açısından büyük farklılıklar vardır. ¹²² Genel kullanım eklem içi, periartiküler ve subkutan yolla, 5-6 hafta boyunca haftada iki kez 10 ug / ml konsantrasyonda, gaz hacmi eklem içi enjeksiyonlar için 20 ml, periartiküler ve subkutan enjeksiyonlar için 10 ml olarak önerilmektedir.

Literatürde diz OA'sında O3 kullanımı ile ilgili yayımlanan çalışmalar sınırlıdır. Yapılan çalışmalara bakıldığında diz OA'sı ve RA tedavisinde O3'ün ilk kullanımının Fahmy ve Riva Sanseverino'nun yaptıkları çalışmalar olduğunu görmekteyiz. ^{124,125} Literatürde yapılan çalışmalar diz OA'sında O3 uygulamasının ağrıyı kontrol eden, eklem fonksiyonlarını iyileştiren etkili bir tedavi olduğunu göstermiş ve genel olarak yazarlar diz OA'sında %74 ve %87 arasında değişen oranlarda başarılı olduğunu bildirmişlerdir. ^{10,126-128}

Sonuç olarak O3, enflamatuar sitokinleri, MMP, NO, PG'leri inhibe ederek ve anti-enflamatuar sitokinleri, büyüme faktörleri, kondrositleri ve kök hücreleri uyarak etki göstermektedir. Eklem kıkırdağı ve subkondral kemik üzerinde trofik etkileriyle vaskülarizasyonunu ve kıkırdak doku onarımını destekler ve komplikasyonlarının çok az olması, kolay uygulanabilmesi, tekrarlanabilir bir tedavi olması ve sonuçlarının sürdürülebilir olması yönüyle önerilen bir tedavidir. ¹²⁹

2.8.7. Ozonoterapinin Yan Etkileri ve Kontrendikasyonları

O3 tedavisinin yan etkileri yok denecek kadar azdır ve şimdiye kadar bildirilen yan etkiler uygulama hatalarına bağlı komplikasyonlardır. ¹²⁰ Tıbbi olarak O3'ün kullanımını engelleyen ve kısıtlayan bazı durumlar vardır;

- ❖ Glikoz-6-fosfat dehidrojenaz eksikliği,
- ❖ Erken evrede hamilelik (olası olmasa da, herhangi bir mutajenik riski hariç tutmak için),
- ❖ Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri kullanan hastalar,
- ❖ Hipertiroidizm, trombositopeni, ciddi kardiyovasküler instabilite ve
- ❖ O3'e alerji varlığında O3'ün tedavide kullanımı bu hastalar açısından sakıncalı olabilmektedir.

Bu durumlar dışında O3 çok güvenli bir tedavidir çoğu araştırmacı tarafından resmi bir kontrendikasyon belirtilmemiştir. ¹²⁰

2.9. Hiperbarik Oksijen

2.9.1. Hiperbarik Oksijen Tanımı ve Tarihçesi

HBO tedavisi kapalı bir basınç odasında, bir atmosferden (1 ATA= 760 mmHg) daha yüksek basınç altında %100 oksijenin aralıklı olarak solutmak suretiyle uygulanan sistemik bir tedavi yöntemidir. HBO tedavisinde basınç genellikle atmosfer basıncı mutlak (ATA) katları olarak ifade edilir ve 1 ATA, 1 kg / cm² veya 735.5 mm Hg'ye eşittir. Çoğu HBO tedavisi 2 ila 3 ATA'da gerçekleştirilir. Basıncın terapötik etkisinin çok önemli olduğu hava embolisi ve dekompresyon hastalığında, tedaviler sıklıkla 6 ATA gibi yüksek değerlerden başlamaktadır.¹⁴

HBO tedavisi özellikle 1930'lardan sonra Amerikan ve İngiliz Donanmaları tarafından dekompresyon hastalığının tedavisinde rutin olarak kullanılmaya başlanmıştır ve uzun zamandır dekompresyon hastalığında birincil tedavi olarak kabul edilmektedir.¹³⁰ 1961 yılında Boereme ve Brummelkamp'ın HBO'yu gazlı gangrenli bir hastada kullanmaları ile klinik uygulamaya geçmiş ve 1963 yılında Amsterdam'da ilk uluslararası HBO toplantısı yapılmıştır.¹⁴ HBO endikasyonları yıllar içinde çeşitlilik göstermiş ve zamanla birtakım değişikliklere uğramıştır. Son 20-30 yıldır çok çeşitli akut ya da kronik bozuklukların tedavisinde primer tedavi yöntemi olarak veya yardımcı tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır.^{14,131,132}

2.9.2. Hiperbarik Oksijenin Etki Mekanizması

HBO'nun hem terapötik hem de toksik etkileri vücutta oluşturduğu iki temel etkisinden kaynaklanmaktadır. Bunlardan ilki tedavinin oluşturduğu basınç artışına bağlı mekanik etkidir. İkincisi vücuttaki tüm dokularda oluşturduğu parsiyel oksijen basıncının artışının (hiperoksi) fizyolojik etkileridir.¹⁴

HBO'nun oluşturduğu mekanik etki Boyle kanununa göre açıklanmaktadır. Boyle kanuna göre gazların basınçları ve hacimleri arasında ters bir orantı olması nedeniyle oluşan basınç artışı dolaşımdaki ve dokulardaki gazların hacimlerini ve dolayısıyla gaz kabarcıklarının çaplarını küçültmektedir. Çapları küçülen dolaşımdaki hava kabarcıklarının yüzey gerilimi artacağından çapları belli bir değere düştükten sonra kollabe olarak absorbe edilirler. Bu mekanizma HBO'nun mekanik etkisini açıklamaktadır ve basıncın mekanik etkisi en iyi dekompresyon hastalığı ve iyatrojenik hava embolisi vakalarının tedavisinde ortaya çıkan kabarcıkların boyutunun ortam basıncının artırılarak mekanik olarak boyutlarının azaltılması ile uygulanmaktadır. Oluşan basınç artışı 5 atm olduğunda kabarcık orijinal hacminin %20'sine ve çapının %60'ına indirilmektedir. Bu hastalıkların tedavisinde kabarcıklar HBO'nun mekanik etkisinden yaralanarak küçültülerek kollabe

olmasıyla doku perfüzyonu tekrar sağlanabilmektedir. ^{14,133}

Artmış basınç diğer yandan kan plazmasında çözünmüş oksijen seviyesini önemli ölçüde artırarak serum hiperoksisine yol açar ve HBO tedavisinin ikinci faydalı etkisini oluşturur. Henri kanuna göre hiperbarik ortamda %100 oksijene maruz kalındığında plazmadaki oksijenin çözünürlüğü artarak dokularda ve biyokimyasal reaksiyonlarda birtakım etkilere yol açar. ¹³⁴ 1 ATA'lık atmosfer basıncında hava solunduğunda %97 satire olan hemoglobinin saturasyonunu %100 den daha fazla artırmak mümkün olmayacağından kanda hemoglobinle taşınan oksijen miktarı da artmayacaktır. Hiperbarik koşullarda ise solunan oksijen parsiyel basıncındaki artıştan dolayı, plazmada çözünen oksijen miktarı da artmaktadır. Çözünen oksijen miktarı ise HBO'nun uygulanma basıncına bağlı olarak artmaktadır. Hatta bu artış 3 ATA'da uygulanan %100 HBO tedavisiyle oksihemoglobine gerek kalmaksızın, dokuların ihtiyacını karşılayacak yeterli oksijenasyonu sağlamak bile mümkündür. Plazmada çözülmüş oksijen hücrelere direkt utilize olabilmekte olduğundan hücrelerin direkt kullanabileceği yapıdadır. ¹⁴ Dokulardaki bu oksijen artışı vücutta yara iyileşmesini olumlu yönde etkileyen birçok biyokimyasal değişikliğe neden olur ve kötü iyileşen tüm doku yaralarında oksijen konsantrasyonunu arttırarak iyileşmeyi olumlu yönde etkilediği düşünülmektedir. ¹³⁵ Yapılan birçok çalışma HBO tedavisinin eklem kıkırdağı hasarında apoptozu önlediğini, kıkırdak defektlerindeki hücre büyümesini ve proteoglikan sentezini arttırdığını göstermiştir. ^{16,17}

2.9.3. Hiperbarik Oksijen Tedavisi Endikasyonları

HBO tedavisi endikasyonlarını belirleyen uluslararası kuruluş olan Undersea and Hyperbaric Medical Society (UHMS) HBO tedavisinin güvenli kullanımı için 14 endikasyon bildirmiştir. ¹⁵ Bu endikasyonlardan ilk beşinde HBO standart tedavi olarak kullanılmaktayken, geri kalanlarında ise yardımcı tedavi olarak uygulanmaktadır. HBO tedavisinin UHMS'e göre endikasyonları; hava veya gaz embolisi, karbonmonoksit zehirlenmesi, klostiridial enfeksiyonlar, ezilme yaralanmaları, kompartman sendromu ve diğer akut travmatik iskemiler, dekompresyon hastalığı, problemlı yaralarda iyileşmenin hızlandırılması, kan kaybına bağlı anemiler, intrakraniyal abseler, nekrotizan yumuşak doku enfeksiyonları, kronik refrakter osteomyelit, radyasyonun geç dönemde yol açtığı problemler, problemlı cilt greftleri ve flepler, termal yanıklar olarak belirtilmektedir. ¹⁵

2.9.4. Hiperbarik Oksijen Tedavisi Kontrendikasyonları

HBO tedavisi için günümüzde bildirilen tek mutlak kontrendikasyon tedavi edilmemiş pnömotoraktır. Bunun dışında bazı kemoterapötik ilaçların (Doksorubisin, Sisplatin), antibakteriyel ilaçların (Mafenid asetat) ve disülfiramın HBO tedavisi sırasında

toksik olduğu gözlemlenmiştir. ¹³⁶

Göreceli kontrendikasyonlar arasında üst solunum yolu enfeksiyonu, radyografide asemptomatik pulmoner lezyonlar, toraks veya kulak cerrahisi hikâyesi, kontrol edilemeyen hipertermi-hipotermi, gebelik, bayılma nöbetleri, karbondioksit retansiyonu ile oluşan amfizem, malignite varlığı, optik nörit, konjestif kalp yetmezliği, klostrofobi, kalp pili varlığı bulunmaktadır. ¹³⁶

2.9.5. Hiperbarik Oksijen Tedavisi Komplikasyonları

HBO tedavisinde en fazla görülen komplikasyon orta kulak barotravmasıdır. Bunun dışında;

- ❖ Akciğer barotravması
- ❖ Paranasal sinus barotravması
- ❖ Dekompresyon hastalığı
- ❖ Miyopi, katarakt
- ❖ Oksijene bağlı toksite ve diğerk komplikasyonlardır. ¹³⁵

2.9.6. Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Ortopedik Uygulamaları

UHMS tarafından kabul edilen 14 endikasyondan hava embolisi ve dekompresyon hastalığının tedavisi diğerklerine göre çok daha iyi tanımlanmış olup bu tedavilerin sonuçlarına yönelik daha güçlü kanıtlar mevcut olduğu bildirilmiştir. ¹³⁶ HBO tedavisinin ortopedi ve travmatoloji alanındaki çeşitli hastalıklarda başarılı uygulama sonuçları olmakla birlikte bazı endikasyonlarda mevcut kanıtların zayıflığı ve randomize kontrollü çalışmaların eksikliği nedeniyle, HBO tedavisinin etkinliğini belirlemek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

1) Akut Travmatik İskemi, Ezilme Yaralanması, Kompartman Sendromu

Akut travmatik iskemi, dokularda ve kapiller yatakta dolaşımı tehlikeye atarak ödem ve iskemiye neden olan, ekstremitede nekroz veya ampütasyon riski oluşturabildiği gibi sekonder komplikasyonlar ile enfeksiyon, iyileşmeyen yaralar ve kırıkta kaynamama gibi durumlara da yol açabilen travmalardır. ^{14,136} HBO tedavisinin bu yaralanmalarla ilişkili morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde azalttığı birçok çalışma ile gösterilmiştir. HBO tedavisi, vazokonstriksiyon yoluyla ödemi azaltarak ve plazma akışı yoluyla oksijen iletimini artırarak akut revaskülarizasyon aşamalarında ekstremiteyi kurtarmaya yardımcı olabilmektedir. ¹³⁷ HBO tedavisi ile sağlanan yüksek oksijen gradiyenti büyük damarlardaki tıkanıklığa bağlı oluşan iskemi süresince distal dokulardaki hipoksik zonda parsiyel oksijen basıncını yükselterek dokuların canlılığının devamına imkân sağlamaktadır. ¹³⁶

Ezilme yaralanmaları ekstremitedeki birden çok dokuda (eklemler, kemikler, tendonlar, kaslar ve cilt) travma oluşturabilen yaralanmalardır. Bu yaralanmaların tedavisinde yüksek arteriyel oksijen basıncı, doku oksijenasyonunu iyileştirir, vazokonstriksiyon ile travmatik ödem ve kompartman sendromu olasılığını azaltmaktadır.¹³⁸ Ezilme yaralanmalarında ekstremitelerde oluşan posttravmatik iskemi, dokularda glikolizi kullanan anaerobik metabolizmanın devreye girmesine neden olur. Bu durum dokuların temel hücresel faaliyetleri için gerekli olan enerjinin iskemi durumunda glikolizle elde edilen az miktardaki enerji ile karşılanamamasına ve hücre ölümüne neden olmaktadır. HBO tedavisi ile aerobik metabolizma uyarılmakta temel hücresel faaliyetler için gerekli olan enerji sağlanmaktadır.¹³⁸ Yapılan çalışmalar ezilme yaralanmalarında cerrahiye ek olarak HBO tedavisinin başarıyla uygulanabilen bir tedavi olarak kullanılabileceğini göstermiştir.^{139,140}

Kompartman sendromu fasyalar arası veya kemik fasya arası kapalı bir anatomik boşluk olan ekstremitte kompartmanlarındaki interstisyel doku basıncının kapiller perfüzyon basıncını aştığı durumlarda ortaya çıkan ve sonuç olarak mikrosirkülasyonu bozarak iskemik kas ve sinir hasarına yol açması ile karakterizedir.¹⁴¹ Bu sendrom, travma, ezilme yaralanması ve akut ve kronik efor durumları dahil olmak üzere çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişebilmektedir.¹⁴² Kompartman içinde basıncın artması ile kapiller perfüzyon azalması sonucunda mikrosirkülasyon bozulur. Sonuçta tablonun şiddeti ile orantılı olarak iskemi, fonksiyon kaybı ve kompartman içi dokuların nekrozu gelişebilir. Ekstremitelerdeki kompartman sınırlı bir hacme sahip olduğundan dolayı, doku basıncı artmaya devam ettikçe nihayetinde doku perfüzyonu tamamen bozulmasıyla sonuçlanır. Sonuçta ortaya çıkan doku iskemisi ve nekroz, kalıcı fonksiyon kaybına ve kontraktürlere yol açabilir. İskemiden 4 saat sonra geri dönüşümsüz sinir hasarı görülebilir ve 8. saatte kalıcı kas fonksiyon kaybına neden olabilir.¹⁴³ Bu nedenle eğer kompartman içi basınç kritik seviyelerin üzerine çıkmışsa cerrahi tedavi (fasyotomi) gerekli olabilmektedir. Fasyotomi iskemik sekellerin önlenmesi için kalıcı değişiklikler meydana gelmeden önce yapılmalıdır.¹⁴⁴ Fasyotomi sonrası ödem ve iskemi hemen çözülmeyebilir ve dolaşım normale dönmüş olsa bile reperfüzyon ekstremitede ek hasara yol açabilir.¹⁴¹ Kompartman sendromunda HBO tedavisinin en önemli iki etkisi hiperoksijenasyonu sağlaması ve ödemi azaltmasıdır.^{142,144} HBO, hipoksik dokulardaki doku oksijen gerilimini, oksidatif hücresel fonksiyonun meydana gelebileceği ve iskemik hasarı önleyebileceği veya azaltacağı bir seviyeye yükseltir. HBO 'nun diğer bir önemli etkisi ise vazokonstriksiyona sekonder olarak dokudaki ödemi azaltmasıdır.¹⁴² Kompartman sendromunda oluşan doku ödemi

oksijenin kapiller dolaşımından hücelere ulaşabilmesi için gereken mesafeyi artırmaktadır. HBO ile artan parsiyel oksijen basıncı doğrudan kan damarlarına etki ederek vazokonstriksiyona neden olarak kan akışını yaklaşık %20 oranında azaltır. Bu durum yaralanma bölgesinin perfüzyon basıncında eşzamanlı olarak azalmaya yol açar.^{142,144} Vazokonstrüksiyon nedeniyle dokuda oluşan azalmış akımı ise plazma hiperoksijenasyonu ile telafi etmektedir. Sonuç olarak HBO 'nin dokudaki net etkisi doku oksijenasyonunun artırılması, azalmış kapiller basınç ve azalmış ödemdir. Bu, ekstravasküler sıvının emilimine ve interstisyel sıvı basıncının azalmasına yol açarak mikrodolaşımın düzelmesine neden olur. Yapılan çalışmalar kompartman sendromunda cerrahiye ek olarak HBO tedavisinin başarıyla uygulanabilen bir tedavi olarak kullanılabileceğini göstermiştir.¹⁴⁴

2) Refrakter Osteomyelit

Kemiğin bakteriyel enfeksiyonu olan osteomyelit için antibiyotik profilaksisi ve cerrahi debridman standart tedavi yöntemidir.¹⁴⁵ HBO mevcut tedavilere ek yardımcı tedavi olarak kullanılmaktadır. HBO plazmada çözülmüş oksijeni artırarak bazı klinik etkileri oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalar HBO verilmeden önce ve verildikten sonra osteomyelitik kemiklerdeki oksijen geriliminin normal kemiğe göre yarı yarıya düşük olduğunu göstermiştir.¹⁴⁶ Mader yaptığı çalışmada HBO tedavisi ile kemik enfeksiyonlarıyla ilişkili azalan oksijen geriliminin normal seviyelere veya normal seviyelerin üzerine dönebileceğini göstermiştir.¹⁴⁶ Enfekte kemikteki hipoksi, muhtemelen azalmış perfüzyona ve enflamasyon varlığına bağlıdır. HBO tedavisi ile enfekte ve normal kemikteki oksijen basıncını artırarak hipoksi durumdan normal veya hiperoksi seviyelerine periyodik olarak yükselmesini sağladığı saptanmıştır.¹⁴⁶ Oksijen, toksik oksijen radikalleri nedeniyle bakterileri doğrudan öldürürler.¹⁴⁷ Diğer yandan lökositlerin öldürme etkisi için en az 30 mm hg oksijen basıncı gereklidir fakat enfekte kemik dokuda bu yaklaşık 20 mm hg 'dir (normalde 30-40 mmHg). HBO tedavisi dokudaki oksijen basıncını artırarak bakterilerin bakterisidal yeteneğini artırır. Nitekim Mader yaptığı bir çalışmada bu basıncın 45 mm hg'den 150 mm Hg'ye çıkarıldığında bakterisidal etkininde %40 arttığını göstermiştir.¹⁴⁸ HBO ile oluşan oksijenizasyon artışı antibiyotiklerin bakterisidal etkisini güçlendirmektedir. Osteoklast fonksiyonlarını da düzenleyerek nekrotik kemiğin rezorbe edilmesini sağlar. Yapılan çalışmalar insanlar üzerinde plasebo kontrollü ve çift kör çalışmalar olmamakla birlikte, hayvan deneyleri ve klinik deneyimler kronik refrakter osteomyelit vakalarında HBO tedavisinin faydalı olduğunu göstermektedir.¹⁵

3) Osteonekrozlar

Osteonekroz (avasküler nekroz, iskemik nekroz, aseptik nekroz kemiğin dolaşım bozukluğuna bağlı gelişen kemik beslenmesinin bozulmasına ve nekroz gelişmesine sebep olarak kemik dokuda ölüme yol açan bir patolojidir. Osteonekroz gelişiminde steroid kullanımı, alkol tüketimi, pankreatit ve lipit bozuklukları, travma, koagülasyon bozuklukları, alkol, radyoterapi, antirezorptif ilaç kullanımı gibi çeşitli etmenler bildirilse de hastalar bilinen herhangi bir risk faktörü olmadan da (idiopatik) osteonekroz geçirebilmektedir. En sık femur başında görülmekle birlikte humerus başı, diz (femoral kondiller, proksimal tibia), ayağın küçük kemikleri, ayak bileği, el (skafoid ve lunat kemikleri), vertebra ve yüz kemiklerinde de görülebilmektedir.¹⁴⁹

Femur başı AVN tedavisinde kor dekompresyon, vaskülarize olan veya olmayan kemik greftleme, osteotomiler ve artroplasti, elektrik stimülasyonu, farmakolojik tedaviler ve HBO gibi birçok tedavi yöntemi tanımlanmış olup tedavide kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar HBO tedavisinin etkinliğini umut verici sonuçlarını bildirmiş olmakla birlikte, yayınlanmış hakemli literatürde AVN tedavisi için HBO kullanımını destekleyecek yeterli düzeyde kanıt yoktur. Çoğu çalışma vaka serisi ve küçük hasta popülasyonları ile retrospektif incelemeler şeklindedir.^{150,151} Yapılan çalışmaların çoğu Steinberg I veya II olguların tedavi edilebileceğini bildirmektedir.^{151,152} HBO'nun osteonekroz tedavisinde etkilenen kemiğin oksijenasyonunu artırdığı, diğer yandan da nekroze kemiklerin rezorbe edilmesi ve canlı kemikle yer değiştirme sürecini aktive ettiği de bildirilmektedir.^{150,151}

4) Gazlı Gangren

Gazlı gangren, HBO tedavisinin osteomyelit tedavisine benzer şekilde cerrahi tedavi ve antibiyotik tedaviyle kombine olarak kullanıldığı klasik tedavi endikasyonlarından biridir. Uygun şekilde ve zamanında tedavi edilmediği takdirde ekstremitte kaybı ve mortaliteye yol açabilen bir hastalık olan gazlı gangrende HBO tedavisi erken dönem kullanıldığında morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde azaltmaktadır. HBO tedavisi özellikle gazlı gangrende gazlı gangrenin ölümcül sonuçlara yol açan alfa toksin üretimini dakikalar içinde durdurur ve dokuların nekroza gitmesini önleyerek debridman ve amputasyon gereksinimini azaltır.

5) Nekrotizan Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Nekrotizan yumuşak doku enfeksiyonları, tipik olarak travma, cerrahi veya yabancı cisimler sonrası tek veya birden fazla bakterinin neden olduğu enfeksiyonlardır ve daha

çok diyabetik ve vasküler problemleri olan hastalarda görülürler. Bu enfeksiyonlarda asıl tedavi cerrahi ve antibiyotik tedavisidir fakat yüksek riskli olgularda, yeterli cerrahi ve antibiyotiğe rağmen enfeksiyon ilerliyorsa HBO tedavisi uygun olabilir. Cerrahi debridman ve antibiyotik tedavisine yardımcı olarak HBO kullanımı, anaerobik bakteriyel üremeyi durdurur ve vücudun enfeksiyona olan direncini artırır.

6) Diğer Ortopedik Uygulamalar

HBO, spor yaralanmalarının tedavisinde, sorunlu cilt greftleri/flepler ve replantasyonların tedavisinde, savaş alanındaki birçok yaralanmada, RA tedavisinde, kırık iyileşmesinin hızlandırılması, nonunionların tedavisinde ve kemik greftlerinin inkorporasyonu gibi alanlarda kullanılmaktadır.

HBO tedavisinin kırık dokuda apoptozisi önlediği, proteoglikan miktarında artışa ve kırık doku hasarını azalttığını gösteren hayvan deneyleri çalışmaları olsada bu tedavi yöntemi klinik pratikte kullanıma girmemiştir. OA tedavisinde HBO'nun bilinen bir klinik kullanımı kılavuz önerilerinde mevcut değildir.

2.10. Osteoartrit Çalışmalarında Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri

Literatürde hayvanlarda deneysel OA oluşumu için, spontan model (genetik olarak manipüle edilmiş veya doğal), kimyasal olarak indüklenen OA modeli, cerrahi olarak indüklenen OA modeli ve noninvaziv model tanımlanmıştır.¹⁵³ Her model, insan OA'sının farklı yönlerini stimüle ederek patofizyolojisini anlamada ve başarılı tedavi rejimleri geliştirmede önemli bir rol oynamaktadır.

Kimyasal olarak indüklenen OA modelleri, eklem içi enflamasyonu, doğrudan matriks hasarını veya kondrosit toksitesini uyarmak için çoğunlukla doğrudan eklem toksik veya enflamatuar bir bileşiğin enjeksiyonunu içermektedir. Papain, monosodyum iyodoasetat, kinolon ve kollajenaz, hayvanlarda OA'yı indüklemek için yaygın olarak kullanılan kimyasallardır. Bu model hayvanlarda cerrahi işlem ihtiyacını ortadan kaldırır ve olası enfeksiyon sorunlarından kaçınılmasını sağlarlar. İşlemin nispeten daha kolay ve tekrarlanabilir olması kısa süreli çalışmaların tasarlanmasında avantajlıdır.

Günümüzde en çok kullanılan model kronik travmatik OA modelini taklit eden mekanik instabilite yaratan cerrahi modellerdir. Yaygın olarak kullanılan cerrahi indüklenen modeller ÖÇB kesisi, menisektomi (kısmi ve total), medial menisküs yırtığı ve ovariektomidir.¹⁵³ Cerrahi modeller eklem destabilizasyonuna bağlı değişen eklem mekaniği ve eklem içi inflamasyonuna yol açan bir mekanizma kombinasyonu ile çalışmaktadır. Bu yöntemler, insanlardaki primer OA'yı temsil etmek için daha uygun olduğu düşünülen modeller oluşturur. Bu modellerin avantajları; doğru cerrahi teknik

uygulanması durumunda hastalık oluşma oranı yüksek olması, hızlı fakat kontrollü bir OA modeli oluşturması, kısa vadeli çalışmalar için uygun olması, yapısal elemanların veya özelliği olan mekanik komponentlerin OA gelişimine katkısını araştırma imkânı sunması, kimyasal etkileşim olmadan OA tedavisinde yeni ilaç modalitelerini araştırma imkânı vermesi ve spontan modellere kıyasla tekrarlanabilirlik avantajına sahip olmalarıdır.¹⁵³ Yaygın olarak kullanılan cerrahi indüklenen OA modelleri;

1. Parsiyel Menisektomi/ Total Menisektomi:

Parsiyel menisektomi hafif, progresif bir hastalık oluşturmak istenildiğinde tercih edilir.^{154,155} İnsanlarda olduğu gibi, menisektomi hayvanların eklemde de osteoartritik değişikliklere yol açar.^{92,156} Parsiyel menisektomi eklem dengesinin bozulmasına yol açarak hızlı dejenerasyonuna ve ÖÇB kesisinden daha şiddetli OA gelişimine neden olmaktadır.¹⁵⁷ Her bir hayvanın menisküsü üzerindeki yük taşıma şekli farkından dolayı cerrahi uygulamanın yönü ve yeri seçilecek hayvan modeline göre değişir. İnsanlar, kobaylarda olduğu gibi, genellikle dizin medial tarafını yük daha fazla binerken tavşanların lateral menisküslerini mediallyerinden daha fazla yüklenirler.¹⁵⁸

Total menisektomi hızlı hastalık progresyonu oluşturabilen bir modeldir.¹⁵⁹ Total menisektomiye benzer bir yaralanma mekanizmasına sahip olsa da çok daha ciddi osteoartritik değişikliklere yol açar. Köpekler total menisektomi modelinde en yaygın olarak kullanılan hayvanlardır.¹⁵³

2. Meniskal Yırtık Modeli:

Hayvanlarda medial menisküs yırtığı modeli, dizdeki medial kollateral ligamanın kesisi ile elde edilir.^{158,160} Proteoglikan ve kondrosit kaybına neden olarak kırıkdağı degradasyonuna neden olur. Ratlar ve kobaylar bu modeli kullanan hayvanların en çok incelenen örneklerdir. Ratlar için önerilen çalışma süresi, ameliyattan en az 3 hafta sonradır. Gine domuzlarının çalışmada avantajı, doğal osteoartritik değişiklikler için karşı eklemi karşılaştırma yeteneğidir.¹⁵⁸

3. ÖÇB Kesisi:

ÖÇB kesisi modeli bilinen en eski model olup günümüzde OA araştırmalarında en sık kullanılan cerrahi modeldir.¹⁶⁰ Bu model de ÖÇB hasarıyla eklem instabilitesi oluşturularak OA gelişimine neden olmaktadır. Bu model ÖÇB rüptürü gelişimi sonrası oluşan eklem kırıkdağı hasarı gelişimini taklit eden bir modeldir. OA'nın başlangıç komponenti olan eklem yüzeyinde yük dağılımı ve eklem hareketinin değişmesinin önemini destekleyen bir modeldir. Ayrıca ÖÇB kesilerek uygulanan modelin uzun dönem sonuçları; kinematik değişim, proteoglikan içeriğinde azalma, MMP aktivitesinde değişim

ve kırıkta ilerleyici erozyon olması ile insan ön çapraz hasarı ile benzerlik göstermektedir. Koyun ve keçi bu model için anatomik olarak en uygun hayvan grubu olmakla birlikte keçi insan dizine en yakın anatomiye sahiptir. ¹⁶¹ Meniskektomi ile karşılaştırıldığında, OA lezyonları daha yavaş gelişmesi bu modelin farmasötik çalışmalarda kullanım kolaylığını artırır. ¹⁶²

4. Ovariektomi:

Bu model cerrahi bir yöntem olsa da mekanik instabilite oluşturan OA modeli değildir. Ovariektomi modeli menopoz sonrası bireylerin osteoporoz geliştirdiği, östrojenin OA gelişiminde koruyucu bir işlev gördüğü ve sonuç olarak OA'ya neden olduğu insan prensibi üzerinden çalışmaktadır. ¹⁶³ Bu model her ne kadar terapötik müdahaleleri incelemek için kullanılmış olsa da OA gelişimine giden diğer patolojik yolların araştırılmasında da yararlı olacağına inanılmaktadır. ¹⁵³

5. Diğer yöntemler:

ÖÇB kesilmesinin parsiyel menisektomi birlikte uygulanması, ön çapraz ve arka çapraz bağın beraber kesilmesi, Varus/valgus osteotomisi ve kas rezeksiyonları gibi eklem dışı cerrahilerde OA oluşturulmasında kullanılan diğer cerrahi hayvan modelleridir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Planı

Bu çalışmada Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (ÇOMÜ) Deneysel Araştırma Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen 27 adet Wistar Albino cinsi erkek rat kullanıldı. Çalışma öncesi ÇOMÜ Hayvan Etik Kurulu'ndan çalışma için izinler alındı. Çalışma ÇOMÜ Deneysel Araştırma Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarında yapıldı. Çalışmaya dâhil edilen ratların ortalama yaşı 4,5 ay (3,0–6,0 ay) ve ortalama ağırlıkları 300 gram (250–350 gram)'dı. Hayvanlar rastgele 3 gruba ayrılarak her bir kafeste 3 hayvan olacak şekilde laboratuvar ortamında izlendiler. Çalışma boyunca ratlara limitsiz olacak şekilde musluk suyu (ad libitum) ve standart kemirgen yemi verildi. Hayvanlar 22 santigrad derece (°C) sıcaklık, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde takip edildiler. Çalışmaya dahil edilen ratlar 3 gruba ayrıldı;

Kontrol Grubu (K) (n=9): Sağ dize ÖÇB kesisi + sol dize sadece artrotomi yapılan, uygulama öncesi ve sonrası herhangi bir tedavi uygulanmayacak grup,

Hiperbarik Oksijen Grubu (HBO) (n=9): Sağ dize ÖÇB kesisi + sol dize sadece artrotomi yapılan, uygulamadan 2 hafta sonra başlayacak şekilde toplam 3 hafta HBO verilecek grup,

Ozon Grubu (O3) (n=9): Sağ dize ÖÇB kesisi + sol dize sadece artrotomi yapılan, uygulamadan 2 hafta sonra başlayacak şekilde toplam 3 hafta O3 verilecek grup (Tablo 3).

Tablo 3. Deney hayvanları dağılım tablosu.

Grup Adı	Hayvan sayısı
K	9
HBO	9
O3	9

Çalışma süresince denekler ÇOMÜ Deneysel Araştırma Merkezi'nde uygun beslenme şartlarında ve özel kafeslerde tutuldu. Ratlarda deneysel OA modeli oluşturmak için yapılan ÖÇB kesisini cerrahisini takiben 2. hafta klinik muayeneyi takiben ratlara gruplarına göre O3 veya HBO tedavisine başlandı. HBO grubundaki 9 rata günde 2 kez

HBO deney basınç odasında (Barotech Tıbbi Malzemeler Medikal Ürünleri, İstanbul, Türkiye) 3 hafta boyunca HBO inhalasyonu uygulandı. O3 grubundaki 9 rata medikal O3 jeneratöründen elde edilen (Turkozone Blue S, İstanbul, Türkiye) tıbbi O3 (%95 O2/%5 O3) günde 1 kez intraperitoneal yoldan 30 µg / ml konsantrasyonunda ve 2 ml hacimde olacak şekilde intraperitoneal yoldan uygulandı. O3 ve HBO tedavisi her iki gruba da toplam 21 gün süre olacak şekilde uygulandı. O3 ve HBO tedavisinin uygulaması her gün aynı saatlerde, aynı kişi tarafından uygulandı. Sağ dizlerine ÖÇB kesisi yapılan K grubu olarak kaydedilen 9 rata ise herhangi bir tedavi verilmedi.

Cerrahi işlemden 10 hafta sonra tüm ratlar servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edilerek deneysel OA modeli geliştirmek için ÖÇB'si kesilen sağ diz eklemleri ve sadece ÖÇB görülerek, ÖÇB kesilmeden artrotomi uygulanan sol diz eklemleri patolojik inceleme yapılması için sinovya, femur ve tibia eklem yüzeylerini içerecek şekilde çıkartıldı. Çıkartılan diz eklemleri ait oldukları grupların ismi ve yönleri gizli kalacak şekilde sınıflandırılarak numaralandırıldı ve histopatolojik değerlendirme yapılabilmesi için %10'luk formalin çözeltisi içeren patoloji kaplarına konularak ve patolojik inceleme için değerlendirmeye alındı.

3.2. Deneysel Osteoartrit Modelinin Oluşturulması

Gerekli takip ve hazırlıkları yapılan hayvanlar ameliyathaneye alınıp her bir ratın ağırlığı elektronik tartıyla tartılarak anestezi ilaç dozu hesaplandı. Anestezi olarak tüm gruplardaki ratlara intramuskuler olarak 30 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar R, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg xylazine hidroklorid (Xylasinbio, Bioveta, Ankara, Türkiye) anestezi sağlandı. Anestezi kombinasyonu intraperitoneal olarak uygulandı.

Deneysel OA modeli oluşturmak için Williams tarafından tanımlanan cerrahi yöntem kullanıldı.¹⁶⁴ Yapılan anesteziyi takiben ratlar sırt üstü yatırılarak ratların sağ ve sol diz bölgeleri traş edildikten sonra povidon iyodür (Batticon®, ADEKA, Türkiye) ile dezenfekte edildi. Sağ diz bölgesi açıkta kalacak şekilde steril cerrahi örtü ile örtüm yapıldıktan sonra 10 mg/kg Sefazolin Na preoperatif antibiyotik profilaksisi olarak intramusküler zerk edildi. Ratların dizlerine patella üst polünden başlayıp tüberositas tibiaya kadar longitudinal insizyon yapılarak cilt ciltaltı geçildi (Resim 1). Daha sonra medial parapatellar ile artrotomi yapılarak, patella laterale devrilip, ÖÇB makroskopik olarak görüldü (Resim 2) ve deneysel OA modeli oluşturmak amacı ile kesildi (Resim 3). ÖÇB kesildikten sonra ön çekmece testi yapılarak işlem doğrulandı (Resim 4). İşlem sonrası eklem steril izotonik solüsyon ile yıkanarak eklem kapsülü sentetik emilebilir

sütürle (pegelak 3/0, Doğsan, Trabzon, Türkiye), cilt insizyonu absorbe olmayan suture (Propilen 2/0, Doğsan, Trabzon, Türkiye) ile kapatıldı.

Tüm gruplardaki ratların sol diz eklemlerine patella üst polünden başlayıp tüberositas tibiaya kadar longitudinal insizyon yapıp, daha sonra medial parapatellar ile artrotomi yapılarak, patella laterale devrilip, ÖÇB ve eklem makroskopik olarak görülecek şekilde açılarak steril izotonik solüsyonla yıkama yapıldı. Ratların artrotomi yapılan sol dizlerine artrotomi sonrası ÖÇB kesisi uygulanmadı ve ÖÇB görüldükten sonra eklem steril izotonik solüsyon ile yıkanarak eklem kapsülü sentetik emilebilir suturele (pegelak 3/0, Doğsan, Trabzon, Türkiye), cilt insizyonu absorbe olmayan suture (Propilen 2/0, Doğsan, Trabzon, Türkiye) ile kapatılarak tüm gruplardaki ratların ÖÇB kesisi yapılmadan artrotomi yapılan sol dizleri negatif kontrol grubu olarak kaydedildi.¹⁶⁵ Tüm cerrahi işlem her ratta yaklaşık 25 dakika sürdü. Cerrahi tedavi sonrasında ratların dizlerine herhangi bir tespit uygulanmadı ve serbest dolaşımına izin verildi.



Resim 1. Orta hattan uygulanan longitudinal cilt insizyonu



Resim 2. Ratın diz eklemine artrotomi yapılarak ÖÇB'nin görülmesi



Resim 3. ÖÇB'nin kesilmesi



Resim 4. ÖÇB kesisi sonrası ön çekmece testi ile muayenesi

3.3. Ozon Uygulaması

Cerrahi işlemden 2 hafta sonra O3 grubundaki 9 rata medikal O3 jeneratöründen elde edilen (Turkozone Blue S) tıbbi O3 (%95 O₂/%5 O₃) günde 1 kez intraperitoneal yoldan 30 µg / ml konsantrasyonunda ve 2 ml hacimde olacak şekilde intraperitoneal yoldan uygulandı (Resim 5).



Resim 5. Tıbbi O3 Jeneratörü

3.4. Hiperbarik Oksijen Uygulaması

Cerrahi işlemden 2 hafta sonra HBO grubundaki 9 rata ÇOMÜ Deneysel

Araştırmalar Merkezindeki deney hayvanları için tasarlanmış hiperbarik oksijen tedavi odasında (Barotech Tıbbi Malzemeler Medikal Ürünleri) HBO inhalasyonu tedavisi uygulandı. Ratlar, içi 10 dakika boyunca %100 oksijen ile havalandırılıp, içerdiği normal hava bosaltılan deney hayvanları için tasarlanmış hiperbarik oksijen tedavi odasına alınarak odanın basıncı 10 dakika süresince yavaş bir şekilde 2,5 ATA' ya çıkartıldı. Takip eden 40 dakika boyunca hayvanlara 2,5 ATA basınç altında %100 oksijen uygulandı. Bu sürenin sonunda oda basıncı yine 10 dakika içinde yavaş bir şekilde 1 ATA' ya dūřürölüp tedavi sonlandırıldı. Bu tedavi protokolu 12 saatte bir olacak şekilde 3 hafta boyunca uygulandı (Resim 6, Resim 7).



Resim 6. HBO basınç odası



Resim 7. Ratların basınç odasına yerleştirilmesi

3.5. Histopatolojik Değerlendirme

10. hafta sonunda bütün ratlar servikal dislokasyon yoluyla sakrifiye edildi. Ratların sağ ve sol diz eklemleri femurdan distalinden 4 cm, tibiada proksimalden 4 cm bırakılacak şekilde alındı. Alınan materyaller 1 hafta süreyle %10'luk formaldehitte fikse edildi. Fiksasyonu takiben 5-7 gün süre ile (%7 nitrik asit) dekalsifiye edildi.

Dekalsifiksyon işleminden sonra, örnekler medial kondilin yapışma yerinden eklem aralığına dik olacak şekilde ikiye bölündü ve kasetlendi. Makroskopi işlemi sonrasında örnekler 2 gün daha dekalsifiye edildi. Bu örnekler asitten arındırılmak üzere akarsuda yıkandıktan sonra otomatik doku takip cihazında rutin doku takip işlemine maruz bırakıldı. Takip işleminden sonra parafine bloklara dokulardan 4 mikron kalınlıkta kesitler alınarak Hematoksilen&Eosin (H&E), histokimyasal Toluidin Blue boyaması yapıldı. Kesitler ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

Doku örnekleri temel olarak kıkırdak yapısı, hücresel yapılanma, matriks boyanması (Toluidin Blue) ve eklem yüzeyinin düzgünlüğü açısından incelendi. Bulgular (H&E ve T. Blue

ile) Mankin çalışmasına göre değerlendirildi (Tablo 4).¹⁶⁶ Mankin'in çalışmasından farklı olarak matriks safranin-o yerine Hayami'nin çalışmasındakine benzer olarak Toluidin blue ile boyandı.⁷⁸

Tablo 4. Mankin Skorlaması

Parametre	Tanım	Skor
Kıkırdak Yapısı	Normal	0
	Yüzey düzensizliği	1
	Pannus ve yüzey düzensizliği	2
	Transizyonel zona uzanan kleftler	3
	Radial zona uzanan kleftler	4
	Kalsifiye zona uzanan kleftler	5
	Kartilaj dokunun kaybı	6
Sellülarite	Normal	0
	Piknozis, hipersellülarite	1
	Kümelenmeler	2
	Hiposellülarite	3
Matriks Yapısı (Proteoglikan Azalması) T. blue boyanması	Normal	0
	Hafif azalma	1
	Belirgin azalma	2
	Aşırı azalma	3
	Boyanma yok	4
Tidemark	Sağlam	0
	Destrükte	1

3.6. İstatiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen veriler IBM Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Statistics 22 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile analiz edildi. Değişkenler için dağılımın normalliği Shapiro Wilk Normality testi ile test edildi. Normal dağılımı olmayan değişkenler için parametrik olmayan testler kullanıldı. Normal dağılımı olmayan sürekli veriler Mann-Whitney U testi ve Kruskal Wallis testi ile analiz edildi. Kantitatif veriler ortalama, standart sapma, medyan, çeyrek skala, minimum ve maksimum değerler olarak ifade edildi. Güven aralığı %95, p değeri 0.05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Ratlarda cerrahi sonrası 1 günlük dönemde sağ alt ekstremitelerinde hafif düzeyde topallama görüldü. Daha sonraki dönemde bu topallama hareketi görülmedi. Ratlar her iki alt ekstremitelerini normal bir şekilde kullanmaya devam ettiler. Ratlarda, kullanılan anesteziye bağlı komplikasyon görülmedi, hiçbir rat ölmedi. Cerrahi sonrası, ratlarda operasyon bölgesinde enfeksiyon belirtisi görülmedi. Ratların daha sonra sağ diz eklemleri alındığında hiçbir diz ekleminde kontraktür ve patella dislokasyonu gözlemlenmedi.

4.2. Histopatolojik Değerlendirme Bulguları

Ratların sağ ve sol dizlerinin medial femoral kondil eklem yüzleri; hasarın kıkırdak tabakasını etkileme derecesi, kondrositlerin durumu, matriksin Toluidin Blue ile boyanma miktarı ve tidemarkın yapısı göz önüne alınarak mikroskopik olarak incelendi.

1. ÖÇB Kesilmeden Sadece Artrotomi Yapılan Dizlerin Histopatolojik Bulguları:

Tüm gruplarda sadece artrotomi yapılarak ÖÇB kesisi yapılmayan negatif kontrol grubu olarak kaydedilen sol dizler incelendiğinde; genel olarak çoğu grupta kıkırdak dokusunun normal olduğu gözlemlendi. İncelenen kıkırdak yapısının genel olarak düzgün olmakla birlikte K grubundan 3, HBO grubundan 2 ve O3 grubundan 2 ratın histopatolojik incelemesinde küçük çaplı değişikliklerin olduğu görüldü. Bu değişikliklerin genel olarak yüzeyde sınırlı olduğu ve dolayısıyla deneysel olarak ÖÇB kesisi uygulanan eklemlerde görülen daha belirgin odak ve yaygın değişikliklerden nitelik olarak farklı olduğu görüldü.

Kıkırdak içindeki farklı tabakalardaki hücreler incelendiğinde şekilleri sayıları ve morfolojileri açısından normal olduğu gözlemlendi. Toluidin blue ile boyanmanın normal olduğu gözlemlendi. Ayrıca bütün eklemlerde herhangi bir doku kaybı yoktu. Genel olarak sol taraf dizlerde tüm gruplarda HBO ve O3 verilen gruplar dahil uygulanan işlemlerin sonucundan etkilenmedikleri gözlemlendi. Sonuçlar Tablo 5’de özetlenmiştir (Resim 8-9-10).

Tablo 5. ÖÇB kesilmeden sadece artrotomi sol dizlerin patolojik inceleme sonuçları

Grup-Rat	Yapı	Sellularite	Matrix	Tide Mark	Toplam
K-1	0	1	0	0	1
K-2	0	0	0	0	0
K-3	0	0	0	0	0
K-4	1	0	0	0	1
K-5	0	0	0	0	0
K-6	1	0	0	0	1
K-7	0	0	0	0	0
K-8	1	0	0	0	1
K-9	0	0	0	0	0
HBO-1	0	0	0	0	0
HBO-2	0	0	0	0	0
HBO-3	1	0	0	0	1
HBO-4	0	0	0	0	0
HBO-5	0	1	0	0	1
HBO-6	0	0	0	0	0
HBO-7	1	0	0	0	1
HBO-8	0	0	0	0	0
HBO-9	0	0	0	0	0
O3-1	0	0	0	0	0
O3-2	0	0	0	0	0
O3-3	0	0	0	0	0
O3-4	1	0	0	0	1
O3-5	0	0	0	0	0
O3-6	0	0	0	0	0
O3-7	1	0	0	0	1
O3-8	0	0	0	0	0
O3-9	0	0	0	0	0

2. ÖÇB Kesisi Yapılan Dizlerin Histopatolojik Bulguları:

K grubunun sağ dizlerinde kıkırdak yapısı incelendiğinde; 1 ratta pannus ve yüzey düzensizliği, 6 ratta transizyonel zona uzanan kleflerin, 1 ratta kalsifiye zona uzanan

kleftlerin olduğu gözlemlendi. 1 ratta ise tamamen dezorganize kıkırdak izlendi. Kıkırdağın hücresel yapısına bakıldığında ise 2 ratta hipersellülarite ve/veya piknozis, 3 ratta hücrelerde gruplaşma, 4 ratta hiposellülarite, gözlemlendi. Kıkırdak doku matriksinde 4 ratta hafif derecede düşük, 4 ratta orta derecede düşük, 2 ratta ise belirgin azalmış olarak toluidin blue ile boyanması görüldü. Yapısal olarak 1 eklemde tidemarkın geçilmediği, 8 eklemde ise tidemarkın geçildiği görüldü (Resim 11-12).

HBO grubunun sağ dizlerinin kıkırdak yapısı incelendiğinde; 1 ratta eklemde yüzeyel düzensizlikler olduğu, 1 ratta pannus ve yüzey düzensizliği olduğu, 7 ratta transizyonel zona uzanan kleftlerin olduğu gözlemlendi. Hücrelerin yapılarına bakıldığında ise 5 ratta yoğun hipersellülarite, 1 ratta hücrelerde gruplaşma, 3 ratta hiposellülarite, gözlemlendi. Kıkırdak doku matriksinde ise 5 ratta de hafif derecede düşük olarak toluidin blue ile boyanmada azalma olduğu, 2 ratta ise Toluidin Blue boyama ile belirgin azalama olduğu görüldü 2 ratın eklemde ise matriks boyamasında farklılık saptanmadı. Yapısal olarak 2 eklemde tidemarkın geçilmediği, 7 eklemde ise tidemarkın geçildiği görüldü (Resim 13-14).

O3 grubunun sağ dizlerinde kıkırdak yapısı incelendiğinde; 2 ratta eklemde yüzeyel düzensizlikler olduğu, 2 ratta pannus ve yüzey düzensizliği, 5 ratta transizyonel zona uzanan kleftlerin olduğu gözlemlendi. Hücrelerin yapılarına bakıldığında ise 7 ratta hipersellülarite, piknozis, 2 ratta hücrelerde klonlanma gözlemlendi. Kıkırdak doku matriksinde ise 7 ratta de hafif derecede düşük olarak toluidin blue ile boyanmada azalma olduğu görülürken, 2 ratın eklemde ise matriks boyamasında farklılık saptanmadı. Yapısal olarak 3 eklemde tidemarkın geçilmediği, 6 eklemde ise tidemarkın geçildiği görüldü (Resim 15-16). Tüm sonuçlar Tablo 6’da özetlenmiştir.

Tablo 6. ÖÇB kesilen sağ dizlerin patolojik değerlendirme sonuçları

Grup-Rat	Yapı	Sellularite	Matrix	Tide Mark	Toplam
K-1	3	3	2	0	8
K-2	3	1	1	1	6
K-3	3	2	1	1	7
K-4	3	3	1	1	8
K-5	2	2	2	1	7
K-6	5	3	3	1	12
K-7	3	1	2	1	7

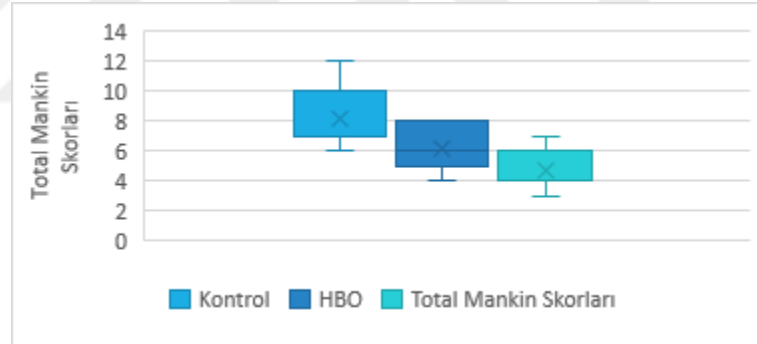
K-8	6	3	2	1	12
K-9	3	2	1	1	7
HBO-1	2	1	2	0	5
HBO-2	3	3	1	1	8
HBO-3	3	1	1	1	6
HBO-4	3	1	0	1	5
HBO-5	3	3	1	1	8
HBO-6	1	2	1	0	4
HBO-7	3	3	1	1	8
HBO-8	3	1	0	1	5
HBO-9	3	1	2	1	7
O3-1	2	1	1	0	4
O3-2	3	1	0	0	4
O3-3	3	1	1	1	6
O3-4	1	2	1	0	4
O3-5	3	2	1	1	7
O3-6	3	1	0	0	4
O3-7	2	1	1	0	4
O3-8	1	1	1	0	3
O3-9	3	1	1	1	6

Tablo 7’de grupların histopatolojik incelemelerinin Mankin skorlamasına göre ortalama sonuçları gösterilmiştir. K grubunda kıkırdak yapısı $3,4\pm 1,24$ hücresel anormallik $2,22\pm 0,83$, matriks boyanması $1,67\pm 0,71$, tidemark devamlılığı $0,9\pm 0,33$ ve total Mankin skoru ortalaması $8,2\pm 2,22$ olarak bulundu. HBO grubunda kıkırdak yapısı $2,67\pm 0,71$, hücresel anormallik $1,8\pm 1$, matriks boyanması $1\pm 0,71$, tidemark devamlılığı $0,78\pm 0,44$ ve total Mankin skoru ortalaması $6,22\pm 1,56$ olarak bulundu. O3 grubunda kıkırdak yapısı $2,33\pm 0,9$, hücresel anormallik $1,22\pm 0,44$, matriks boyanması $0,78\pm 0,44$, tidemark devamlılığı $0,33\pm 0,5$ ve total Mankin skoru ortalaması $4,67\pm 1,32$ olarak bulundu.

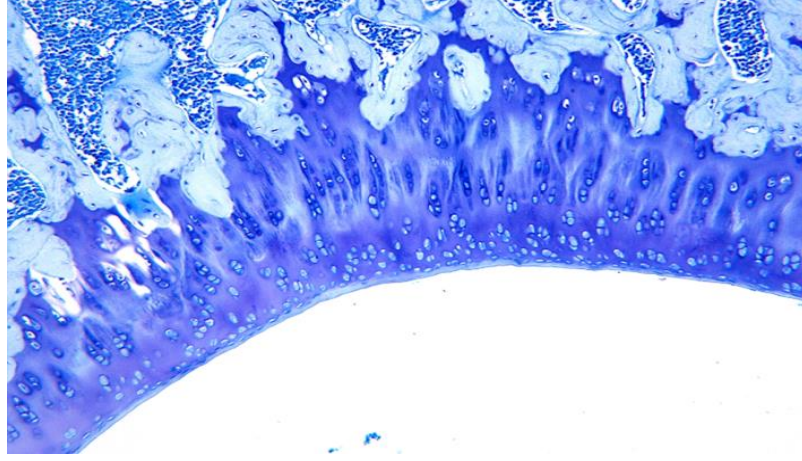
Tablo 7. Grupların histopatolojik incelemelerinin Mankin skorlamasına göre ortalama sonuçları

Gruplar	Kıkırdak yapısı	Sellülarite	Matrix Boyanması	Tidemark Devamlılığı	Total Mankin Skoru
K	3,4±1,24	2,22±0,83	1,67±0,71	0,9±0,33	8,2± 2,22
HBO	2,67±0,71	1,78±1	1±0,71	0,8±0,44	6,22±1,56
O3	2,33±0,9	1,22±0,44	0,78±0,44	0,33±0,5	4,67±1,32

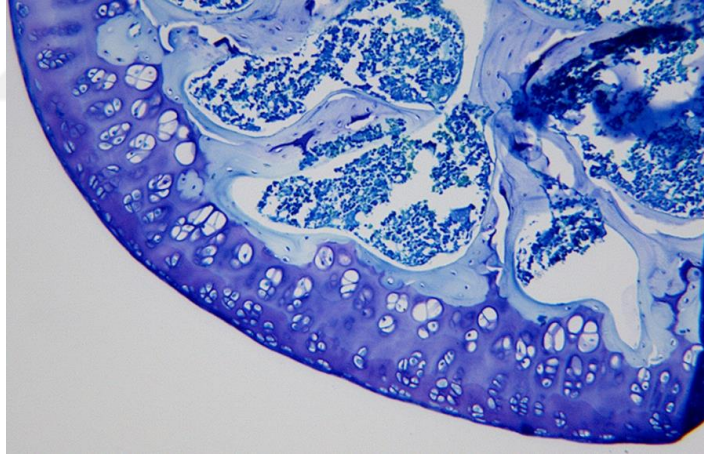
Grupların total Mankin skorlarının ortalamaları ise K grubunda 8,2± 2,22, HBO grubunda 6,22±std 1,56 ve O3 grubunda 4,67±std 1,32 olarak saptandı. O3 grubunun hem total Mankin Skalası hem de kıkırdak yapısı, hücresel anormallik, matriks boyanması, tidemark devamlılığı ortalama değerlerinin hem HBO grubuna hem de K grubuna göre daha düşük olduğu izlenmiştir. Grupların histopatolojik değerlendirmelerinin Mankin skorlamasına göre skorların dağılımı ise şekil 6’da gösterilmiştir.



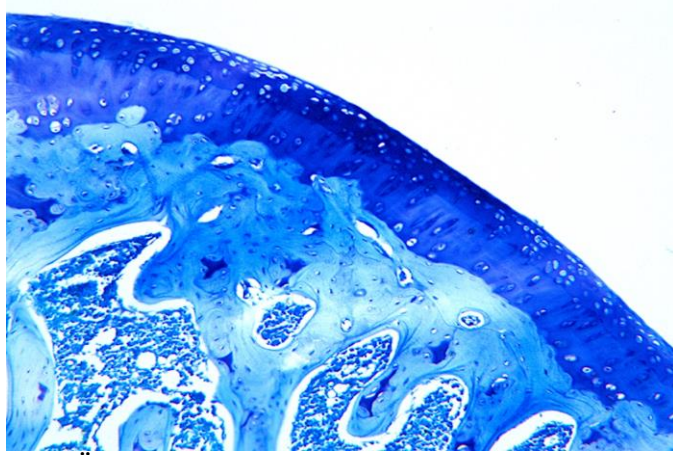
Şekil 6. Grupların Mankin skorları dağılım grafiği



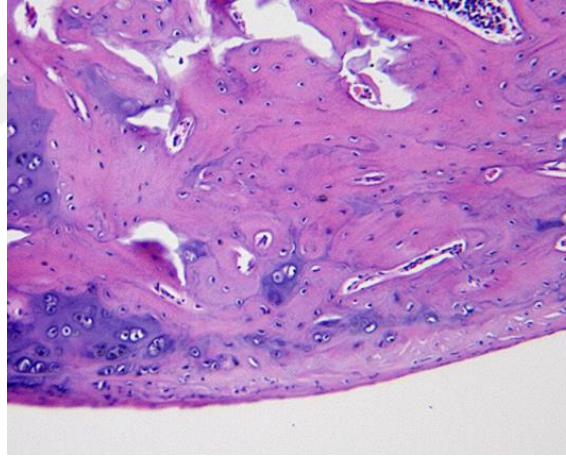
Resim 8. K grubu, ÖÇB kesilmeden sadece artrotomi yapılan sol diz. Tidemarkın korunduğu, yapının normal olduğu, eklem yüzeyinin düzgün görünümde olduğu, hücrelerin normal yapıda oldukları görülmekte (Toluidin Blue, x10)



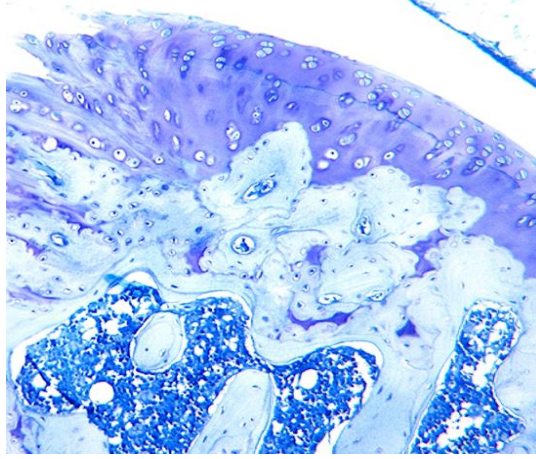
Resim 9. HBO grubu, ÖÇB kesilmeden sadece artrotomi yapılan sol diz. Tidemarkın korunduğu, yapının normal olduğu, eklem yüzeyinin düzgün görünümde olduğu, hücrelerin normal yapıda oldukları görülmekte (Toluidin Blue, x10)



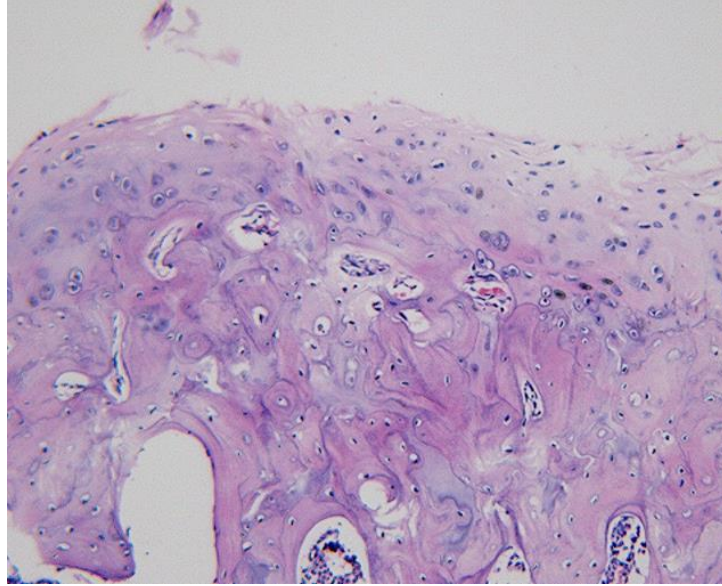
Resim 10. O3 grubu, ÖÇB kesilmeden sadece artrotomi yapılan sol diz. Tidemarkın korunduğu, yapının normal olduğu, eklem yüzeyinin düzgün görünümde olduğu, hücrelerin normal yapıda oldukları görülmekte (Toluidin BlueX200)



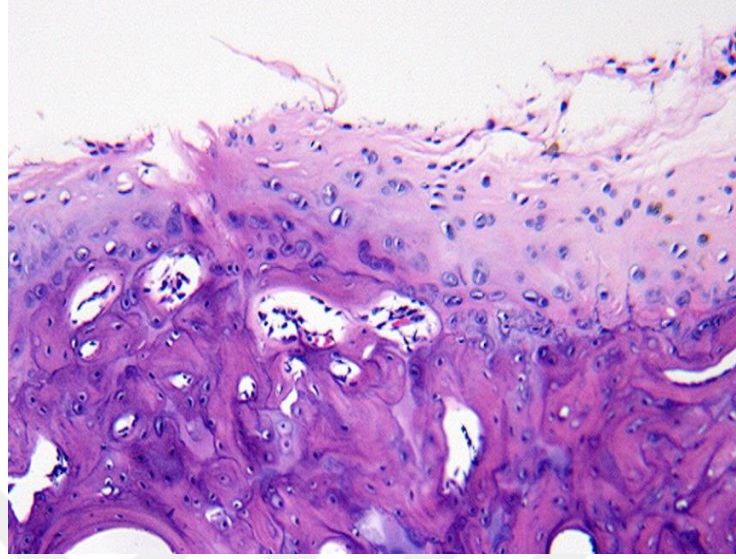
Resim 11. K grubu, ÖÇB kesisi yapılan sağ diz, total kıkırdak kaybı, hiposellülarite ve azalmış boyanma görülmekte (HE, x10)



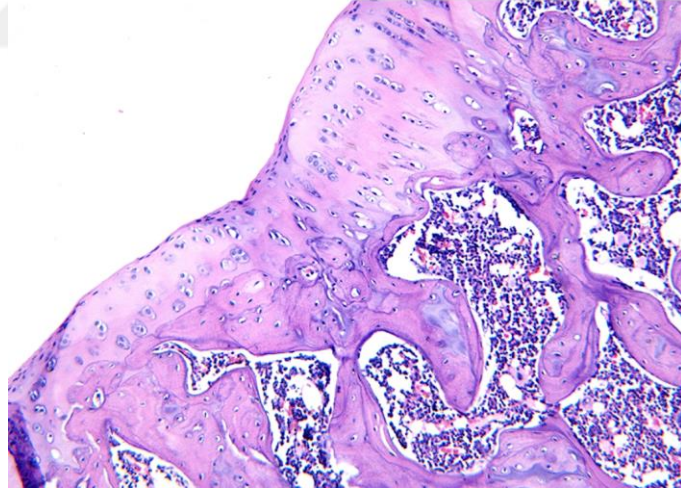
Resim 12. K Grubu, ÖÇB kesisi yapılan sağ diz. Kıkırdak matriksinde proteoglikan düzeyinde belirgin azalma, üstte yüzeyde kalsifiye zona uzanan kleftler dikkati çekiyor (x10, Toluidin Blue)



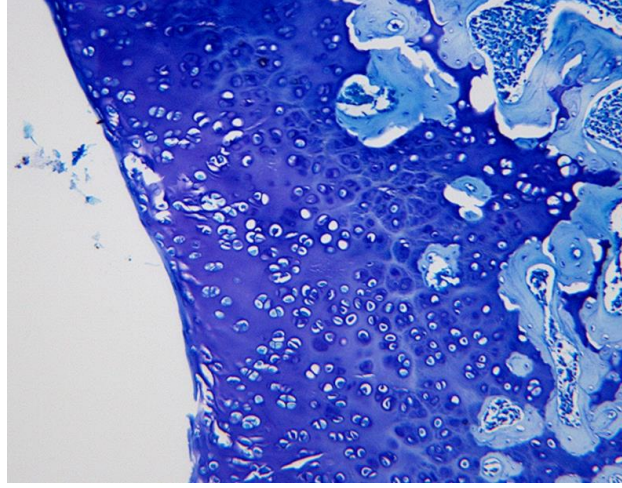
Resim 13. HBO grubu, ÖÇB kesisi yapılan sağ diz. Yüzeyel tabakada hücre kaybı, düzensizlik, pannus oluşumu görülmekte (HE, x10)



Resim 14. HBO grubu, ÖÇB kesisi yapılan sağ diz. Orta tabakaya uzanan yarık, hücrelerde kümelenmeler görülmekte (HE, x10)



Resim 15. O3 grubu, ÖÇB kesisi yapılan sağ diz. Yüzeyde hafif düzensizlik ve pannus oluşumu yanısıra bazı kıkırdak hücrelerinde piknozis dikkati çekti. Tidemarkta anormallik saptanmadı. (HE, x10)



Resim 16. O3 grubu, ÖÇB kesisi yapılan sağ diz. Toluidin blue boyamasında kıkırdak matriksinde fokal hafif azalma görüldü (Toluidin Blue, x10).

4.2. İstatiksel Değerlendirmeler

1. ÖÇB Kesilmeden Sadece Artrotomi Yapılan Sol Dizlerin İstatiksel Analizi:

Yapılan istatistiksel değerlendirmelerde, ÖÇB kesilmeden sadece artrotomi yapılan K, HBO, O3 gruplarının sol dizlerinin total Mankin Skalası değerlerinin Kruskal-Wallis testine göre değerlendirmesinde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklılık olmadığı belirlenmiştir (p:0,618).

K, HBO, O3 gruplarının, ÖÇB kesisi yapılan sağ dizleriyle bu grupların negatif kontrol grupları olan ÖÇB kesilmeden artrotomi yapılan sol dizlerinin yapılan istatistiksel değerlendirmesinde; K grubunun sağ ÖÇB kesilen dizleri ile sol negatif kontrol dizleri arasında anlamlı farklılık mevcuttu ($p<0,0001$), HBO grubunun sağ ÖÇB kesilen dizleri ile sol negatif kontrol dizleri arasında anlamlı farklılık mevcuttu ($p<0,0001$), O3 grubunun sağ ÖÇB kesilen dizleri ile sol negatif kontrol dizleri arasında anlamlı farklılık mevcuttu ($p<0,0001$). Tüm sonuçlar tablo 8’de özetlenmiştir.

Tablo 8. Grupların ÖÇB kesilen sağ dizlerinin ve ÖÇB kesisi yapılmayan sol dizlerinin Mankin Skorlarının P Değerleri

	K (Sol diz)	HBO (Sol diz)	O3 (Sol diz)
K (Sağ diz)	P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001
HBO (Sağ diz)	P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001
O3 (sağ diz)	P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001

2. ÖÇB Kesisi Yapılan Dizlerin İstatiksel Analizi:

K, HBO, O3 gruplarının ÖÇB kesisi yapılan sağ dizlerinin total Mankin Skalası değerlerinin Kruskal-Wallis testine göre yapılan değerlendirmesinde istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı olduğu (p:0,002) belirlenmiştir. Kruskal-Wallis testine göre gruplar arasında Mankin skorlaması alt parametreleri açısından yapılan değerlendirmede hücrel anormallik, matriks boyanması, tidemark devamlılığı ortalama değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklılık olduğu (p:0,047, p:0,024, p:0,034), kıkırdak yapısı açısından anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (p:0,102). Gruplar arası Mann-Whitney-U testine göre;

Total Mankin Skalası açısından; K ve HBO grupları arasında toplam Mankin skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık çıkmazken (p: 0,086), O3 grubu hem K grubundan hem de HBO grubundan istatistiksel olarak anlamlı daha düşük skor göstermiştir (p: 0,001 ve p: 0,033). K grubunun HBO grubuyla yapılan istatistiksel karşılaştırmasında; kıkırdak yapısı (p:0,180), hücrel anormallik (p=0,299), matriks boyanması (p:0,075), tidemark bütünlüğü (p=0,539) parametreleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı belirlenmiştir. K grubunun O3 grubuyla yapılan istatistiksel karşılaştırmasında; kıkırdak yapısı (p:0,049), hücrel anormallik (p:0,011), matriks boyanması (p:0,007), tidemark bütünlüğü (p:0,019) parametreleri açısından incelendiğinde kıkırdak yapısı dışındaki diğer parametrelerde istatistiksel açıdan anlamlı daha düşük skorların mevcut olduğu belirlenmiştir.

HBO grubunun O3 grubuyla yapılan istatistiksel karşılaştırmasında; kıkırdak yapısı (p:0,341), hücrel anormallik (p:0,204), matriks boyanması (p:0,458), tidemark bütünlüğü (p:0,065) parametreleri değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı belirlenmiştir. Mankin skorlamasına göre parametreler ayrı olarak değerlendirildiğinde anlamlı farklılık olmamasına rağmen total Mankin skorları açısından anlamlı farklılık mevcuttu (p:0,033). Tüm sonuçlar tablo 9’da özetlenmiştir.

Tablo 9. Grupların ÖÇB Kesilen Sağ Dizlerinin Mankin skorlarına Göre P değerleri

	K (Sağ diz)	HBO (Sağ diz)	O3 (Sağ diz)	
Yapı	K (Sağ diz)	-	0,180	0,049
	HBO (Sağ diz)	0,180	-	0,341
	O3 (sağ diz)	0,049	0,341	-

Hücreler	K (Sağ diz)	-	0,299	0,011
	HBO (Sağ diz)	0,299	-	0,204
	O3 (sağ diz)	0,049	0,204	-
Matriks Boyanması	K (Sağ diz)	-	0,075	0,07
	HBO (Sağ diz)	0,075	-	0,458
	O3 (sağ diz)	0,07	0,458	-
Tidemark	K (Sağ diz)	-	0,539	0,019
	HBO (Sağ diz)	0,539	-	0,065
	O3 (sağ diz)	0,019	0,065	-
Toplam Mankin	K (Sağ diz)	-	0,086	0,001
	HBO (Sağ diz)	0,086	-	0,033
	O3 (sağ diz)	0,001	0,033	-

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

OA ilerleyici kıkırdak dejenerasyonu, subkondral kemik değişiklikleri, osteofit oluşumu ve düşük dereceli sinovit ile karakterize dejeneratif bir eklem hastalığıdır. ⁷⁸ Epidemiyolojik olarak yaşlanma, herediter ve genetik faktörler, konjenital ve gelişimsel hastalıklar, travma, mekanik ve yapısal bozukluklar, obezite gibi birçok faktörün rol aldığı multifaktöryel hastalık olan OA, ağırlıklı olarak yaşlı popülasyonu etkilemekte ve bu nedenle özellikle yaşlı nüfusa sahip ülkeler için önemli bir halk sağlığı sorunudur. ²⁸

OA tedavisinde yaşam tarzı modifikasyonu, farmakolojik tedaviler ve cerrahi yöntemler gibi birçok tedavi modalitesi potansiyel modifiye edici tedavi stratejileri olarak önerilmiş ve kullanılmıştır. ¹⁶⁷ Hastalığın patogenezi anlamada ve tedavide elde edilen gelişmelere rağmen günümüzde önerilen ve kullanılan tedavilerin hiçbiri OA tedavisinde yeterli başarıyı sağlayamamıştır. ¹⁶⁷ Güncel konservatif tedaviler arasında, yaşam tarzı modifikasyonu ve ağırlıklı olarak hastalığın semptomlarını tedavi eden (ağrı semptomları gibi) ağrı kesici ilaçlar (NSAID, duloksetin) ve eklem içi enjeksiyonlar (glukozamin ve kondroitin) bulunmaktadır. ^{168,169,170} Uygulanan farmakolojik tedaviler OA'nın ilerlemesini durdurmaktan çok çoğunlukla semptomatik etkileri olan ve ağrı gibi semptomları tedavi etmeye yöneliktir. Uygulanan cerrahi yöntemler (artroplasti ve osteotomiler gibi) iyi seçilmiş vakalarda ve iyi cerrahi teknik uygulanması halinde sonuçları tatminkâr olabilmektedir. Özellikle cerrahi yöntemler (kısmi veya total eklem replasmanı) OA'nın ileri evrelerinde oluşan eklem hasarı mevcudiyetinde ise ağrıyı azaltmak ve eklem fonksiyonlarını artırmak için gerekebilmektedir. ¹⁷¹

OA patogenezinin yıllar içinde yapılan araştırmalarla daha iyi anlaşılması, OA biyobelirteçlerin araştırılmasındaki gelişmeler, OA tanısında kullanılan yöntemlerin gelişimine yol açmıştır. Günümüzde yapılan araştırmalar erken OA'nın önlenmesi ve tedavisine odaklanmıştır. ^{153,167} Cerrahi endikasyonu bulunmayan veya cerrahi tedavinin tartışmalı olduğu erken-orta evre primer OA vakaları ise günümüzde tedavileri oldukça tartışmalı olan ve tedavi stratejileri üzerinde halen araştırmaların devam ettiği bir konudur. OA progresyonunu yavaşlatabilen ve hatta var olan kıkırdak hasarını onarabilecek tedavilerin geliştirilmesi ve özellikle bu tedavilerin mümkün olan en fazla oranda noninvaziv uygulanabilir olması günümüzde halen araştırılan ve yeterli gelişmenin sağlanamadığı konulardır. ¹⁶⁷

Diz OA'sı olanlarda yapılan araştırmalar daha önce sekonder OA ile ilişkili bulunan menisküs ve bağ lezyonlarının önceden düşünüldüğünün aksine primer OA'da

yaygın olarak görüldüğünü ve bu hastaların tahminen %20-35'inde manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ile tanımlanan bir rastlantısal ÖÇB yırtığı varlığını ve çoğunun travma öyküsü ile ilişkili olmadığını kanıtlamıştır. ¹⁷² Histopatolojik araştırmalar diz OA'sı olanlarda, ÖÇB'nin içinde dejeneratif değişiklikler varlığını ve majör travma olmadan dahi rüptüre olmaya eğilimli olabileceğini göstermiştir. ¹⁷³ Fakat buna rağmen diz OA'sında saptanan rastlantısal ÖÇB rüptürünün etiyolojisi ve önemi halen belirsizliğini korumaktadır. Diz OA'sı olanlarda rastlantısal bir ÖÇB rüptürünün yapısal, semptomatik veya her iki şekilde de OA'nın ilerleme riskini daha fazla artırıp artırmadığı bilinmemektedir. ¹⁷²

Diğer yandan genç ve aktif popülasyonda sağlam dizlerde gelişen travmatik ÖÇB rüptürleri, dizdeki anteroposterior ve rotasyonel instabiliteye bağlı olarak diz OA için artmış risk ile ilişkilendirilmiştir. ^{58,71,174} ÖÇB dizin anterior tibial translyasyonun önleyen ana stabilizatördür ve bu nedenle oluşan instabiliteye bağlı anormal tibiofemoral kinematik, eklem kıkırdağındaki fizyolojik yük dağılımını etkileyerek OA oluşumu ile sonuçlanan karmaşık patofizyolojik mekanizmaları başlatmaktadır. ^{58,175}

Literatürde dizde ÖÇB hasarı sonrası OA gelişimi ile ilgili veriler büyük değişkenlik göstermektedir ve yapılan çalışmalar travma sonrası 10-20 yıl içinde OA gelişme oranları %10 ile %90 arasında geniş bir aralıkta değişmektedir. ⁵⁸ Bu durum özellikle posttravmatik instabilite sonrası OA'nın bu değişken zaman ve sıklıkta oluşması OA'nın etiyolojisinin sadece travmaya bağlı değil çok faktörlü (herediter ve genetik faktörler, yaşam şekli, cinsiyet, hormon ve büyüme faktörlerine yanıt, yaşlanma, konjenital ve gelişimsel hastalıklar, travma, mekanik ve yapısal bozukluklar, obezite) olduğuna dair kanıtları güçlendirmektedir. ^{28,58,71}

Günümüze kadar yapılan çalışmalara ve halen devam etmekte olan araştırmalara rağmen OA fizyopatolojisi hala kesin olarak bilinmemektedir. Yapılan araştırmalar OA'nın sadece dejeneratif bir hastalık olmadığını, OA patogenezinde anabolik ve katabolik dengenin katabolik yönde bozulduğu ve beraberinde ilerleyen enflamatuar bir süreçte olaya dahil olduğunu göstermiştir. ^{109,167,176} Kondrosit fonksiyonlarının düzenlenmesi ile ilgili olarak; kıkırdak matriks yıkımını artırmak için hedef hücreler üzerinde etkili olan katabolik sitokinler (IL1, TNF- α , IL17, IL18), katabolik sitokinlerin aktivitesini inhibe eden veya antagonize eden antikatabolik veya inhibitör sitokinler (IL4, IL10, IL13, IL1ra) ve sentetik aktiviteyi arttırmak için kondrositler üzerinde büyüme ve farklılaşma faktörleri olarak hareket eden anabolik sitokinler (IGF-1, TGF- β 1,2,3, BMP-2,4,6,7,9,13) mevcuttur. ¹⁰⁹ Bu enflamatuar süreç içerisinde özellikle IL-1, TNF- α gibi

proinflamatuar sitokinler ve kırıkta ESM'nin yıkımına yol açan MMP önemli rol oynamaktadır.¹⁰⁹ OA gelişen insanlardan alınan kırıkta doku örneklerinde özellikle MMP-1, 3, 9, 13, 14 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuş ve ESM yıkımının kondrositler tarafından salgılanan MMP'ler vasıtası ile gerçekleştiğine dair güçlü kanıtlar elde edilmiştir.⁷⁴

Bu bilgiler ışığında OA progresyonunu yavaşlatmak, OA'nın dejeneratif etkilerini önlemeye yönelik yeni tedavi stratejileri geliştirmek için yapılan çalışmalar OA'nın inflamatuvar bir hastalık olduğu yönünde ağırlık kazanmış ve bu süreçte araştırmalar enflamasyonunun inhibisyonu ve kırıkta dokudaki apoptozisin önlenmesi üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu amaçla literatürde pek çok farmakolojik ajanlar in vivo ve in vitro ortamlarda kırıkta ve farklı dokularda etkileri yönünden araştırılmıştır. O3'ün OA'daki etkisi üzerine yapılan çalışmalar daha çok O3'ün eklem içi uygulaması ve lokal etkisi üzerine yoğunlaşmıştır. O3'ün OA'da sistemik olarak kullanımıyla ilgili deneysel çalışma çalışmaları çok azdır. Diğer yandan literatürde HBO'nun OA üzerindeki etkisi ile ilgili çok az deneysel çalışma bulunmaktadır. OA tedavisinde başarının anahtarı patogenezdaki hasardan sorumlu spesifik mekanizmaların ve artrit sürecine giden basamaklardaki patojenik faktörlerin etkilerinin önlenmesine bağlıdır. Diğer yandan OA'nın erken dönem tanınarak, dejeneratif süreci engelleyecek ajanların ve terapötik yöntemlerin OA tedavisinde gelecek için umut verici olabileceğini düşünmekteyiz.

OA'nın araştırılması için yapılan çalışmalar, insanlarda yapılan klinik çalışmalar ve prelinik çalışmalar olmak üzere iki farklı şekilde yapılmıştır. Özellikle insanlarda yapılan klinik çalışmalar birtakım kısıtlamalara ve sınırlamalara sahiptir. Bu nedenle OA'nın patogenezinin anlaşılması ve tedavisinin araştırılmasında kullanılan bilimsel çalışmalarda prelinik çalışmalar daha ön planda kullanılmışlardır.¹⁵³ Prelinik hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalar özellikle OA'nın patogenezi incelemek ve tedavi yöntemlerinin terapötik etkinliğini incelemek için kullanılmıştır.¹⁵³ OA'da oluşan kırıkta hasarı üzerinde birçok tedavinin terapötik etkilerinin değerlendirilmesi için bugüne kadar birçok çalışma yapılmış olup bu prelinik çalışmaların çoğunda OA oluşturulan deney hayvanları modelleri kullanılmıştır.¹⁵⁸ Literatürde hayvanlarda deneysel OA oluşumu için, spontan model (genetik olarak manipüle edilmiş veya doğal), kimyasal olarak indüklenen OA modeli, cerrahi olarak indüklenen OA modeli ve non invaziv model tanımlanmıştır. Çalışmamızda kullandığımız ÖÇB kesisi bilinen en eski OA modeli olup günümüzde OA araştırmalarında en sık kullanılan cerrahi modeldir.¹⁶⁰ Bu modeli tercih etmemizin nedeni hızlı fakat kontrollü bir OA modeli oluşturması, kısa vadeli çalışmalar için uygun olması,

kimyasal etkileşime neden olmadığından OA tedavisinde yeni ilaç modalitelerini araştırma imkânı vermesi ve diğer cerrahi modeller ile karşılaştırıldığında OA lezyonlarının daha yavaş gelişmesi nedeniyle farmasötik çalışmalarda kullanımının diğer modellere göre daha uygun olmasıdır.¹⁶² Bu yöntem oluşturulan instabilite sonucunda OA'nın başlangıç komponenti olan eklem yüzeyindeki yük dağılımı ve eklem hareketinin değişmesinin önemini destekleyerek OA oluşumuna neden olan bir modeldir. Diğer yandan ratlarda OA gelişimi diğer hayvan türleri ve insanlardan farklı olarak ratların cerrahi sonrası hemen cerrahi yapılan eklemlerini kullanmaları ve erken yük vermeye başlamaları nedeniyle daha hızlı gelişmektedir.¹⁷⁷ Sonuç olarak mekanik olarak instabilite gelişen kıkırdakta artan stres, eklem içerisine kıkırdak parçalarının eklem aralığına dökülmesi, eklemde makrofaj, monosit, kondrosit ve sinoviyositlerin karmaşık etkileşimi sonucu ortama salınan proinflatuar sitokinler ve MMP'ler matriks yıkımına neden olan inflamatuar cevabı oluşturmaktadır. Anormal yüklenmenin devam etmesi zaman içerisinde bir kısır döngü oluşturarak OA'da ilerleyici ve kalıcı kıkırdak hasarına neden olmaktadır.¹⁵³

Yaptığımız deneysel çalışmada rat ÖÇB'leri kesilerek oluşturulan OA modelinde, 3 hafta boyunca 30 µg / ml dozunda günlük 2 ml intraperitoneal uygulanan O3'ün ve 3 hafta boyunca günde iki kez 2,5 atm basınçta toplam 2 saat uygulanan HBO'nun, ratlarda toplam 10 haftalık takibi sonucunda kıkırdak üzerindeki etkisi Mankin skorlama sistemine göre histopatolojik yöntem kullanılarak araştırılmıştır. ÖÇB bağ kesilmesi sonrasında ratların hareket etmelerine izin verilmiş ve tedaviye cerrahiden 2 hafta sonra başlanmıştır. Bu protokolü uygulamamızın nedeni ÖÇB kesisi sonrası anlamlı kıkırdak hasarının ameliyattan en erken 2 hafta sonra oluştuğunun daha önceki yapılan çalışmalarda gösterilmesidir. Hayami ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ratlarda ÖÇB kesisi modeli ve medial menisküs rezeksiyonu+ ÖÇB kesisi uygulayarak oluşturdukları iki farklı OA modelini cerrahi sonrası 1,2,4,6 ve 10.hafta sonrasına olmak üzere eş gruplara ayırarak her iki modeldeki hastalık ilerlemesini izlemişlerdir. Her ne kadar tespit edilebilir kıkırdak yüzey hasarı ve proteoglikan kaybının, ameliyattan sonraki 1 hafta içinde gözlendiğini belirtseler de anlamlı kıkırdak hasarının (modifiye Mankin skoruna göre) ameliyattan yaklaşık en erken 2 hafta sonra oluştuğunu, eklem kıkırdağı hasarının ameliyattan 2 hafta sonra her iki cerrahi modelde de meydana geldiğini belirtmişlerdir. Yazarlar ayrıca kıkırdak dejenerasyonunun daha yavaş olması nedeniyle ÖÇB kesisi modelinin OA için hastalığı modifiye edici terapötik ajanların değerlendirilmesi için daha uygun model olduğunu belirtmişlerdir.⁷⁸ Biz yaptığımız çalışmada K grubunda sağ dizlerde ÖÇB kesilerek tedavi vermediğimiz grupta total Mankin skorunu 8,2 olarak bulduk ve elde

ettiğimiz histopatolojik bulgular literatürde ÖÇB kesisi yoluyla oluşturulan OA modelleri ile hasar miktarı yönünden benzerlik göstermiştir. ^{178,179,180}

Analjezik, antiinflamatuvar, immünomodülatör ve trofik özelliklere sahip olduğu bilinen O₃ birçok infeksiyöz, otoimmün, dejeneratif ve ortopedik hastalığın tedavisinde kullanılmakta olan bir moleküldür. ^{111,112} O₃, biyolojik oksidatif stres için etkili bir modüle edici ajan gibi davranarak pro-oksidan etkisiyle antioksidan sistemleri ve ayrıca inflamasyonu stabilize eder. ¹¹³ Güçlü bir oksidan bir molekül olan O₃, dokularda inflamasyonu artırmaz aksine paradoksal etki ile inflamasyonu azaltıcı yönde davranır. O₃ kemik ve kıkırdak dokuda vaskülarizasyonu artırarak anabolizmi ve iyileşmeyi hızlandırarak, kemik ve kıkırdak doku üzerinde trofik etkiler oluşturarak etkisini gösterir. PG' ler üzerinde O₃ aktivasyonu ile anti-enflamatuvar etki gösterir, otoimmün ve enflamatuvar hastalıklar üzerinde immünomodülatör etki göstermektedir. ¹¹³

O₃, OA patogenezi üzerindeki etkilerini temel olarak O₃ habercileri (ROT ve LOÜ) üzerinden yapmaktadır. Sinovyal boşluğa enjekte edilen O₃ bu nedenle burada antiinflamatuvar etki göstermektedir. O₃ haberci ROT ve LOÜ üzerinden ilk aşamada inflamasyonu proenflamatuvar sitokinleri, kallikrein ve bradikininini azaltarak inhibe eder. Serotonin ve kollajenaz, jelatinaz, agrekanaz gibi MMP'lerin salınmasını inhibe ederek kıkırdak yıkımını önlemektedir. ^{109,121} Geç aşamada O₃, antioksidan enzimlerin, OSP'nin inhibitör sitokinlerin (IL-4, IL-10, TGF-β), neoanjiyogenezin, NO sentezini ve endorfin, ACTH ve kortizol salınımlarını upregüle etmektedir. Tüm bunlar, proteoglikanları, GAG'leri ve kollajeni sentezlemek için kondrositleri, fibroblastları ve kök hücreleri uyararak eklemdeki onarıcı süreçte rol almaktadır. ¹⁰⁹

Literatürde O₃'ün OA üzerindeki etkisi ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında genel olarak intraartiküler yöntemle uygulanan klinik çalışmaların olduğunu ve prelinik yapılan araştırmaların sınırlı sayıda deneysel hayvan çalışması. ^{120,181} ve in vitro. ¹² çalışmaları kapsadığını görmekteyiz. Özellikle insanlarda yapılan klinik çalışmaların bir takım kısıtlama ve sınırlamaya sahip olması nedeniyle yapılacak prelinik çalışmaların önemli olduğunu düşünmekteyiz. Diğer yandan yapılan deneysel hayvan çalışmaları genel olarak O₃'ün romatolojik hastalıklarda etkisini araştıran çalışmalardır ve deneysel mekanik OA oluşturulan bir hayvan modeli üzerindeki etkilerini araştıran sınırlı sayıda çalışma vardır. Ayrıca O₃'le ilgili yapılan çalışmalar genelde intraartiküler uygulamayı içermektedir ve intraperitoneal sistemik yoldan deneysel OA modeli üzerindeki yapılmış bir çalışması olmadığını gözlemlemekteyiz. İntraperitoneal yol ratlarda intravenöz uygulamanının diğer şekli olarak kabul edilen bir yol olup biz bu metodla O₃'ün kıkırdak

doku üzerindeki sistemik yoldan etkilerini gözlemlemeyi amaçladık.

YU ve ark. ratlarda yaptıkları deneysel OA modeli çalışmasında intraartiküler 35 µg / ml konsatrasyonda uygulanan O3'ün eklemde inflamasyonun regülasyonunda düzenleyici etkiye sahip olduğunu, eklem kıkırdağının dejenerasyonunu önlediğini ve eklemdeki serbest radikalleri temizleme yeteneğini artırabileceğini fakat 70 µg / ml konsatrasyonda güçlü oksidatif etki nedeniyle doku ve hücrelerin peroksidatik reaksiyonuyla sonuçlanarak eklem kıkırdağı hasarına yol açabileceğini ve dokular üzerinde yıkıcı etkiye neden olduğunu göstermişlerdir. Diğer yandan O3'ün 35 µg / ml dozda uygulamasının eklem sıvısında ve serumda superoksit dismutaz (SOD) seviyesini artırarak ve malonil aldehit (MAD) seviyesini azaltarak serbest oksijen radikallerinin neden olduğu eklem kıkırdağı dejenerasyonunu azalttığını 70 µg / ml dozda ise tersi yönde olumsuz etkiye neden olduklarını bildirmişlerdir. ¹⁷⁸

Oladazimi ve ark.'ları yaptıkları çalışmada rat dizinde cerrahi OA modelinde IL15 ve ALK ekspresyonunun OA'da arttığını göstermişler, uyguladıkları O3, kemik iliği kaynaklı Mezenkimal kök hücre (MSC) ve egzersiz eğitimi tedavilerinin tek başlarına MMP-13 ve activin receptor-like kinase 5 (ALK5) genlerinin ekspresyonunu azaltabilmesine rağmen, MSC ve O3'ün egzersiz eğitimi ile kombine olarak uygulanmasının daha etkili olduğunu bulmuşlardır. ¹⁸²

Chen ve ark. RA oluşturdukları ratlarda O3 uyguladıkları ratların serum ve sinovyal dokularında daha düşük sinovyal TNF-a ve TNF-R2 (TNF reseptör 2) seviyelerine ve daha yüksek TNF-R1(TNF reseptör 1) seviyesine sahip olduklarını ve bununda TNF-a ve reseptörü TNFR1 ve TNF-R2'nin artrit sistemik ve lokal eklem patolojisindeki hasara aracılık ettiğini göstermişlerdir. O3'ün TNF-a'nın neden olduğu artritli ratlardaki sinovyum hasarını azaltabildiğini gösterdiğini, sinovyal TNF-a ve TNF-R2 seviyelerindeki azalma ve TNF-R1 seviyesindeki artışa neden olarak sinovyal hücre proliferasyonunu ve artmış sinovyal hücre apoptozunu inhibe ettiğini en etkili konsatrasyonun ise 40 µg / ml olduğunu göstermişlerdir. ¹⁸³

Yapılan klinik çalışmalara bakıldığında; Moretti yaptığı çalışmada ortalama ICRS skoru 2,7 olan OA hastalarında yaptığı çalışmada hyalüronik asit (HA) ile kombine uygulanan O3'ün hastaların uygulama öncesi ortalama 7.9 olan ağrı skorlarının uygulama sonrası 3. aya kadar ortalama 3,3 olarak korunmasında etkili olduğunu bulmuşlardır. ¹⁸⁴ Yapılan bir sistematik derleme ve metaanaliz çalışmasında eklem içi O3 enjeksiyon etkinliğinin plasebodan daha üstün ve diğer kontrol enjeksiyonlarına eşit etkide olarak bulunmuş ve yazarlar O3'ü özellikle orta yaşlı, hafif veya orta derecede diz OA

tedavisinde en az 3-6 ay etkisi süren ve cerrahi olmayan etkin bir tedavi olarak önermişlerdir.¹⁸⁵

O₃ etkisi ve özellikleri açısından doz bağımlı bir tedavi ajanıdır ve bir doz / etki oranına sahiptir.^{109,114} O₃'ün tedavide kullanımında terapötik doz aralığı 10-80 ug / ml arasında olmakla birlikte farklı tıbbi uygulamalar için, optimal O₃ dozları farklı olabilmektedir.¹¹ Literatürde OA tedavisi için uygulanacak O₃ gazı dozu, gaz hacmi, seans sayısı ve sıklığı konusunda belirlenmiş farklı görüşler ve çalışmalar olsa da bir görüş birliği henüz yoktur.¹¹³ Zhao ve ark.'nın rat kondrosit kültürleri üzerinde yaptıkları in vivo çalışmada 40, 50 ve 60 µg / mL'deki O₃'ün, konsantrasyona bağlı bir şekilde hücre canlılığını azalttığını göstermişlerdir. Araştırmacılar hücre canlılığını artıran ve kondrositler için en uygun O₃ dozunun 30 µg / mL olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar, 30 ug / mL'lik bir O₃ konsantrasyonunun kondrositlerin tedavisi için uygun olabileceğini göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca çeşitli stres durumlarında önemli bir hücrenin hayatta kalma mekanizması olarak kabul edilen ve hücresel hemeostazda önemli bir rol oynayan otofajiyi indüklediğini göstermişlerdir.¹² Yaptığımız çalışmada ÖÇB kesilerek OA modeli oluşturulan ve O₃ ile tedavi edilen grupta histopatolojik değerlendirme sonucunda elde ettiğimiz bulgular literatürde yapılan çalışmalarla kıyaslandığında benzerlik göstermektedir.¹⁷⁸

Çalışmamızda etkisini gözlemlediğimiz diğer prosedür olan HBO ile ilgili literatürde ortopedi ve travmatoloji alanındaki çeşitli hastalıklarda birçok çalışma yapılmış ve tedavide kullanılmıştır. Bunlar; nekrotizan yumuşak doku enfeksiyonları, akut travmatik iskemi, ezilme yaralanması, kompartman sendromu, problemlili yaralar, sorunlu deri greftleri ve flepler, refrakter osteomyelit, osteonekroz, spor yaralanmaları, kırık iyileşmesi, sinir iyileşmesidir.^{14,131,132} Bazı endikasyonlarda ise, mevcut kanıtların zayıflığı ve randomize kontrollü çalışmaların eksikliği nedeniyle, HBO tedavisinin etkinliğini belirlemek için daha fazla araştırma gerekmektedir. HBO'nun OA üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalara bakıldığında; Yuan ve ark.¹⁶ tavşan dizlerinde kırık defektlerinde yaptığı çalışmada HBO almayan grupta kırık defektlerinin %40 nın HBO alan gruplarınsa kırık defektlerinin tamamının onarım gösterdiğini, HBO uygulamasının kondrositlerde apoptozisi azalttığını ve proteoglikan sentezini arttırdığını bununda NO üretiminin baskılanarak oluştuğunu göstermişlerdir. Ayrıca Ueng ve ark.¹⁷ tavşan dizi kondrosit kültürlerinde yaptıkları çalışmada HSP 70 ekspresyonunun arttırarak eklem kırık hasarında NO bağlı apoptozisi önlediğini bulmuşlardır. Nagatomo ve ark.¹⁸ yaptıkları çalışmada Tip II kollajen ile indüklenen artritli ratlarda HBO'ya maruz

kalmanın oksidatif stres üzerine etkilerini araştırdıkları, reaktif oksijen metabolitlerinin ve CRP'nin serum seviyelerinin karşılaştırıldığı çalışmada artrit sırasında aşırı üretilen reaktif oksijen türlerinin seviyelerini azaltmada etkili olduğunu göstermişlerdir.

Literatürde HBO uygulamasının hangi basınçta yapılması gerektiği ile ilgili çalışmalara baktığımızda çoğu uygulamada HBO tedavisinin 2 ve 3 ATA aralığında uygulandığını görmekteyiz. Bu durum daha çok HBO 'nun etkisi olan basına bağlı terapötik etkiden mi yoksa doku hiperoksijenizasyonunun ön planda istenmesine bağlı olarak değişmektedir. Nitekim basının terapötik etkisinin çok önemli olduğu hava embolisi ve dekompresyon hastalığında, tedaviler sıklıkla 6 ATA gibi yüksek değerlerden başlarken diğer uygulamalar genelde 2-3 ATA aralığında uygulanmaktadır.¹⁴ Mader yaptığı çalışmada HBO tedavisi ile enfekte ve normal kemikteki oksijen basınını artırarak hipoksi durumdan normal veya hiperoksi seviyelerine periyodik olarak yükselmesini sağladığı saptanmıştır.¹⁴⁶ Nitekim Mader tavşan tibiasında yaptığı bir çalışmada enfekte kemik dokuda 21 mm hg normal kemikte 45 mm hg ölçtüğü doku oksijen basınının 2ATA altında %100 HBO uygulamasında bu değerin enfekte kemikte 104 mmHg'ye, normal kemikte ise 321mm Hg'ye kadar yükseldiğini göstermiştir.¹⁴⁸ Yuan ve ark yaptıkları çalışmada tavşan diz eklemine eklem kavitesi oksijen basınını HBO ncesi ve sonrası ölçmüşler HBO uygulamadan önce ortalama 11.62 mm hg olan eklem kavitesi oksijen basınının HBO uygulamasından sonra yapılan ölçümlerde 25,02 mm hg olarak ölçüldüğünü göstermişlerdir. Bu durum uygulanan HBO'nun tüm dokularda olduğu gibi eklem ve vücut boşluklarındaki oksijen basınını da dolaylı olarak etkilediğini gösterdiğini dşndrmştir.¹⁶ Yaptığımız çalışmada B kesilerek OA modeli oluşturulan ve HBO ile tedavi edilen grupta histopatolojik değerlendirme sonucunda elde ettiğimiz histopatolojik Mankin skorları B kesilerek OA modeli oluşturulan tedavi verilmeyen gruptan istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmasa da ortalama olarak daha düşük olarak bulunmuştur. Bu durumun literatürde HBO ile tedavi edilen grupta literatürde yapılan çalışmalarda bahsedilen kıkırdak hasarını azaltıcı etkilerinin neden olduğunu dşnmekteyiz^{16,17,18}.

Çalışmamızda ratlarda uygulanan O3 ve HBO uygulamasına belirgin bir yan etki görülmemiş olup daha öncede güvenli ve yan etkisi minimal olan O3 ve HBO uygulamalarının OA'da doz, kullanım süresi ve yan etki profili gözlenmesi ile bu tedavilerin farklı uygulama yollarına göre kıkırdak üzerindeki etkilerinin araştırılması gerekmektedir.

Yaptığımız deneysel çalışmanın değerlendirmesinde Mankin'in tarif ettiği skorlama

sistemini kullandık. Elde ettiğimiz sonuçlarda Mankin skorlarına göre O3 uygulanan grubun ÖÇB kesilen sağ dizlerinin skorlarının K ve HBO gruplarının ÖÇB kesilen sağ dizlerinin skorlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkmıştır. O3 grubundaki ÖÇB kesilerek O3 ile tedavi edilen deneklerin sağ dizlerinin yapılan histopatolojik incelemesinde eklem kıkırdağı üzerindeki tedavinin etkisinin ÖÇB kesilerek tedavi almayan K grubunun sağ dizlerinin ve ÖÇB kesilerek HBO ile tedavi edilen deneklerin sağ dizlerinin aksine kıkırdak hasarı oluşumunu yavaşlattığı bulunmuştur.

ÖÇB kesilerek HBO ile tedavi edilen deneklerin sağ dizlerinin Mankin skorları ÖÇB kesilerek tedavi verilmeyen K grubunun sağ dizlerinin skorlarından daha düşük olarak bulunmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda ÖÇB kesilerek deney sonuna kadar tedavi vermediğimiz K grubunun 10. haftanın sonunda yapılan histopatolojik değerlendirmesinde eklem kıkırdağının yapısında fibrilasyonların ve yarıkların olduğu, bazı bölgelerde yarıkların transizyonel, radyal ve kalsifiye tabakaya kadar uzandığı, hücrelere bakıldığında daha çok hiposellülarite ve kümelenmelerin hâkim olduğu ve matriks boyanmasında azalma olduğu görülmüştür. Elde ettiğimiz histopatolojik bulgular literatürde ÖÇB kesisi yoluyla oluşturulan OA modelleri ile hasar miktarı yönünden benzerlik göstermiştir.^{178,179,180}

Çalışmamızda ratların opere edilen dizin karşısındaki sol dizler negatif kontrol grubu olarak değerlendirilmiş ve sol dizlere ÖÇB kesisi yapılmadan sadece artrotomi uygulanmıştır. Negatif kontrol grubu olarak kaydedilen dizlerin (tüm gruplardaki sol dizler) eklemlerinde kıkırdak dokuda küçük çaplı değişiklikler mevcuttu bu durum daha önce Williams tarafından ratlarda ÖÇB kesisi yapılan çalışmada¹⁶⁴ ve Moskowitz¹⁸⁶ tarafından bildirilen kısmi menisektomi çalışmasındaki artrotomi yapılan dizlerdekine benzer sonuçlar göstermiştir. Çalışmamızda negatif kontrol grubu dizlerin kıkırdak dokularındaki oluşan bu değişiklikler tüm gruplarda kıkırdak yüzeyle sınırlıydı ve dolayısıyla deneysel olarak ÖÇB kesisi uygulanan eklemlerde görülen daha belirgin odak ve yaygın değişikliklerden nitelik olarak farklıydı. Williams ÖÇB kesisi yapılmadan sadece artrotomi yapılan dizlerdeki bu durumu patella gerilmesine bağlı periartiküler dokuların yer değişikliği, eklem biyomekaniğinde değişim ve bunların mekanik olarak dengesiz bir eklem oluşturmasına bağlamıştır. Ayrıca periartiküler dokuları kısmen denerve eden ve değişen koruyucu kas reflekslerine (mekanik düzensizlik) yol açan küçük eklem sinirlerinin kesilmiş olmasının da buna yol açabileceğini belirtmiştir.¹⁶⁴

Literatürde yapılan çalışmalar inflamasyon, oksidatif stres ve MMP üzerindeki etkisi gibi nedenlere bağlı olarak kıkırdak doku harabiyeti sonucu dejeneratif OA'nın

oluştugu kabul edilmektedir. Yaptığımız deneysel çalışmada elde edilen O3'ün kıkırdak dokusu üzerindeki olumlu etkisinin antiinflamatuvar, antioksidan ve MMP inhibisyonu etkisine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Bu çalışmanın sonucuna göre O3'ün OA oluşumu üzerinde yavaşlatıcı ve antiinflamatuvar ve trofik etkisi olduğu kanaatine varılmıştır. İleride yapılacak olan çalışmaların O3'ün bu olumlu etkilerinin mekanizmalarının aydınlatılması yönünde planlanmasının uygun olacağı ve O3'ün kondroprotektif ve immünmodulator etki eden ajanlara alternatif bir tedavi metodu olabileceğini düşünmekteyiz. O3 tedavisinin; dizde instabilite, anormal kıkırdak yüklenmesi sonucu oluşan sekonder OA ve primer OA vakalarının erken evresinde kullanılmasının, OA patogenezini aydınlatabilecek ve hastalık progresyonunu yavaşlatabilecek yeni, etkili tedavi protokollerinin geliştirilmesi yönünden önemli olduğunu düşünmekteyiz.



BÖLÜM 6

ÇIKARIMLAR

Bu çalışmada, O3 ve HBO'nun ratlarda oluşturulan deneysel OA gelişimi üzerine olan etkisinin sonuçlarının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Sonuç olarak;

1. ÖÇB kesilmesi sonucu ratlarda ilerleyici kıkırdak hasarı olduğu histopatolojik olarak görülmüştür.
2. ÖÇB kesilen ve O3 ile tedavi edilen O3 grubunun Mankin skorları K grubunun skorlarına göre hem rakamsal olarak düşük olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Bu sonuca göre O3'ün kıkırdak hasarının gelişimini azalttığı ve dejeneratif sürece giden mekanizmayı engellediği düşünülmüştür.
3. ÖÇB kesilen ve HBO ile tedavi edilen HBO grubunun total Mankin skorları K grubuna göre rakamsal olarak düşük olsa da ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı görülmüştür.
4. ÖÇB kesisi yapılan ve O3 ile tedavi edilen O3 grubu ve ÖÇB kesisi yapılarak HBO ile tedavi edilen HBO grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise O3 grubunun total Mankin skorunun hem rakamsal olarak düşük olduğu hem de istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturduğu görülmüştür. Bu sonuca göre O3'ün kıkırdak hasarının gelişimini azaltmada ve dejeneratif sürece giden mekanizmayı engellemede HBO uygulamasına göre daha etkili olduğu düşünülmüştür.
5. O3'ün antiinflamatuvar, antioksidan, MMP inhibisyonu gibi birçok olumlu etkisinin kıkırdak doku için koruyucu özellik oluşturduğu düşünülmektedir. İleriki dönemlerde yapılacak olan çalışmaların bu etkilerin mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması yönünde planlanmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.
5. O3'ün ve HBO'nun kıkırdak doku üzerindeki etkinliğinin araştırılması yönünde daha çok sayıda prelinik ve klinik çalışmaların planlanmasının uygun olacağı düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Smith, P. A. (2016). Intra-articular autologous conditioned plasma injections provide safe and efficacious treatment for knee osteoarthritis: an FDA-sanctioned, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *The American journal of sports medicine*, 44(4), 884-891.
2. Han, Y., Huang, H., Pan, J., Lin, J., Zeng, L., Liang, G., ... & Liu, J. (2019). Meta-analysis comparing platelet-rich plasma vs hyaluronic acid injection in patients with knee osteoarthritis. *Pain Medicine*, 20(7), 1418-1429.
3. Yoshimi, T., Kikuchi, T., Obara, T., Yamaguchi, T., Sakakibara, Y., Itoh, H., ... & Miura, T. (1994). Effects of high-molecular-weight sodium hyaluronate on experimental osteoarthrosis induced by the resection of rabbit anterior cruciate ligament. *Clinical orthopaedics and related research*, (298), 296-304.
4. Tynni, A., & Karlsson, J. (2000). Biological treatment of joint cartilage damage. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports: Review Article*, 10(5), 249-265.
5. Tatari, H. (2007). The structure, physiology, and biomechanics of articular cartilage: injury and repair. *Acta orthopaedica et traumatologica turcica*, 41, 1-5.
6. Bocci, V. (2013). *Oxygen-ozone therapy: a critical evaluation*. Springer Science & Business Media.
7. Shallenberger, F., & HMD, A. (2011). Prolozone™—Regenerating Joints and Eliminating Pain. *Journal of Prolotherapy*, 3(2), 630-638.
8. Elvis, A. M., & Ekta, J. S. (2011). Ozone therapy: A clinical review. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 2(1), 66.
9. Giombini, A., Menotti, F., Di, A. C., Giovannangeli, F., Rizzo, M., Moffa, S., & Martinelli, F. (2016). Comparison between intrarticular injection of hyaluronic acid, oxygen ozone, and the combination of both in the treatment of knee osteoarthrosis. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 30(2), 621-625.
10. Baeza-Noci, J. (2011). *Ozonoterapia en la gonartrosis y la coxartrosis [Ozonotherapy in osteoarthritis]*. Rio de Janeiro (Brazil).
11. Bocci V., 2011. *Ozone: a new medical drug (2nd Ed.)*. Springer Dordrecht Heidelberg, London New York. 307 p.
12. Zhao, X., Li, Y., Lin, X., Wang, J., Zhao, X., Xie, J., ... & Fu, Z. (2018). Ozone induces autophagy in rat chondrocytes stimulated with IL-1 β through the AMPK/mTOR signaling pathway. *Journal of pain research*, 11, 3003.

13. Sahni, T., Singh, P., & John, M. J. (2003). Hyperbaric oxygen therapy: current trends and applications. *Journal-Association of physicians of india*, 51, 280-288.
14. Grim, P. S., Gottlieb, L. J., Boddie, A., & Batson, E. (1990). Hyperbaric oxygen therapy. *Jama*, 263(16), 2216-2220.
15. Lindell, K. Weaver. *Hyperbaric Oxygen Therapy Indications Thirteenth Edition The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report*.
16. Yuan, L. J., Ueng, S. W., Lin, S. S., Yeh, W. L., Yang, C. Y., & Lin, P. Y. (2004). Attenuation of apoptosis and enhancement of proteoglycan synthesis in rabbit cartilage defects by hyperbaric oxygen treatment are related to the suppression of nitric oxide production. *Journal of orthopaedic research*, 22(5), 1126-1134.
17. Ueng, S. W., Yuan, L. J., Lin, S. S., Niu, C. C., Chan, Y. S., Wang, I. C., ... & Chen, W. J. (2013). Hyperbaric oxygen treatment prevents nitric oxide-induced apoptosis in articular cartilage injury via enhancement of the expression of heat shock protein 70. *Journal of orthopaedic research*, 31(3), 376-384.
18. Nagatomo, F., Gu, N., Fujino, H., Okiura, T., Morimatsu, F., Takeda, I., & Ishihara, A. (2010). Effects of exposure to hyperbaric oxygen on oxidative stress in rats with type II collagen-induced arthritis. *Clinical and experimental medicine*, 10(1), 7-13.
19. Mow, V. C., Ateshian, G. A., & Spilker, R. L. (1993). Biomechanics of diarthrodial joints: a review of twenty years of progress.
20. Barbe M, F Driban J, Barr AE, Popoff SN, Safadi FF. Structure and Function of Joints. J.S. Khurana (ed.), *Bone Pathology*, 2009, 2, 51-60.
21. Ross M. H., Pawlina W., 2010. *Histology A Text and Atlas, with Correlated Cell and Molecular Biology (6th Edition)*. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore. 198-217.
22. Bhosale, A. M., & Richardson, J. B. (2008). Articular cartilage: structure, injuries and review of management. *British medical bulletin*, 87(1), 77-95.
23. ELÇİN, Y. M., & DEMİRDÖĞEN, B. Y. Kıkırdak doku onarımı için hiyaluronik asit-temelli yapı iskelelerinin geliştirilmesi ve hücre kültürlerinde kullanımı (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı).
24. Gartner L.P., 2011. *BRS Cell Biology and Histology*. Lippincott Williams and Wilkins, 92-109.
25. Sophia Fox, A. J., Bedi, A., & Rodeo, S. A. (2009). The basic science of articular cartilage: structure, composition, and function. *Sports health*, 1(6), 461-468.

26. Poole, A. R., Kojima, T., Yasuda, T., Mwale, F., Kobayashi, M., & Lavery, S. (2001). Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®, 391, S26-S33.
27. Korkusuz F., 2013. *Ortopedi ve Travmatoloji Temel Bilimler Araştırma Kitabı*, BAYT, Ankara. 215-230.
28. Sharma L., 2007. *Osteoarthritis: a Companion to Rheumatology*, Elsevier Inc. 1-32
29. Setton, L. A., Elliott, D. M., & Mow, V. C. (1999). Altered mechanics of cartilage with osteoarthritis: human osteoarthritis and an experimental model of joint degeneration. *Osteoarthritis and cartilage*, 7(1), 2-14.
30. Buckwalter, J. A., Mankin, H. J., & Grodzinsky, A. J. (2005). Articular cartilage and osteoarthritis. *Instructional Course Lectures-American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 54, 465.
31. Mankin HJ, Mow VC, Buckwalter JA, Iannotti JP, Ratcliffe A. Articular cartilage structure, composition and function. *Orthopedic basic science: biology and biomechanics of the musculoskeletal system*. 2nd ed. American Academy of Orthopaedic Surgeons. 2000; 443-70
32. Buckwalter, J. A., & Mankin, H. J. (1997). Articular cartilage: part I. *Journal of Bone and joint surgery*, 79(4), 600.
33. Doral, M. N., Dönmez, G., Atay, Ö. A., Bozkurt, M., Leblebicioğlu, G., Üzümcügil, A., & Aydoğ, T. (2007). Dejeneratif eklem hastalıkları. *TOTBİD dergisi*, 6, 56-65.
34. Alford, J. W., & Cole, B. J. (2005). Cartilage restoration, part 1: basic science, historical perspective, patient evaluation, and treatment options. *The American journal of sports medicine*, 33(2), 295-306.
35. Schumacher, B. L., Hughes, C. E., Kuettner, K. E., Caterson, B., & Aydelotte, M. B. (1999). Immunodetection and partial cDNA sequence of the proteoglycan, superficial zone protein, synthesized by cells lining synovial joints. *Journal of Orthopaedic Research*, 17(1), 110-120.
36. Warman, M. L. (2000). Human genetic insights into skeletal development, growth, and homeostasis. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®, 379, S40-S54.
37. Ai, M., Cui, Y., Sy, M. S., Lee, D. M., Zhang, L. X., Larson, K. M., ... & Warman, M. L. (2015). Anti-lubricin monoclonal antibodies created using lubricin-knockout mice immunodetect lubricin in several species and in patients with healthy and diseased joints. *PloS one*, 10(2).

38. Venn, M. F. (1978). Variation of chemical composition with age in human femoral head cartilage. *Annals of the rheumatic diseases*, 37(2), 168-174.
39. Dar, F. H., & Aspden, R. M. (2003). A finite element model of an idealized diarthrodial joint to investigate the effects of variation in the mechanical properties of the tissues. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 217(5), 341-348.
40. Buckwalter, J. A., & Mankin, H. J. (1998). Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *Instructional course lectures*, 47, 477-486.
41. Mow, V. C., Ratcliffe, A., & Poole, A. R. (1992). Cartilage and diarthrodial joints as paradigms for hierarchical materials and structures. *Biomaterials*, 13(2), 67-97.
42. Mollenhauer, J. B. J. A., Bee, J. A., Lizarbe, M. A., & Von der Mark, K. (1984). Role of anchorin CII, a 31,000-mol-wt membrane protein, in the interaction of chondrocytes with type II collagen. *The Journal of cell biology*, 98(4), 1572-1579.
43. Hagiwara, H., Schröter-Kermani, C., & Merker, H. J. (1993). Localization of collagen type VI in articular cartilage of young and adult mice. *Cell and tissue research*, 272(1), 155-160.
44. Buckwalter, J. A., Mankin, H. J., & Grodzinsky, A. J. (2005). Articular cartilage and osteoarthritis. *Instructional Course Lectures-American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 54, 465.
45. Torzilli, P. A. (1985). Influence of cartilage conformation on its equilibrium water partition. *Journal of orthopaedic research*, 3(4), 473-483.
46. Mow, V. C., Holmes, M. H., & Lai, W. M. (1984). Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review. *Journal of biomechanics*, 17(5), 377-394.
47. Lai W.M., Hou J.S., Mow V.C., 1990. A Triphasic Theory for the Swelling Properties of Hydrated Charged Soft Biological Tissues. In: Ratcliffe A., Woo S.L.Y., Mow V.C. (eds) *Biomechanics of Diarthrodial Joints*. Springer, New York, 283–312.
48. Lai WM, Hou JS, Mow VC. A triphasic theory for the swelling and deformation behaviors of articular cartilage. *J Biomech Eng*. 1991 Aug;113(3):245-58. PubMed PMID: 1921350.

49. Mow, V. C, Rosenwasser, M. P., 1988. Articular cartilage: Biomechanics. In: S. L.-Y. Woo and J. A. Buckwalter (eds), *Injury and Repair of the Musculoskeletal Soft Tissues*, The American Academy of Orthopaedic Surgeons. Park Ridge, Illinois, 427-463.
50. Buckwalter, J. A., Mow, V. C., 1994. Cartilage repair in osteoarthritis. In: R. W. Moskowitz, D. S. Howell, V. M. Goldberg, and H. J. Mankin (eds). *Osteoarthritis, Diagnosis and Medical/Surgical Management* (2nd edition). W. B. Saunders, Philadelphia, 71-108.
51. Williams III R.J., 2007. *Cartilage Repair Strategies*. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey. 1-12
52. Hagiwara, H., Schröter-Kermani, C., & Merker, H. J. (1993). Localization of collagen type VI in articular cartilage of young and adult mice. *Cell and tissue research*, 272(1), 155-160.
53. Roughley, P. J., & Lee, E. R. (1994). Cartilage proteoglycans: structure and potential functions. *Microscopy research and technique*, 28(5), 385-397.
54. Pearle, A. D., Warren, R. F., & Rodeo, S. A. (2005). Basic science of articular cartilage and osteoarthritis. *Clinics in sports medicine*, 24(1), 1-12.
55. Hall B.K., 2005. *Bones and Cartilage: Developmental and Evolutionary Skeletal Biology*, Elsevier, San Diego, California. 33-51.
56. Hardingham, T. E., Fosang, A. J., & Dudhia, J. (1992). Aggrecan, the chondroitin sulfate/keratan sulfate proteoglycan from cartilage. *Articular cartilage and osteoarthritis*, 5-20.
57. Tang, L. H., Buckwalter, J. A., & Rosenberg, L. C. (1996). Effect of link protein concentration on articular cartilage proteoglycan aggregation. *Journal of orthopaedic research*, 14(2), 334-339.
58. Hildebrand, A.; Romans, M.; Rasmussen, L. M.; Heinegard, D.; Twardzik, D. R.; Border, W. A.; and Ruoslahti, E.: Interaction of the small interstitial proteoglycans biglycan, decorin and fibromodulin with transforming growth factor beta. *Biochem. J.*, 302: 527-534, 1994.
59. Pfäffle, M., Borchert, M., Deutzmann, R., Von Der Mark, K., Fernandez, M. P., Selmin, O., ... & Garrone, R. (1990). Anchorin CII, a collagen-binding chondrocyte surface protein of the calpactin family. *Progress in Clinical and Biological Research*, 349, 147-157.
60. Posey, K. L., & Hecht, J. T. (2008). The role of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in skeletal disease. *Current drug targets*, 9(10), 869-877.

61. Mansour JM., 2004. Biomechanics of cartilage. In: Oatis C.A. (ed). *Kinesiology: the mechanics and pathomechanics of human movement*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 66-79.
62. Mow, V. C., & Lai, W. M. (1980). Recent developments in synovial joint biomechanics. *Siam Review*, 22(3), 275-317.
63. Girgis FG, Marshall JL, Monajem A. The cruciate ligaments of the knee joint. Anatomical, functional and experimental analysis. *Clin Orthop Relat Res* 1975; 106:216-31.
64. Amis, A. A., & Dawkins, G. P. (1991). Functional anatomy of the anterior cruciate ligament. Fibre bundle actions related to ligament replacements and injuries. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 73(2), 260-267.
65. Hollis, J. M., Takai, S., Adams, D. J., Horibe, S., & Woo, S. Y. (1991). The effects of knee motion and external loading on the length of the anterior cruciate ligament (ACL): a kinematic study.
66. Nielsen, A. B., & Yde, J. O. H. A. N. N. E. S. (1991). Epidemiology of acute knee injuries: a prospective hospital investigation. *The Journal of trauma*, 31(12), 1644-1648.
67. Ryder, S. H., Johnson, R. J., Beynon, B. D., & Ettlinger, C. F. (1997). Prevention of ACL injuries. *Journal of Sport Rehabilitation*, 6(2), 80-96.
68. Lohmander LS, Ostenberg A, Englund M, Roos H. High prevalence of knee osteoarthritis, pain, and functional limitations in female soccer players twelve years after anterior cruciate ligament injury. *Arthritis Rheum*. 2004; 50:3145–3152.
69. Neyret P, Donell ST, DeJour D, DeJour H. Partial meniscectomy and anterior cruciate ligament rupture in soccer players: A study with a minimum 20-year follow-up. *Am J Sports Med* 1993;21(3):455–60.
70. Georgoulis AD, Papadonikolakis A, Papageorgiou CD, Mitsou A, Stergiou N. Three dimensional tibiofemoral kinematics of the anterior cruciate ligament-deficient and reconstructed knee during walking. *Am J Sports Med*. 2003;31(1):75-9.
71. Von Porat A, Roos EM, Roos H. High prevalence of osteoarthritis 14 years after an anterior cruciate ligament tear in male soccer players: A study of radiographic and patient relevant outcomes. *Ann Rheum Dis* 2004;63(3):269–73.
72. Dunn WR, Lyman S, Lincoln AE, Amoroso PJ, Wickiewicz T, Marx RG. The effect of anterior cruciate ligament reconstruction on the risk of knee reinjury. *Am J Sports Med* 2004;32(8): 1906–14.

73. Jomha NM, Borton DC, Clingeffer AJ, Pinczewski LA. Longterm osteoarthritic changes in anterior cruciate ligament reconstructed knees. *Clin Orthop Relat Res* 1999(358):188–93.
74. Goldring, Mary & Goldring, Steven. (2010). Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1192. 230-7. 10.1111/j.1749-6632.2009.05240.x.
75. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage Part II: Degeneration and Osteoarthrosis, Repair, Regeneration and Transplantation. *JBJS*. 1997; (79)4: 612-32
76. Lorenz H, Richter W. Osteoarthritis: cellular and molecular changes in degenerating cartilage. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*. 2009; 40; 135-63
77. Favero M, Ramonda R, Goldring MB, Goldring SR, Punzi L. Early Knee Osteoarthritis. *RMD Open*. 2015; 1; 1-7
78. Tadashi Hayami, Maureen Pickarski, Ya Zhuo, Gregg A. Wesolowski, Gideon A. Rodan, Le T. Duong. Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. *Bone*. 2006; 38: 234–243.
79. Cooper C. Osteoarthritis and related disorders: Epidemiology. In Klippel JH, Dieppe PA, Arnett FC, et al. (ed.), *Rheumatology, Second Edition*. London: Mosby International 1998:8.2.6.
80. Gupta RC, Gupta SC, Misra US, Singhal AK, Khanduri OP. An etiology and morbid anatomical changes in osteoarthrosis of the knee joint in Indians: An autopsy study. *Indian J Med Res* 1979; 69:301–07.
81. Gordon, G. V., Villanueva, T. H. E. L. M. A., Schumacher, H. R., & Gohel, V. I. G. A. Y. (1984). Autopsy study correlating degree of osteoarthritis, synovitis and evidence of articular calcification. *The Journal of rheumatology*, 11(5), 681-686.
82. Jacobsen S, Sonne-Holm S, Soballe K, Gebuhr P, Lund B. Radiographic case definitions and prevalence of osteoarthrosis of the hip: A survey of 4 151 subjects in the Osteoarthritis Substudy of the Copenhagen City Heart Study. *Acta Orthop Scand* 2004;75(6):713–20.
83. Felson DT, Naimark A, Anderson J, Kazis L, Castelli W, Meenan RF. The prevalence of knee osteoarthritis in the elderly: The Framingham Osteoarthritis Study. *Arthritis Rheum* 1987;30(8): 914–18.
84. Lawrence JS, Bremner JM, Bier F. Osteoarthrosis. Prevalence in the population and relationship between symptoms and X-ray changes. *Ann Rheum Dis* 1966;25(1):1–24.

85. Chitnavis J, Sinsheimer JS, Clipsham K, Loughlin J, Sykes B, Burge PD, Carr AJ. Genetic influences in end-stage osteoarthritis: Sibling risks of hip and knee replacement for idiopathic osteoarthritis. *J Bone Joint Surg Br* 1997;79(4):660–64.
86. Yelin E. The economics of osteoarthritis. In Brandt KD, Doherty M, Lohmander LS (ed.), *Osteoarthritis*. New York: Oxford University Press 1998:23–30.
87. Maetzel A, Makela M, Hawker G, Bombardier C. Osteoarthritis of the hip and knee and mechanical occupational exposure: A systematic overview of the evidence. *J Rheumatol* 1997;24(8):1599–1607.
88. McAlindon TE, Wilson PW, Aliabadi P, Weissman B, Felson DT. Level of physical activity and the risk of radiographic and symptomatic knee osteoarthritis in the elderly: The Framingham study. *Am J Med* 1999;106(2):151–57.
89. Radin EL, Martin RB, Burr DB, Caterson B, Boyd RD, Goodwin C. Effects of mechanical loading on the tissues of the rabbit knee. *J Orthop Res* 1984;2(3):221–34.
90. Lundberg M, Messner K. Ten-year prognosis of isolated and combined medial collateral ligament ruptures: A matched comparison in 40 patients using clinical and radiographic evaluations. *Am J Sports Med* 1997;25(1):2–6.
91. Honkonen SE. Degenerative arthritis after tibial plateau fractures. *J Orthop Trauma* 1995;9(4):273–77
92. Roos, H., Laurén, M., Adalberth, T., Roos, E. M., Jonsson, K., & Lohmander, L. S. (1998). Knee osteoarthritis after meniscectomy: prevalence of radiographic changes after twenty-one years, compared with matched controls. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 41(4), 687-693.
93. Anderson JJ, Felson DT. Factors associated with osteoarthritis of the knee in the first national Health and Nutrition Examination Survey (HANES I): Evidence for an association with overweight, race, and physical demands of work. *Am J Epidemiol* 1988;128(1):179–89.
94. Holmberg S, Thelin A, Thelin N. Knee osteoarthritis and body mass index: A population-based case-control study. *Scand J Rheumatol* 2005;34(1):59–64.
95. Cahue S, Dunlop D, Hayes K, Song J, Torres L, Sharma L. Varusvalgus alignment in the progression of patellofemoral osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50(7):2184–90.
96. Ushiyama T, Mori K, Inoue K, Huang J, Nishioka J, Hukuda S. Association of oestrogen receptor gene polymorphisms with age at onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999;58(1):7–10.

97. Gokhale JA, Frenkel SR, Dicesare PE. Estrogen and osteoarthritis. *Am J Orthop* 2004;33(2):71–80.
98. Felson DT, Chaisson CE, Hill CL, Totterman SM, Gale ME, Skinner KM, Kazis L, Gale DR. The association of bone marrow lesions with pain in knee osteoarthritis. *Ann Intern Med* 2001; 134(7):541–49.
99. Bergink AP, Uitterlinden AG, Van Leeuwen JP, Hofman A, Verhaar JA, Pols HA. Bone mineral density and vertebral fracture history are associated with incident and progressive radiographic knee osteoarthritis in elderly men and women: The Rotterdam Study. *Bone* 2005;37(4):446–56.
100. Arden NK, Nevitt MC, Lane NE, Gore LR, Hochberg MC, Scott JC, Pressman AR, Cummings SR. Osteoarthritis and risk of falls, rates of bone loss, and osteoporotic fractures: Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arthritis Rheum* 1999;42(7):1378–85.
101. Goldring, M.B.&K.B. Marcu. 2009.Cartilage homeostasis in health and rheumatic diseases. *Arthritis Res. Ther.* 11: 224.
102. Goldring, M. B. (2000). Osteoarthritis and cartilage: the role of cytokines. *Current rheumatology reports*, 2(6), 459-465.
103. Ma CH, Lv Q, Yu YX, Zhang Y, Kong D, Niu KR, Yi CQ. Protective effects of tumor necrosis factor alfa blockade by adalimumab on articular cartilage and subchondral bone in a rat model of osteoarthritis. *Braz J Med Biol Res.* 2015: 48(10); 863-70
104. Xia L, Luo QL, Lin HD, et al. The effect of different treatment time of millimeter wave on chondrocyte apoptosis, caspase- 3, caspase- 8 and MMP- 13 expression in rabbit surgically induced model of knee osteoarthritis. *Rheumatol Int* 2012; 32: 2847-2856.
105. Moreland LW. Intraarticular hyaluronan (hyaluronic acid) and hylans for the treatment of osteoarthritis: Mechanisms of action. *Arthritis Res Ther* 2003; 5: 54-67.
106. Mankin HJ, Brandt KD. Biochemistry and Articular Cartilage in osteoarthritis. In; Moskowitz RW, Howel DS, Goldberg VM, Mankin HJ. (Editors). *Osteoarthritis. USA: W.B. Saunders Company, 1992: 109-154.*
107. Mankin HJ, Brandt KD. Osteoarthritis and Polycondritis (pathogenesis of osteoarthritis) In: Kelly WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB. (Editors) *Textbook of Rheumatology. 4th Edition, Philadelphia: WB Saundres Company, 1989: 1469-1479.*
108. Aurbery J. Pathology of Osteoarthritis. In: Koopman WJ. (Editor) *Arthritis and Allied Conditions. Textbook of Rheumatology. 14 th.ed. Philadelphia, 2001; 2167-2194.*

109. Ashkavand Z., Malekinejad, H., & Vishwanath, B. S. (2013). The pathophysiology of osteoarthritis. *Journal of pharmacy research*, 7(1), 132-138.
110. Iliakis, E., Valadakis, V., Vynios, D. H., Tsiganos, C. P., & Agapitos, E. (2001). Rationalization of the activity of medical ozone on intervertebral disc a histological and biochemical study. *Rivista di Neuroradiologia*, 14(1_suppl), 23-30.
111. Paoloni M, Di Sante L, Cacchio A, Apuzzo D, Marotta S, et al (2009). Intramuscular oxygen-ozone therapy in the treatment of acute back pain with lumbar disc herniation: a multicenter, randomized, double-blind, clinical trial of active and simulated lumbar paravertebral injection. *Spine*; 4(13):1337-1344.
112. Mawsouf N., El-Sawalhi M M, Shaheen A. A, Darwish H. A, Martinez-Sanchez, et al. (2011). Effect of ozone therapy on redox status in experimentally induced arthritis. *Revista Espanola de Ozonoterapia*, 1(1), 32-43.
113. Madrigal C (2007). *Tratado de Ozonoterapia*. Editorial la Salud Naturalmente. Madrid, Espana.
114. Bocci V. Scientific and medical aspects of ozone therapy state of the art. *Arch Med Res* 2006; 37: 425–35.
115. Pryor WA, Squadrito GL, Friedman M. The cascade mechanism to explain ozone toxicity: the role of lipid ozonation products. *Free Radic Biol Med* 1995; 19(6): 935-41.
116. Di Paolo N, Gaggiotti E, Galli F. Extracorporeal blood oxygenation and ozonation: clinical and biological implications of ozone therapy. *Redox Rep* 2005; 10(3): 121-30.
117. Bocci V. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 216: 493-504.
118. Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract* 2008; 9(4): 75-84.
119. Bocci V. The case for oxygen-ozonotherapy. *Br J Biomed Sci* 2007; 64(1): 44-9.
120. Fernández-Cuadros, M.E. & Pérez Moro, Olga & Mirón-Canelo, Jose. (2016). Could Ozone Be Used as a Feasible Future Treatment in Osteoarthritis of the Knee?. *Diversity and Equality in Health and Care*. 13. 232-239. 10.21767/2049-5471.100057.
121. Buric J, Rigobello L, Hooper D (2014). Five and ten years follow-up on intradiscal zone injections for disc herniation. *Int J Spine Surg*, 8:17.
122. Borrelli E, Alexandre Al, Iliakis E, Alexandre An, Bocci V (2015). Disc herniation and knee arthritis as chronic oxidative stress diseases: the therapeutic role of oxygen ozone therapy. *J Arthritis*; 4:161. doi:10.4172/2167-7921.1000161.

123. Chang JDS, LU HS, Chang YF, Wang D (2005). Ameliorate effect of Ozone on cytokine production on mice infected with human rheumatid arthritis sinovial fibroblast cells. *Rheumatol Int*; 26:141-151.
124. Fahmy Z (1981). Ozon-sauerstofftherapie in der rheumatologie. In *Proceedings (Vol. 5).Ozone-weltcongress. Wasser Berlin*.
125. Riva Sanseverino E (1989). Knee-joint disorders treated by oxygen-ozone therapy. *Europa Medicophysica*; 25(3):163-170.
126. Milanés, J. R., Acosta, W., & Trinchet, E. (2009). La ozonoterapia/resultados del tratamiento en pacientes con artrosis degenerativa sintomática de rodilla. *Revista Mexicana de algología*, 6, 18-23.
127. De Lucas JC (2005). Peripheral infiltrations with ozone. Indications, techniques and clinical experience. *Rev Soc Esp Dolor*; 12 N°Extra.II:3-9.
128. Cabot J (2012). Técnica combinada de Ozonoterapia y factores de crecimiento en la artrosis de rodilla. *Revista Espanola de Ozonoterapia*; 2(1):35.
129. Benvenuti, P (2006). Oxygen-ozone treatment of the knee, shoulder and hip. A personal experience. *Rivista italiana di ossigeno-ozonoterapia*, 2006; 5: 135-44.
130. Francis TJ, Dutka AJ, Hallenbeck JM. Pathophysiology of decompression sickness. In: Bove AA, Davis JC, eds. *Diving Medicine*. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 1990:170-187.
131. Kindwall EP. A history of hyperbaric medicine. In: Kindwall EP, editor. *Hyperbaric Medicine Practice*. Best Publishing Company, Arizona, 1994; p. 2- 16.
132. Behnke AR. A brief history of hyperbaric medicine. In: Davis JC, Hunt TK, editors. *Hyperbaric Oxygen Therapy*. Undersea Medical Society Inc, Maryland, 1977; p. 3-10.
133. Hammerlund C. The physiologic effects of hyperbaric oxygen, In: Kindwall EP, editor. *Hyperbaric Medicine Practice*. Best Publishing Company, Arizona, 1995; p. 17-32.
134. Radermacher P, Frey G, Berger R. Hyperbaric oxygen therapy – Intensive care in a hostile environment. In: Vincent JL, editor. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*, Berlin, Springer 1997; p. 827-35.
135. Baykal, B., Kırdemir, V. (2002). Hiperbarik oksijen tedavisini ve Ortopedik uygulamaları. *TOTBİD Dergisi* (1)-2; p:114-5
136. Ozan, Fırat & Altay, Taşkın & Kayalı, Cemil. (2017). Hiperbarik oksijen tedavisi. *TOTBİD Dergisi*. 16. 10.14292/totbid.dergisi.2017.28.

137. Davis JC, Heckman JD. Compromised soft tissue wounds. In: Davis JC, Hunt TK, eds. *Problem Wounds: The Role of Oxygen*. New York, NY: Elsevier Science Publishing Co Inc; 1988:125-142.
138. Zamboni WA, Roth AC, Russell RC, Graham B, Suchy H, Kucan JO. Morphological analysis of the microcirculation during reperfusion of ischaemic skeletal muscle and the effect of hyperbaric oxygen. *Plast Reconstr Surg* 1993;91(6):1110–23.
139. Loder RE. Hyperbaric oxygen therapy in acute trauma. *Ann R Coll Surg Engl*. 1979; 61:472–473.
140. Monies-Chass I, Hashmonai M, Hoerer D, Kaufman T, Steiner E, Schramek A. Hyperbaric oxygen treatment as an adjuvant to reconstructive vascular surgery in trauma. *Injury*. 1977; 8:274–277.
141. Daniel T, Fitzpatrick, MC USA, Paul T. Murphy, MC USA, Michelle Bryce, MC USA, *Adjunctive Treatment of Compartment Syndrome with Hyperbaric Oxygen, Military Medicine*, Volume 163, Issue 8, August 1998, Pages 577–579.
142. Strauss M, Hart G: Compartment syndromes: update and role of hyperbaric oxygen. *HBO Review* 1984; 5: 163-81.
143. Whitesides T, Heckman M: Acute compartment syndrome: update on diagnosis and treatment. *J Am Acad Orthop Surg* 1996; 4: 209-18.
144. Strauss MB, Hargens AR, Gershuni DH, Greenberg DA, Crenshaw AG, Hart GB, Akeson WH. Reduction of skeletal muscle necrosis using intermittent hyperbaric oxygen in a model compartment syndrome. *J Bone Joint Surg Am*. 1983 Jun;65(5):656-62. PubMed PMID: 6853571.
145. Eckardt JJ, Wirganowicz PZ, Mar T. An aggressive surgical approach to the management of chronic osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 1994;(298):229–39.
146. Mader JT, Guckian JC, Glass DL, Reinartz JA. Therapy with hyperbaric for experimental osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus* in rabbits. *J Infect Dis*. 1978;183(3):312–8.
147. Kuo CF, Mashino T, Fridovich I. An activity stain for dihydroxy-acid dehydratase. *Anal Biochem*. 1987;164(2):526–30.
148. Mader JT, Brown GL, Guckian JC, Wells CH, Reinartz JA. A mechanism for the amelioration by hyperbaric oxygen of experimental staphylococcal osteomyelitis in rabbits. *J Infect Dis*. 1980; 142:915–22.

149. Chang, C. C., Greenspan, A., & Gershwin, M. E. (1993). Osteonecrosis: Current perspectives on pathogenesis and treatment. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 23(1), 47–69. doi:10.1016/s0049-0172(05)80026-5
150. Camporesi EM, Vezzani G, Bosco G, Mangar D, Bernasek TL. Hyperbaric oxygen therapy in femoral head necrosis. *J Arthroplasty*. 2010 Sep;25(6 Suppl):118-23.
151. Reis ND, Schwartz O, Militianu D, Ramon Y, Levin D, Norman D, Melamed Y, Shupak A, Goldsher D, Zinman C. Hyperbaric oxygen therapy as a treatment for stage-I avascular necrosis of the femoral head. *J Bone Joint Surg Br*. 2003 Apr;85(3):371-5.
152. Uzun G, Mutluoglu M, Ersen O, Yildiz S. Hyperbaric oxygen therapy in the treatment of osteonecrosis of the femoral head: a review of the current literature. *Undersea Hyperb Med* 2016;43(3):189–99.
153. Kuyinu, E. L., Narayanan, G., Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (2016). Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 11(1). doi: 10.1186/s13018-016-0346-5
154. Moskowitz, R.W. *Experimental models of osteoarthritis, Diagnosis and Medical /Surgical Management*, 2nd ed. Philadelphia ,1992;213
155. Janusz MJ, Bendele AM, Brown KK, Taiwo YO, Hsieh L, Heitmeyer SA. Induction of osteoarthritis in the rat by surgical tear of the meniscus: inhibition of joint damage by a matrix metalloproteinase inhibitor. *Osteoarthr Cartil*. 2002; 10:785–91.
156. McDermott ID, Amis AA. The consequences of meniscectomy. *J Bone Joint Surg Br*. 2006;88(12):1549–56.
157. Karahan S, Kincaid SA, Kammermann JR, Wright JC. Evaluation of the rat stifle joint after transection of the cranial cruciate ligament and partial medial meniscectomy. *Comp Med*. 2001;51(6):504–12.
158. Bendele AM. Animal models of osteoarthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2001;1(4):363–76
159. Jimenez PA, Glasson SS, Trubetskoy OV, Haimes HB. Spontaneous osteoarthritis in Dunkin Hartley guinea pigs: histologic, radiologic, and biochemical changes. *Lab Anim Sci*. 1997;47(6):598–601.
160. McCoy AM. Animal models of osteoarthritis: comparisons and key considerations. *Vet Pathol*. 2015.
161. Proffen BL, McElfresh M, Fleming BC, Murray MM. A comparative anatomical study of the human knee and six animal species. *Knee*. 2012;19(4):493–9.

162. Piskin A, Gulbahar MY, Tomak Y, Gulman B, Hokelek M, Kerimoglu S, et al. Osteoarthritis models after anterior cruciate ligament resection and medial meniscectomy in rats. A histological and immunohistochemical study. *Saudi Med J*. 2007;28(12):1796–802
163. Martín-Millán M, Castañeda S. Estrogens, osteoarthritis and inflammation. *Joint Bone Spine*. 2013;80(4):368–73.
164. Williams, J. M., Felten, D. L., Peterson, R. G., & O'Connor, B. L. (1982). Effects of surgically induced instability on rat knee articular cartilage. *Journal of anatomy*, 134(Pt 1), 103.
165. Galois, L., Etienne, S., Grossin, L., Cournil, C., Pinzano, A., Netter, P., ... & Gillet, P. (2003). Moderate-impact exercise is associated with decreased severity of experimental osteoarthritis in rats. *Rheumatology*, 42(5), 692-693.
166. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am*. 1971 Apr;53(3):523-37. PubMed PMID: 5580011.
167. Glyn-Jones, S., Palmer, A. J. R., Agricola, R., Price, A. J., Vincent, T. L., Weinans, H., & Carr, A. J. (2015). Osteoarthritis. *The Lancet*, 386(9991), 376–387. doi:10.1016/s0140-6736(14)60802-3
168. Bijlsma JW, Berenbaum F, Lafeber FP. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. *Lancet*. 2011;377(9783):2115–26
169. Singh JA, Noorbaloochi S, MacDonald R, Maxwell LJ. Chondroitin for osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;1, CD005614.
170. Fransen M, Agaliotis M, Nairn L, Votrubec M, Bridgett L, Su S, et al. Glucosamine and chondroitin for knee osteoarthritis: a double-blind randomised placebo-controlled clinical trial evaluating single and combination regimens. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(5):851–8.
171. Carr AJ, Robertsson O, Graves S, et al. Knee replacement. *Lancet* 2012; 379: 1331–40.
172. Amin, S., Guermazi, A., LaValley, M. P., Niu, J., Clancy, M., Hunter, D. J., ... & Felson, D. T. (2008). Complete anterior cruciate ligament tear and the risk for cartilage loss and progression of symptoms in men and women with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*, 16(8), 897-902.

173. Cushner FD, La Rosa DF, Vigorita VJ, Scuderi GR, Scott WN, Insall JN. A quantitative histologic comparison: ACL degeneration in theosteoarthritic knee. *J Arthroplasty* 2003;18(6):687e92.
174. Roos H, Adalberth T, Dahlberg L, Lohmander LS. Osteoarthritis of the knee after injury to the anterior cruciate ligament or meniscus: the influence of time and age. *Osteoarthritis Cartilage*. 1995 Dec;3(4):261-7. PubMed PMID: 8689461.
175. Almekinders, L. C., Pandarinath, R., & Rahusen, F. T. (2004). Knee stability following anterior cruciate ligament rupture and surgery: the contribution of irreducible tibial subluxation. *JBJS*, 86(5), 983-987.
176. Goldring, S. R., & Goldring, M. B. (2004). The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*, 427, S27-S36.
177. Christiansen BA. The importance of performing knee surgery in rats. *Osteoarthritis Cartilage*. 2019 Aug;27(8):1107-1108. doi: 10.1016/j.joca.2019.04.011. Epub 2019 Apr 26. PubMed PMID: 31034922.
178. Yu, B. & Lin, Q.-R & Wang, B.-W & Zhu, Q. & He, X.-F. (2010). Effect of intra-articular ozone injection on degenerative knee cartilage in rats. *International Journal of Ozone Therapy*. 9. 14-20.
179. Naito, K., Watari, T., Furuhata, A., Yomogida, S., Sakamoto, K., Kurosawa, H., ... & Nagaoka, I. (2010). Evaluation of the effect of glucosamine on an experimental rat osteoarthritis model. *Life sciences*, 86(13-14), 538-543.
180. Jean, Y. H., Wen, Z. H., Chang, Y. C., Hsieh, S. P., Tang, C. C., Wang, Y. H., & Wong, C. S. (2007). Intra-articular injection of the cyclooxygenase-2 inhibitor parecoxib attenuates osteoarthritis progression in anterior cruciate ligament-transected knee in rats: role of excitatory amino acids. *Osteoarthritis and cartilage*, 15(6), 638-645.
181. Asadi, S., Farzanegi, P., & Azarbayjani, M. A. (2018). Effect of exercise, ozone and mesenchymal stem cells therapies on expression of IL-10 and TNF- α in the cartilage tissue of overweight rats with knee osteoarthritis. *Social Determinants of Health*, 4(3), 162-170.
182. Oladazimi, S., & Azarbayejani, M. A. (2020). Evaluation of ALK5 and MMP13 Expression in the Cartilage Tissue of Rats with Osteoarthritis Rats and Effects of Exercise Training, Ozone and Mesenchymal Stem Cell Therapies on Expression of these Genes. *Medical Laboratory Journal*, 14(1), 50-56.
183. Chen H, Yu B, Lu C, Lin Q. The effect of intra-articular injection of different concentrations of ozone on the level of TNF- α , TNF-R1, and TNF-R2 in rats with

rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2013 May;33(5):1223-7. doi: 10.1007/s00296-012-2529-7. Epub 2012 Oct 2. PubMed PMID: 23052485.

184. Moretti, M. (2010). Effectiveness of treatment with Oxygen-Ozone and hyaluronic acid in osteoarthritis of the knee. *Int J Ozone Ther*, 9(1), 25-9.

185. Raeissadat, S. A., Tabibian, E., Rayegani, S. M., Rahimi-Dehgolan, S., & Babaei Ghazani, A. (2018). An investigation into the efficacy of intra-articular ozone (O₂ O₃) injection in patients with knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Pain Research*, Volume 11, 2537–2550. doi:10.2147/jpr.s175441

186. Moskowitz, R. W., Davis, W., Sammarco, J., Martens, M., Baker, J., Mayor, M., ... & Frankel, V. H. (1973). Experimentally induced degenerative joint lesions following partial meniscectomy in the rabbit. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 16(3), 397-405.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Onur Yılmaz

Doğum Yeri: ORDU

Doğum Tarihi: 15.01.1987

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar -SCI -Diğer

- Kuru T., & Yılmaz, O. Cerrahi Olarak Tedavi Edilen Distal Radius Kırıklarının Klinik Profili. Dicle Tıp Dergisi, 47(1), 171-177.

b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

- Bilge A., Aydın C. G., Yılmaz O., Taşova A. O., Kronik lateral epikondilit tedavisinde ozon ve ekstrakorporeal şok dalgası tedavisinin karşılaştırılması, (2019) 29. Ulusal Türk Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi, Antalya
- Erken H.Y., Yılmaz O., Lokal+sedoanaljezi altında transforaminal perkutan endoskopik lomber diskektomi erken dönem sonuçlarımız, (2019) 29. Ulusal Türk Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi, Antalya

c) Katıldığı Projeler

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl: Fatsa Devlet Hastanesi (2014 Eylül-2014 Aralık)

İLETİŞİM

E-posta adresi: onurymz52@gmail.com