

T.C.
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DIŞ ÇENE HASTALIKLARI VE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

TEMPOROMANDİBULAR EKLEM İNTERNAL
DÜZENSİZLİĞİ VE OSTEOARTRİT TEDAVİSİNDE
YÜKSEK MOLEKÜL AĞIRLIKLI HYALURONİK
ASİTİN (HYLAN G-F 20) APOPTOZA ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

DIŞ HEKİMİ

ERSİN HÜSEYİN SELÇUK

DANIŞMAN

PROF. DR. NURHAN GÜLER

İSTANBUL- 2012

Doktora öğrencisi Dt. Ersin Hüseyin Selçuk'un çalışması jürimiz tarafından Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı doktora tezi olarak uygun görülmüştür.

İMZA

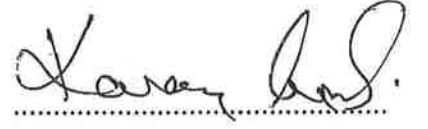
Başkan : Prof. Dr. Kemal ŞENÇİFT
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Bülent KATIPOĞLU
Üniversite : İstanbul Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Koray ORAL
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Nurhan GÜLER
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Gülderen Yanıkkaya DEMİREL
Üniversite : Yeditepe Üniversitesi



ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...2/01/2013
sayılı kararı ile onaylanmıştır.

tarih ve1-3.....



Prof. Dr. Selçuk YILMAZ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

ÖZET

Selçuk E. H. Temporomandibular Eklem İnternal Düzensizliği ve Osteoartrit Tedavisinde Yüksek Molekül Ağırlıklı Hyaluronik Asitin (Hylan G-F 20) Apoptoza Etkisi. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul 2012. TME' de internal düzensizlik ve osteoartrit varlığında, sinoviyal sıvıdaki apoptozun, dejeneratif kemik değişikliği üzerindeki etkinliği ve intraartiküler hyalüronik asit enjeksiyonunun rolü bilinmemektedir. Sinoviyal sıvıda artan apoptozun eklem dejenerasyonuna etki edebileceği ileri sürülmesine rağmen, kondrositler üzerinde direk etkili olan hyalüronik asitin apoptoz ile ilişkisi tam olarak açıklanamamakta ve bu ilişkinin var olup olmadığını belirlemek amacıyla mevcut çalışma planlandı. Çalışmaya TME internal düzensizliği bulunan, artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon tedavisi uygulanan 30 hastadan alınan sinoviyal sıvı örneklerinde sFas, CD44, NMP, TLR2 ve TLR4 değerlerinin belirlenmesiyle artrosentez ve yüksek molekül ağırlıklı hyalüronik asitin (HA) eklem içi yapılarda apoptoza etkisi değerlendirildi. Ağrı, eklemde ses ve/veya ağız açıklığında sınırlama şikayetleri ile başvuran ve konservatif tedaviye cevap vermeyen, yaşları 15 ile 72 arasında değişen (32.58 ± 14.78) klinik ve radyolojik olarak eklemde disk deplasmanı teşhis edilen 34 hastanın, 35 ekleminden alınan sinoviyal sıvı örnekleri üzerinde yürütüldü. Maksimum ağız açıklığı (MAA), destekli MMA, lateral ve protruziv hareketlerin miktarı, eklem sesleri, T₁ ve T₂ ağırlıklı MRG' lerde disk kondil ilişkisi, efüzyon, erozyon ve osteofit gibi kemikteki dejeneratif değişiklikler kaydedildi. Ağrı VAS skoru ile değerlendirildi. Artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon öncesi ve sonrası sinoviyal sıvı örneklerinin analizinde insan APO-1/Fas/CD95, NMP, TLR4, TLR2 ve CD44 seviyelerinin belirlenmesinde sandviç ELISA yöntemi kullanıldı. Tedavi öncesi ve intraartiküler enjeksiyon sonrası MAA ortalamalarında $27,94 \pm 5,20$ mm' den $29,82 \pm 5,94$ mm' ye kadar artış izlendi. MAA, sağ ve sol lateral ve protruziv hareketlerin miktarında anlamlı artış ($p < 0,01$) izlenirken VAS ve fonksiyonel VAS değerlerindeki azalma (sırasıyla $4,62 \pm 2,98$ ' den $3,11 \pm 2,91$ ' e ve $7,45 \pm 2,06$ ' dan $5,85 \pm 2,77$), istatistiksel

olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$). Tedavi öncesi ve sonrası ortalama sFas ve CD44 seviyelerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı iken ($p=0,013$ ve $p=0,009$) NMP, TLR 2 ve TLR 4 değerleri arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Tedavi öncesi sFas ile TLR4 ve NMP ile TLR4 arasında pozitif yönde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlendi ($p<0,01$ ve $p<0,05$). TLR 2 ve TLR 4 düzeyleri arasında ise anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$). Artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası sFas ile CD44 ve NMP ile TLR4 arasında pozitif yönde ($p<0,05$, $p<0,01$), sFas ile TLR4 arasında ise negatif yönde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görüldü ($p<0,05$). TLR4 düzeyi ile TLR2 düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$). Osteoartrit (OA) izlenen eklemlerde, sinoviyal sıvıdaki sFas ve CD44 düzeylerinde görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,047$ ve $p=0,028$), NMP, TLR 2 ve TLR 4' deki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Efüzyon belirlenen eklemlerin tedavi öncesi CD44 düzeyleri, efüzyon izlenmeyen eklemlerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,003$). Efüzyonun izlenmediği eklemlerdeki NMP düzeyleri, istatistiksel olarak anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,016$). Efüzyon var olan eklemlerin tedavi öncesi NMP ve düzeyleri, efüzyon izlenmeyen eklemlerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,007$).

Artrosentez sonrası eklem içine uygulanan yüksek molekül ağırlıklı hyalüronik asit (Hylan G-F 20)' in TME' de apoptozu indüklediği, ancak apoptozun bu indüksiyonunun genel olarak enflamatuvar hücreler üzerinde gerçekleştiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Temporomandibular eklem, apoptoz, sFas, CD44, NMP, TLR, osteoartrit, Hylan G-F 20.

ABSTRACT

Selcuk E.H. The influence of High Molecular Weighted Hyaluronic Acid (Hylan G-F 20) Used for Treatment of Temporomandibular Internal Derangement and Osteoarthritis on Apoptosis. Yeditepe University, Faculty of Dentistry, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, PhD Thesis, Istanbul 2012. The efficacy of synovial apoptosis on the degenerative bone changes and the role of intraarticular hyaluronic acid injection is not known in patients with internal derangement and OA. Although it has been suggested that the increased apoptosis in synovium could effect on joint degeneration, the relation between apoptosis and hyaluronic acid, which has a direct effect on chondrocytes is not explained and the purpose of this study is to determine whether there is a relationship between them. The levels of sFas , CD44, NMP, TLR 2 and TLR 4 in synovial fluid taken from joints with internal derangement and OA by using arthrocentesis and intraarticular injection are determined. Thirty five joints from 34 patients with pain, joint sounds, limitations in mouth opening, disc displacement on MRI which were not respondant to conservative treatment were included. Maximum mouth opening, supported maximum mouth opening, amount of lateral and protrusive movements, joint sounds, disc and condyle relations on T₁ and T₂ weighted MRI, degenerative changes, erosion, osteophyte and effusion were recorded. Pain was evaluated by VAS score. The sandwich ELISA method were used in order to evaluate the levels of human APO-1/Fas/CD95, NMP, TLR 4, TLR 2, CD44. MMO increased from 27,94±5,20 mm to 29,82±5,94 mm. There was a statistically significant increase in the right and left lateral and protrusive movements (p<0.01), and there were significant decreases in mean VAS scores (4,62±2,98 to 3,11±2,91 and 7,45±2,06 to 5,85±2,77 respectively) (p=0.001). Although the decreases in mean sFas and CD44 levels were statistically significant before and after treatment (p=0,013 and p=0,009), no statistical significance was found between NMP, TLR 2 and TLR 4 levels (p>0,05). While a positive relation was found between sFas and TLR 4 and between NMP and TLR 4 levels (p<0,01

and $p < 0.05$), where as negative relation was found between sFAS and TLR4 ($p < 0.05$). There was no statistically significant relationship between TLR4 and TLR2 values ($p > 0.05$). The decreased mean levels of sFas and CD44 in joints with OA were statistically significant ($p = 0.047$ and $p = 0.028$), where as NMP, TLR 2 and TLR 4 levels were not significant ($p > 0.05$). The levels of CD44 and NMP in joints with effusion before treatment were found to be statistically high and significant than the joints without effusion ($p = 0.003$ and $p = 0.007$, respectively). NMP values in joint without effusion were statistically high and significant ($p = 0.016$).

It is concluded that high molecular weighted hyaluronic acid (Hylan G-F 20) injection after arthrocentesis induces apoptosis in TMJ, by generally affecting inflammatory cells.

Key Words: Temporomandibular Joint, apoptosis, sFas, CD44, NMP, TLR, osteoarthritis, Hylan G-F 20.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora eğitimim sırasında sunduğu bilimsel, verimli ve destekleyici ortam için başta, Kurucu Dekanımız **Sayın Prof. Dr. Türker Sandallı'** ya,

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca otorite ve samimiyet dengesiyle, karşılaştığım sıkıntıların çözümünde bana yardımcı olan, klinik gelişimimde beni cesaretlendiren, destek ve örnek olan, güler yüzü, pozitif eğitimciliği ve önderliğiyle beni motive eden, her zaman yol gösterici ve yardımcı olan, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D. Başkanı **Sayın Prof. Dr. M. Kemal ŞENÇİFT'** e

Eğitimim sırasında bilgi ve tecrübelerini içtenlikle paylaşan, varlığı ve desteğiyle bana güven veren ve beni destekleyen, klinik eğitimim sırasında göstermiş olduğu küçük ayrıntılarla fark yaratmamı sağlayan, bu çalışmanın fikir aşamasından bugüne kadar her aşamasında bulunan, desteğini ve özel zamanını esirgemeyen, değerli tez danışmanım **Sayın Prof. Dr. Nurhan GÜLER'** e

Çalışmamın immünolojik incelemesinde, bana değerli zamanını ayıran Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim görevlisi **Sayın Doç. Dr. Gülderen Yanıkkaya DEMİREL** ve **Biyolog Fatma Tuba AKDENİZ'** e

Eğitimim sırasınca desteklerini her zaman hissettiren, bilgisini paylaşan ve yardımcı olan diğer öğretim üyeleri **Sayın Doç. Dr. Ahmet ARSLAN' a**, **Sayın Doç. Dr. Ceyda Özçakır TOMRUK'a**, **Sayın Yrd. Doç. Dr. Ediz DENİZ' e**, **Sayın Yrd. Doç. Dr. Gonca DUYGU' ya**

Eğitimim sırasında karşılaştığım problemlere en hızlı cevap olan **Dr. Fatih CABBAR** ve **Dr. Berkem ATALAY'** a

Birlikte çalışmaktan zevk aldığım bölüm arkadaşlarıma ve bölüm hemşirelerimize,

Her anımda yanımda olan ve her zaman desteklerini hissettiğim, dünyanın en iyi babası Dt. Hasan SELÇUK, maneviyatımın kaynağı annem Seval SELÇUK ve canımdan çok sevdiğim kardeşim İrem SELÇUK' a, sevgi ve fedakarlıkları için,

En içten teşekkürlerimi sunarım

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	x
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
ŞEKİLLER	xiv
RESİMLER	xv
TABLolar	xvi
GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Temporomandibular Eklemın Fonksiyonel Anatomisi	4
2.2 Temporomandibular Eklemın Anatomisi	5
2.3. Çiğneme Sisteminin Biyomekaniği	10
2.4. Sinoviyal Membran	11
2.5 Sinoviyal Sıvı	14
2.6. Artiküler Kartilaj Yapısı	15
2.7.Sinoviyal Sıvıdaki Proenflamatuar Sitokinler	16
2.8. Sinovitis	18

2.9 TME' nin İnternal Düzensizliği	18
2.10. Osteoartrit	21
2.11. Enflamatuar Hücre Çoğalması	25
2.12. Sinoviyumun Anjiyogenezi	27
2.13. Enflamatuar Mediatörler	27
2.14. Sinovitisin OA İçindeki Patojenik Rolü	29
2.15. Apoptoz	32
3. MATERYAL VE METHOD	44
3.1. Radyolojik Değerlendirme	45
3.2. Artrosentez Tekniği	49
3.3. İmmünolojik Yöntem	52
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	60
4. BULGULAR	61
5.TARTIŞMA	81
6. SONUÇLAR	100
7. KAYNAKLAR	103
EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

TME	Temporomandibular eklem
TNF	Tümör nekrotizan faktör
sFas	Soluble Fas
NMP	Nükleer matriks protein
TLR	Toll-like reseptörler
LPS	Lipopolisakkarid
HA	Hyalüronik asit
OA	Osteoartrit
İD	İnternal düzensizlik
PG	Prostoglandin
GAG	Glikozaminoglikan
IL	İnterlökin
RluADD	Redüksiyonlu anteriordiskdeplasmanı
RsuzADD	Redüksiyonsuzanteriordiskdeplasman
KK	Kapalı Kilitlenme
TRAIL	ligant indükleyen-apoptoz ilişkili-TNF
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
MMP	Matriks malloproteinaz
TIMP-1	Malloproteinaz doku inhibitörü-1
CDDP	Kalsiyum fosfat dihidrat
TCR	T hücre reseptörü

CXCL	CXC-kemokin ligant
GM	Granülosit-makrofaj
CSF	Koloni-stümüle edici faktör
EGF	Endotelyal büyüme faktörü
PGE ₂	Prostoglandin E ₂
GRO- α	Growth-regulated α protein
BMP	Kemik morfolojik proteinleri
CPR	C-reaktif proteini
Ig	İmmünoglobulin
FasL	Fas Ligant
NO	Nitrik Oksit
NK	Natural Killer
CTL	Sitotoksik T lenfosit
FADD	Fas ile ilgili ölüm alanı
PDK-2	p21-aktive olmuş kinaz-2
PRR	Patern taşıyıcı reseptörler
MyD88	Gen 88
IRF	İnterferon düzenleyici faktör
HMGB	Yüksek-mobilite grup proteinler
°C	Santigrat Derece
μ	Mikron
μ l	Mikron Litre
mg	Miligram
α	Alfa
β	Beta
MAA	Maksimum ağız açıklığı

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 4.1. Tedavi öncesi ve artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası ortalama VAS ve fonksiyonel VAS değerleri	65

RESİMLER

	Sayfa
Resim 3.1: Sagital Planda MR görüntüde ağız kapalı (a) ve açık (b) pozisyonda normal disk kondil görüntüsü	47
Resim 3.2: Rlu ADD'li bir eklemdede sagittal plandaki MR görüntüde ağız kapalı (a) pozisyonda diskin kondilin anteriorunda yer alması, ağız açık (b) pozisyonda disk ile kondilin normal ilişkisinin görüntüsü	47
Resim 3.3: Rsuz ADD'li bir eklemdede sagittal plandaki MR görüntüde ağız kapalı (a) ve açık (b) pozisyonda diskin kondilin anteriorunda yer aldığı disk pozisyonunun değişmediğinin görüntüsü	48
Resim 3. 4: Koronal (a) ve sagittal (b) planda MR görüntülerde kondilin medialinde dejeneratif kemik değişikliği (osteofit ve erozyon)	49
Resim 3.5: Sagittal planda T2 ağırlıklı MR görüntüde efüzyon (parlak sinyal yoğunluğu)	50
Resim 3.6: Tragus ile dış kantal mesafe arasındaki eklemin konumuna göre ist eklem boşluğuna iğnenin giriş yerleri	51
Resim 3.7: Artrosentez işlemi ile %0,09'luk NaF enjeksiyonu ile üst eklem boşluğunun yıkanması	52
Resim 3.8: APO-1/Fas/CD95 Invitrogen ELISA kiti	53
Resim 3.9: TLR4 USCN, Life Science Inc. (Cat:E90753Hu) ELISA kiti	54

TABLÖLAR

	Sayfa
Tablo 4.1. Hastaların yaş, cinsiyet ve şikayetin eklem lokalizasyonuna göre dağılımı	62
Tablo 4.2. Hastalardan alınan MR görüntülerinde disk-kondil ilişkisi, osteoartrit ve efüzyon varlığının dağılımı	63
Tablo 4.3. Disk kondil ilişkisi, osteoartrit ve efüzyon varlığının yaş aralığına göre dağılımı	63
Tablo 4.4. Klinik bulguların tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçüm değerleri	64
Tablo 4.5. Klinik parametrelerin tedavi öncesi ve artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası değerleri arasındaki korelasyonu	67
Tablo 4.6. Artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası klinik parametrik değerlerin korelasyonu	69
Tablo 4.7. Tedavi öncesi ve artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası immünolojik parametrelerin ortalama değerleri	71
Tablo 4.8. Klinik parametreler ile immünolojik değerlerin tedavi öncesi düzeylerinin korelasyonu	72
Tablo 4.9. TME' deki disk deplasmanı ile klinik parametrelerin ilişkisi	74

Tablo 4.10.	MR görüntüsünde OA varlığının klinik parametrelerle ilişkisi	76
Tablo 4.11.	Efüzyon varlığına göre klinik parametrelerin korelasyonu	78
Tablo 4.12.	MR görüntüde disk deplasmanının sinoviyal sıvıdaki immünolojik parametrelerle ilişkisi	79
Tablo 4.13.	OA varlığına göre sinoviyal sıvıdaki immunolojik değerlerin ilişkisi	80
Tablo 4.14.	Efüzyon varlığına göre immunolojik parametrelerin ilişkisi	81

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Osteoartrit (OA) ve redüksiyonsuz disk deplasmanı (kapalı kilitlenme) olarak bilinen eklem rahatsızlıkları, ağız açıklığının azalması ve ağrı gibi şikayetlerle hastaların yaşam kalitesini düşürmektedir. Özellikle maloklüzyon ve psikolojik faktörlerin yanında disfonksiyona yatkınlık, gelişimsel bozukluklar, parafonksiyonel alışkanlıklar ve travmanın önemi vurgulanırken, bu faktörlerin bir ya da bir kaçının varlığı semptomların tetikleyicisi olmaktadır.

Temporomandibular eklemden (TME), çiğneme kaslarındaki gerilim, diskin konumu, eklem yüzeylerindeki dejenerasyonlar, disk kondil uyumsuzluğu gibi nedenlerle internal düzensizlik, buna bağlı osteoartrit ve kapalı kilitlenmeli hastalarda konservatif ve cerrahi tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Özellikle konservatif tedaviye cevap vermeyen hastalarda, artrosentez ve intraartiküler hyaluronik asit enjeksiyonu tedavisi yaygın bir uygulamadır. İnvaziv olmayan, basit ve etkili bu yöntemle, adezyonların lizisi sağlanmakta, üst eklem boşluğunun lavajı ve hyaluronik asit enjeksiyonuyla kapalı kilitlenmeli hastalarda eklem hareketliliğinin arttığı bilinmektedir.

TME hastalıklarında, sinoviyum ve artiküler kartilajın, apoptozisi azaltma potansiyeline sahip bazı mediatörler oluşturduğu bildirilmektedir. Artiküler kartilaj matriksinin oluşum ve devamlılığının sadece kondrositler tarafından sürdürüldüğü, kondrosit oranındaki değişikliklerin kartilaj yıkımında patolojik bir gösterge olduğu düşünülmektedir. TME sinoviyal dokularındaki apoptozun eklem içi düzensizliklerin ilerleyişiyle ilişkilendirilmektedir.

Apoptoz, yaşa bağlı ya da yaralanmalar sonucu zarar görmüş hücrelerin, enerji koruma amacıyla gerçekleşen en önemli eliminasyon mekanizmasıdır. Gelişmiş organizmalarda, hücreler arası ilişkinin sonucu gereksinim duyulan ve fonksiyon bozukluğu gözlenen hücrelerin çevreye zarar vermeden programlı ölümü, embriyonik dönemden başlayarak yaşam boyunca devam etmektedir. Hücre ölümü

ve mitozu arasındaki bu dengenin bozulmasıyla bir çok hastalık ortaya çıkmaktadır. AIDS, Alzheimer, Parkinson, insüline bağımlı tip diabet, hepatit C enfeksiyonu, miyokard enfarktüsü gibi hastalıklarda hızlanırken, otoimmün hastalıklar ve kanserde apoptoz yavaşlamaktadır. Son yıllardaki çalışmalar, bu hastalıkların önlenmesi ve mekanizmanın daha iyi anlaşılması üzerine yapılmaktadır.

Hücre duvarında yer alan Fas (CD95, APO-1) apoptozisi indükleyen hücre duvarı proteindir ve kendi ligantı olan FasL ya da diğer antibodylerle birleşerek hücre ölümünü indükler. Fas ve FasL, tümör nekrotizan faktör (TNF) reseptör ve ligant ailesinin tipik birer üyesidirler ve hücre ölümü aktivasyon-indüksiyonu, immün ayrıcalıklar ve tümörde önemli rol oynamaktadır. Fas ile aynı mRNA kaynaklı, çözülebilen formdaki soluble Fas (sFas) lenfosit sayı ve aktivasyonunu arttırmaktadır. Hücre duvarına alternatif şekilde bağlanan sFas, ligand sayı ve konsantrasyonunu düzenleyerek hücre duvarındaki reseptör sayısını sınırlayarak apoptoz indüksiyonunu engellemektedir. Hücre dışı alanda artan sFas oranı Fas-FasL bağlantısını önleyerek hücre apoptozunu bloke etmektedir.

DNA replikasyonu, RNA sentezi, hormon-reseptör bağlantısını sağlama gibi görevleri olan Nükleer matriks protein (NMP)' nin, hücre çekirdeğinin taslak oluşumunu sağladığı bilinmektedir. NMP' ler ölü ya da ölmekte olan hücrelerden salınması nedeniyle ölü hücre markerı olarak nitelendirilir. Apoptoz sırasında çözünebilir hale geçen NMP sayısı, apoptoz oranını da belirtmektedir.

Toll-like reseptörler (TLR), birçok patojene karşı doğal immün cevabın oluşmasını sağlayan tip 1 transmembran proteindir. Aynı zamanda adaptif immün cevabın da aktive olmasını sağlayarak konak immünitesinde çok önemli role sahiptir. İnsanda en çok araştırılan ve fonksiyonu aydınlatılan TLR olan TLR-4, lipopolisakkaridlerin (LPS) tanınmasında rol almaktadır. TLR-4'ün bir LPS reseptörü olduğu ortaya çıkarılmıştır. TLR-4 fonksiyonel olarak hücre yüzeyinde CD14, MD-2 ve LPS-bağlayıcı proteini içeren bir molekül kompleksini oluşturmaktadır. Endojen ligantları arasında hyalüronik asit olduğu bilinmektedir.

İnsan TME' sinde ise OA ve internal düzensizlik varlığında, sinoviyal sıvıdaki apoptozun, dejeneratif kemik değişikliği üzerindeki etkinliği ve intraartiküler hyalüronik asit enjeksiyon tedavisinin rolü bilinmemektedir. Sinoviyal sıvıda artan apoptozun eklem dejenerasyonuna etki edebileceği ileri sürülmesine rağmen, kondrositler üzerinde direk etkili olan hyalüronik asitin apoptoz ile ilişkisi tam olarak açıklanamamakta ve bu ilişkinin olup olmadığını belirlemek için mevcut çalışma planlandı. Çalışmaya TME internal düzensizliği bulunan, artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon tedavisi uygulanan 30 hastadan alınan sinoviyal sıvı örneklerinde sFas, CD44, NMP, TLR2 ve TLR4 değerlerinin belirlenmesiyle artrosentez ve yüksek molekül ağırlıklı hyalüronik asitin (HA) eklem içi yapılarda apoptoza etkisi değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Temporomandibular Eklem Fonksiyonel Anatomisi ve Biyomekaniği

Temporomandibular eklem (TME), baş iskeletini oluşturan eklemler arasında hareketli olan tek eklem olup, çiğneme kasları, baş boyun kasları, dişler, ligamentler ve tükürük bezlerinden oluşan stomatognatik sistemin, hareketli bir parçasıdır.

Diartroidal eklem olan TME, temporal kemiğin glenoid fossası, mandibular kemiğin kondil başı ve bu iki kemik yapı arasındaki artiküler diskten oluşmaktadır. Fibröz bağ dokudan oluşan eklem kapsülü, eklemi sarmakla beraber, eklem vaskülarizasyon ve inervasyonunu sağlar. Eklem iç yüzeyi ,sinovial sıvının salgılanmasını da sağlayan sinovial membranla örtülüdür. Bu sıvı nonvaskülarize alanda beslenmeyi sağlarken, kayganlığı arttırıcı özelliğe de sahiptir.

Artiküler disk, eklem boşluğunu, alt ve üst olmak üzere iki kompartmana ayırmaktadır. Ginglimoid olarak adlandırılan alt eklem boşluğu, mandibulaya rotasyon hareketi yaptırırken, artroidal olarak adlandırılan üst eklem boşluğu eklem translasyon ve kayma hareketleri yaptırmaktadır. Bu hareketler nedeniyle TME ginglimoartroidal bir eklem olarak tanımlanmaktadır (1).

TME vücudun en karmaşık eklemidir. Menteşe ve kayma hareketleri yapan bu eklemde iki kemiğin direk artikülasyonu, eklem diskiyle engellenir. Disk, mandibular kondil ve fossayla beraber fonksiyonel hareketlere adapte olan bu yapı desktrüktif kuvvetler ve yapısal değişimler sonucunda diskte geri dönüşü olmayan bozukluklar meydana gelebilmektedir (2).

2.2 Temporomandibular Eklem Anatomisi

2.2.1. Mandibular Kondil

Gençlerde yetişkinlere oranla daha yuvarlak şekilde olan kondil başı, yaşla beraber daha düz bir yapı haline gelmektedir. Anteroposterior yönde 8-10 mm, mediolateral yönde ise 15-20 mm kalınlığındadır. Kondil başının anterior kısmı, bağ dokusu bakımından posteriora göre daha kalındır. Bu kalınlık farkının eklem yüzeylerine gelen yük dağılımından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kondil başının anterior kısmı daha fazla kuvvete maruz kalan bölge olarak bilinmektedir (3).

Eklem yüzeyi koronal kesitte daha konvektir ve bu yüzey bir tepe noktasıyla ikiye ayrılmaktadır. Medial ve lateral olarak ayrılan bu bölümler, diskin ve ligamentlerin tutunabilmesi için pürüzlü bir yapıya sahiptir (3).

2.2.2. Glenoid Fossa : Mandibular fossa olarak da adlandırılan bu eklem yüzeyi temporal kemiğin skuamoz parçası üzerinde bulunan konkav bir alandır. Anteriorunda temporal kemiğin artiküler eminensi, posteriorunda ise dış kulak yolunun anterior duvarını oluşturan timpanik tabaka bulunmaktadır (3).

Glenoid fossanın tepe noktası ince kemik yapısındadır. Bu bölgenin ince olması nedeniyle fosaya gelen kuvvetler daha çok artiküler eminensin posterior sınırına yönelmektedir. Eklem kuvvetlerine maruz kalmayan bölgeler ise damardan zengin ince fibröz bağ dokusuyla örtülüdür(3).

Glenoid fossanın genel olarak düzenli bir şekli yoktur ve kondil başına uyumlu değildir. Anteroposterior ve mediolateral yönde konkav bir yapıda ve mediolateral yönde daha geniştir. Fonksiyonda daha fazla kuvvete maruz kalan anterior kısmı posteriora oranla daha geniştir. Posterior alanda ise damar ve sinirden zengin retrodiskal doku bulunmaktadır(3).

2.2.3. Artiküler Disk: TME glenoid fossa, kondil, disk, artiküler tüberosite, kapsül ve hepsini bir arada tutan lagamentlerden oluşmaktadır. Mandibula

kondiline fibröz ataçmanlar yardımıyla tutunan disk, glenoid fossayla mandibular kondil arasında konumlanmaktadır.

Artiküler disk, yoğun, fibröz bağ dokusundan oluşmuş, nonvaskülarize ve sinir innervasyonu olmayan bir banttır. Kondilin medial ve lateral kutuplarına tutunan disk, bu sayede ağız hareketleri sırasında kondille beraber hareket edebilmektedir. Diskin ikiye ayırdığı eklem kompartmanının alt ve üst kısımları tamamen sinoviyal sıvıyla doludur (4). Diskin posteriorunda, sinoviyal sıvı üretimini sağlayan, damar ve sinirden zengin, bilaminar zon olarak da tanımlanan retrodiskal doku yer almaktadır (1).

TME diski, mandibular ve temporal kemikler arasında fonksiyon sırasında oluşan uyumsuzlukları önleyecek morfolojiye sahiptir. Anteriordan bakıldığında diskin alt kısmı kondil başının eklem yüzeyine uyum sağlayacak şekilde konkav, superior yüzü ise temporal kemikteki eklem yüzeyine uyum sağlayacak şekilde konvektir. Disk TME ligamentleri aracılığıyla sabit konumda bulunmaktadır ve fonksiyon sırasında diskin laterale kayması önlenir (3).

Disk anterior, orta ve posterior kısımdan oluşmaktadır. Anterior ve posterior kısımlar konkav şekil deyken orta kısım daha ince yapıdadır. Diskin posterior kısmı 3 mm, median kısmı 1 mm, anterior kısmı ise 2 mm civarında kalınlığa sahiptir. Ağız kapalı haldeyken, kondil diskin posterior kompartmanı üzerinde konumlanır. Ağız açılması sırasında kondil anteriora hareket ederken, disk de bu rotasyon hareketine eşlik eder. Ancak diskin hareketi kondil hareketine göre daha sınırlı bir kayma hareketidir. Kapanış sırasında disk ve kondil resirokal olarak başlangıç pozisyonuna geri döner. Ağız açılması sırasında lateral pterigoid kasın inferior kısmının fonksiyonuyla kondil başı anteriora hareket eder. Lateral pterigoid kasın superior kısmı bu esnada fonksiyona girmez. Kapanış sırasında lateral pterigoid kasın inferior kısmı defleksiyona uğrar, elevatör kasların yardımıyla ağız kapanması tamamlanır. Disk, ağız açılması sırasında gerilen posterior fibriller ve lateral pterigoid kasın süperior kısmının fleksiyonuyla orijinal konumuna geri döner (5).

Eklem diski üzerinde her yönde dağılım gösteren kollajen lif demetleri bulunan yoğun fibröz ya da fibrokartilaj bir dokudan oluşmaktadır. İç tabakaları anteroposterior yönde dizilmiş kollajen lifler ve proteoglikandan oluşurken, eklem yüzeylerine bakan yüzeyleri anteroposterior ve mediolateral yönde dizilmiş kollajen lifler ve proteoglikanlardan oluşmaktadır. Bu yapı diskin fonksiyon sırasındaki makaslama kuvvetlerine karşı dayanabilecek kuvvetli biyomekanik özelliğe sahip olduğu düşünülmektedir(6).

Retrodiskal doku iki kısımdan oluşmaktadır. Glenoid fossa posterior duvarına yapışık şekilde konumlanan superior lamina elastik liflerden, diskin arka sınırına yapışık inferior lamina kollajen liflerden oluşmaktadır(7,8,9).

Diskin ana görevi, temporal kemiğin skuamoz parçası ve mandibula kondili arasında oluşan streslerin emilimini sağlayarak, eklem gelen kuvvet dağılımlarını eşit biçimde dağıtmak ve fonksiyon sırasında oluşacak deformasyonların önlenmesidir (4). Ağızın açma-kapama sırasında kondille beraber disk de artiküler eminens boyunca hareket etmektedir. Eklemi oluşturan bu iki kemik yapısı birbirleriyle uyumlu değildir. Kondil ve temporal kemik üzerindeki fibrokartilaj eklem yüzeyleri eklem gelen yüklerin dağılımına ve kayma hareketine uygun değildir. Disk ise bu iki kemik arasındaki uyumu sağlayarak, yük dağılımını sağlamakta, ayrıca esnek yapısıyla beraber bağlı olduğu fibrillerinde elastikiyetiyle kayma hareketini gerçekleştirmektedir. Kısacası eklem diski, mekanik açıdan eklem bütünlüğünü ve eklem düzgün hareketini sağlamaktadır (6).

2.2.4. Temporomandibular Eklem Ligamentleri

TME' nin stabilizasyonu, kaslar dışında ligamentler tarafından sağlanmaktadır. Ligamentler mandibula kondil hareketlerinin aşırı lateral, protruziv ya da retruziv hareketlerini engellemektedir (10).

Esname özellikleri de bulunan eklem ligamentleri kollajen esaslıdır. Eklem hareketlerine aktif şekilde katılmazlar. Eklem hareketlerini sınırlandırır. Fonksiyonel olan kollateral (diskal), kapsüller ve temporomandibuler ligamentlere yardımcı olarak sfenomandibuler ve stylomandibuler ligamentler de mevcuttur (11).

2.2.5. Temporomandibular Eklem Kas Sistemi

Çiğneme hareketleri 4 ayrı kas çifti tarafından sağlanmaktadır. Bu kaslar, masseter, temporal, medial pteriygoid, lateral pteriygoid kas çiftleridir. Her birini trigeminal sinirin mandibular dalı inerve etmektedir. Bu kas demetleri daha çok ağız kapama esnasında görev alırken, ağız açılması sırasında, başta supra ve infrahyoid kaslar olmak üzere, baş ve boyunu stabil halde tutan kaslarla beraber mimik kasları da dahil olmak üzere bir çok kasın işlevi bulunmaktadır (12).

Mandibula ve orofasiyal sistemdeki kas hareketleri, birbirine bağımlı olmasına rağmen karmaşık bir mekanizma ile çalışmaktadır. Dinlenme durumunda dahi "tonus" olarak adlandırılan yarı kasılma durumunda olan elevatör kaslarının aktivitesi, artiküler yüzeyleri arasında herhangi bağlantı bulunmayan TME' yi stabil konumda tutar.

2.2.5.1 Masseter Kası : Zigomatik ve maksiler arktan orijin alan, derin ve superfisial olmak üzere, iki kısımdan oluşur. Yüzeysel parça mandibula protrüzyonuna yardımcı olurken, derin parça kondilin artiküler yüzeyine doğru stabilizasyonunu sağlar. Masseter etkili çiğnemeyi sağlayan çok güçlü bir kاستر.

2.2.5.2 Temporal Kas : Kafatası lateralindeki temporal fossadan orijin alan büyük yelpaze şeklinde bir kاستر. Üç farklı yönü olan lifler, zigomatik ark ile kafatası lateralinden aşağı inerek koronoid proçes ve ramus ön duvarına, bir tendon oluşturarak tutunur. Kasılması durumunda mandibula yukarı hareket eder ve dişler temas halini alır. Ayrıca mandibula pozisyoneri görevinde bulunmaktadır(10).

2.2.5.3. Medial Pterygoid: Pterygoid fossadan başlar ve aşağı, geri, dışa doğru uzanarak mandibuler açının medial yüzeyine yapışır. Lifler kasıldığında mandibula yukarı kalkar ve dişler temas eder. Aynı zamanda mandibulanın protrüzyon hareketini sağlar(8,13)

2.2.5.4. Lateral pterygoid: İnférieur ve süperior dallardan oluşur. İnférieur dalı ağız açma ve protrüzyon esnasında depresör kaslarla, süperior dalı ise ağız kapama esnasında elavatör kaslarla birlikte çalışır. Primer görevi, disk kondil ve kapsülün pozisyoneri olmasıdır. Dolayısıyla bütün eklem ve disk düzensizliklerinde rol oynamaktadır (10).

Bu 4 esas kasın haricinde, suprahyoid (digastrik, geniohyoid, mylohyoid ve stylohyoid kaslar) ve infrahyoid (sternohyoid, omohyoid, sternotiroid ve sternohyoid) kaslar mandibula stimulasyonuna yardımcı kaslardır.

Lateral hareketler, protrüzyon ve depresyon, mandibulanın temel hareketleridir ve efektif TME hareketleri için kas sistemi ve oklüzyonun optimum düzeyde birbirleriyle uyum içinde olmaları gerekmektedir (7,8).

2.2.6. Temporomandibular Eklem İnervasyonu

TME' nin büyük bölümü trigeminal sinirin mandibular dalı tarafından inerve edilmekle beraber, aurikulotemporal sinir kapsülün posterioru, retrodiskal dokular, kapsül arteriolleri ve lateral eklem bölgesi dokuların inervasyonundan sorumludur. Anterior eklem bölgeleri ise masseterik sinir ve derin temporal sinirin posterior dalları tarafından inerve edilmektedir (14).

2.2.7. Temporomandibular Eklem Vaskülarizasyonu

Zengin bir damarlanmaya sahip olan TME, anterior kısmında masseterik arter, posterior kısmında ise yüzeysel temporal ve maksiller arterler tarafından

beslenmektedir (1). Eklem çevresi çiğneme kasları ve yumuşak dokular, arteria karotis eksterna ile beslenirler (14).

2.3. Çiğneme Sisteminin Biyomekaniği

Kompleks bir eklem olan TME, tek bir kemiğin oluşturduğu iki eklem söz konusu olması ve bir çok kas faaliyetinin bu eklem hareketlerinde rol oynaması, iki eklem de aynı zamanda farklı aktivitede bulunabilmesi nedeniyle daha da karışık bir sistem haline gelmiştir (2).

Temporomandibular eklem bu karmaşık yapısı nedeniyle iki bölümde incelenmelidir. İlk bölüm, sinoviyal kavitenin alt bölümünü oluşturan disk ve mandibular kondilden oluşmaktadır. Eklem diski kondille yalnızca rotasyon hareketi gerçekleştirmektedir. Bunun ana nedeni medial ve lateral ligamentlerin, disk ve kondili birbirleriyle sıkıca bağlaması olarak görülmektedir. İkinci bölüm, diskin glenoid fossayla olan üst eklem kompartmanının yaptığı kayma hareketinden sorumludur. Üst eklem kompartmanında, disk ve fossa arasında, kondil ve disk arasındaki sıkı bağlantı bulunmadığı için kayma hareketine izin verir. Dolayısıyla disk hem alt hem de üst eklem kompartmanlarına dahil bir yapı olarak eklemde yerini almaktadır. Bu oluşum sayesinde meydana gelen birden fazla eklem hareketi TME' i kompozit bir eklem olarak dikkate alınmaktadır (2).

Lateral hareketler, protrüzyon ve depresyon, mandibulanın temel hareketleridir ve efektif TME hareketleri için kas sistemi ve oklüzyonun optimum düzeyde birbirleriyle uyum içinde olmaları gerekmektedir (7,8).

Mandibular hareketler horizontal, frontal ve sagittal eksen üzerinde meydana gelmektedir. Mandibula horizontal eksen etrafında açma kapama hareketi yapmaktadır. Bu hareket sagittal düzlem üzerinde oluşmakta ve mandibula sentrik ilişkideyken kondil başlarından geçtiği hayal edilen " menteşe eksenini " etrafında

gerçekleşmektedir. Dolayısıyla bu açma kapama hareketi “ mentese hareketi “ olarak isimlendirilir (15).

Sagittal eksen etrafında mandibula kayma ve protrüzyon hareketlerini gerçekleştirir. Kondil artiküler fossada en yukarıda konumlandığında, etrafında kayma hareketlerinin oluştuğu eksene terminal mentese eksenini denilmektedir. Kondillerden biri terminal mentese eksenindeyken diğer kondilin öne ve aşağı yöndeki hareketiyle kayma hareketi meydana gelmektedir. Lateral hareketler bu şekilde gerçekleşir. İki kondilin aynı anda öne ve aşağı hareketiyle protrüzyon hareketi meydana gelir. Mandibula protrüzyonda iken maksilla ve mandibula kesici dişleri uç uca konuma gelir (15).

2.4. Sinoviyal Membran

TME’ de artiküler yüzeyleri ve diski saran fibröz kapsülün en iç tabakasını oluşturan sinoviyal membranın diğer eklemlerdeki sinoviyal membranlarla benzer özellikler gösterdiği kabul edilmektedir. Temporal kemiğin artiküler yüzeylerinin periferinden başlayarak, disk ve kondili içine alır, kondil boynunun üst kısmına kadar uzanır. Fonksiyon sırasında mandibulanın stabilizasyonunu sağlamaktadır. Bununla beraber mandibulanın anterior ve posterior hareketlerine izin verir(16).

Sinoviyal intima ve subintimal doku olmak üzere iki tabakadan meydana gelmektedir. Sinoviyal intima eklem boşluğuna bakan iç tabaka olup bu tabaka hücreleri arasında sıkı bir bağ olması fonksiyon sırasında sinoviyal sıvının eklem dışına çıkışını engellerken, karşı yüzeylerle herhangi bir çapraz bağ oluşturmamaktadır. Subintimal doku ise sinoviyal intima tabakasına destek sağlamaktadır.(16,17).

Sinoviyal intima hücreleri iki tip olup, tip A ve tip B olarak adlandırılan bu hücrelerden tip A’ lar genelde makrofaj, tip B’ ler ise fibroblast benzeri hücreler olarak nitelendirilir. Bu tabakada bulunan bol miktardaki fibronektin, hücre

adezyonunda görev almaktadır ve hyalüronik asiti (HA) çeken bağlar bulundurur (18). Sinoviyal membranda bulunan sinir sonlanmalarının yalnızca arteriollerin adventitia tabakasında olduğu düşünülmektedir(17).

Eklem içinde mekanik stres dağılımlarına göre farklılık gösteren sinoviyal membran eklem boşluğunu çevre dokulardan ayırır. Çözünmüş hidrofilik moleküller gibi küçük yapıların geçişini sınırlayan sinoviyal doku ve protein gibi büyük moleküllerin geçişini kontrol eden endotel tabaka ile beraber moleküler geçişte ikili engel oluşturmaktadır (18,19,20).

Sinoviyal membranın, normal eklem fizyolojisindeki fonksiyonları:

- 1) Fonksiyonel hareketler sırasında, deformiteyi önlemek amacıyla, sürtünmeyi azaltmak
- 2) İntimal hücrelerin salgılayıcı özelliğiyle, sinoviyal sıvı komponentlerinin üretimi
- 3) Tip A hücrelerinin oluşturduğu artık maddelerin, fagositik etkiyle uzaklaştırılması
- 4) Kondrositler için gerekli besin ve elektrolit sağlanması
- 5) Eklem yüzeylerinin yapışmasının önlenmesi (16).

Sinoviyal membranın lubrikantı olarak bilinen HA, sinoviyal sıvıyla oluşabilecek çapraz bağlantıları önlemektedir. Bu bağların önlenmesi, fibronektinin, HA' ya bağlanma afinitesinden kaynaklanmaktadır. HA ve fibronektin arasındaki afinite gereği oluşan bu bağlanmanın, yüzeylerin non-adezyonuna etki ettiği düşünülmektedir (16). Sinoviyal membran ve eklem yüzeylerinin non-adezyonunu açıklayan bir diğer teoride sürekli fonksiyon sırasındaki eklem hareketleriyle, çapraz bağ oluşumunun önlenmesine dayandırılmaktadır.

TME' de çapraz adezyon varlığı, internal düzensizlik ve osteoartrit rahatsızlığı olan hastalarda, artroskopik incelemeler sonrasında kanıtlanmıştır. Bu hastalarda, TME' deki fibröz adezyon varlığı, öncelikle ağrı ve buna bağlı fonksiyon kaybına

neden olabilmektedir (21). Ağrı nedeniyle eklem hareketlerinin sınırlanması, yüzeyler arasında adezyona neden olabilir. Sağlıklı bireylerde normal TME hareketleri nedeniyle adezyon gözlenmezken, ağrılı vakalarda hareket kısıtlanması ve ağrıya neden olan patolojiler, kombine şekilde adezyon nedeni olarak değerlendirilmektedir (16).

Adezyon oluşumunun önlenmesini açıklayan bir diğer teori ise, sinoviyal Tip A hücrelerinin selüler ve ekstraselüler artıklarının, sinoviyal membranın fagositik etkisiyle eklem boşluğundan uzaklaştırılma ilkesine dayanmaktadır. Bu teoriye göre çapraz bağlar ile oluşan adezyonun, sinoviyal intima hücrelerinin fagositik özelliğiyle ortadan kaldırıldığı düşünülmektedir (22).

Yaş ve patolojiyle beraber eklem boşluğunda yağ damlacıkları görülmesine rağmen, normal TME' de yağ yastığı ya da yağ damlacığı oluşumu görülmemektedir.

Sinoviyal membrandaki kapiller miktarı mebran tipine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Subintimal dokulardaki genişlemiş kapillerler nedeniyle areoler sinoviyal membran damarlanması zengin olarak nitelenmektedir. Fibröz tipte damarlanmanın çok daha az olduğu bilinmekle birlikte, kapiller artış ya da azalmanın yaşa bağlı olduğu da düşünülmektedir.

Sinoviyal membranın yüzeyi genellikle girintili çıkıntılıdır. Bu çıkıntıların sayısı ve boyutları yaş ile artış gösterir. Subintimal dokular, kan damarları ve lenfatiklerden zengindir. İçeriklerinde fibroblastlar, makrofajlar ve mast hücreleri bulunmaktadır (16).

TME' deki adezyonun oluşumunda, çeşitli teoriler göz önüne alındığında, OA ve İD varlığı sonucu ağrı oluşumu, eklem kompartmanındaki oluşumların birbiriyle etkileşimi ve fonksiyon kaybının rol alabileceği düşünülmektedir.

Sinoviyal sıvı ise yüksek oranda HA içerir ve süzölmüş plazma olarak kabul edilir. Eklem yüzeylerinin yağlanması, hareket kolaylığı ve metabolizma artıklarının fagositozundan sorumludur (1).

Sağlıklı bireylere yaklaşık 2 ml olan sinoviyal sıvı, kan plazmasının dialisatı ve ultrafiltresidir (1,23). Plazmaya oranla daha düşük (%40-70) protein ve daha yüksek HA konsantrasyonuna sahip olan bu sıvı, alt ve üst eklem boşluklarını doldurmaktadır (16). TME rahatsızlıklarına bağı olarak enflame olan sinoviyal sıvı kapiller geçirgenliğindeki artış daha fazla plazma proteininin kapsöl içine geçişini kolaylaştırır (23).

Sinoviyum, sinoviyal hücre proliferasyonu, hücre infiltrasyonu, iltihap, hipertrofi, arteriol dilatasyonu gibi değışikliklere neden olarak intersitisyel duvar direncini arttırır. Bu değışiklikler, kapiller geçirgenliğini arttırarak büyük moleköller olan proteinlerin infiltrasyonunu arttırırken, çözünmüş haldeki küçük moleköllerin yoğunluğunu azaltmaktadır (23).

2.5 Sinoviyal Sıvı

Sinoviyal sıvı, eklemdede biyolojik yağlama işleviyle beraber besin ve düzenleyici stokinlerin geçiş yaptığı biyolojik bir havuz görevindedir (24). Sinoviyal sıvı hücreleri eklemdede fonksiyon sırasındaki sürtünmeyi azaltmaktadır. Proteoglikan, HA, yüzey aktif fosfolipidlerinin kombinasyon halinde lubrikasyonda anahtar rol aldıkları düşünölmektedir (25,26,27). Bu moleköller sinoviyal sıvı hücreleri olan sinoviyositler tarafından salgılanmaktadır (28). Proteoglikan salınımında etkili olan diğer hücreler ise artiköler kartilajın üst sınırında bulunan kondrositlerdir (25). Biyokimyasal bir depo görevi gören sinoviyal sıvı, sinoviyal membrandan geçiş sağlanan bir plazma ultrafiltresidir. Sinoviyum içerisinde kapillerlerden filtre olan makrofaj ve fibroblast benzeri hücreler de bulunmaktadır (29). Sinoviyum içerisindeki hücreler, devamlılığı olmayan tabakalar halinde sıralanırlar ve bu hücreler arasında birkaç mikronluk boşluklar bulunmaktadır (30).

Bu boşluklar içinde bulunan ekstrasellüler matriks ise tip I ve tip III kollajen, hyaluran, kromatin sülfat, biglikan, proteoglikan ve fibronektin içermektedir (31). Sinoviyal matriks, moleküler geçişe izin veren bir yapıda olmasına rağmen sinoviyal sıvının büyük moleküllerinin dışarı çıkmasını önleyecek yeterli direnci de oluşturmaktadır (32).

Eklem mekaniği ile sinoviyal sıvı birlikte hemostazda olduğu gibi sürtünmeyi azaltan kompleks bir sistem oluşturmaktadır. Ancak artrit, travma ve doku yaralanmaları, artiküler yüzeyler arasındaki sürtünme ve erozyonu arttırmaktadır (33). Bu artan sürtünme sinoviyal sıvı bileşiminin değişimiyle ilişkilendirilmektedir. Özellikle akut yaralanmalar sonrasında konsantrasyonu azalan proteoglikanların sürtünmenin artmasında rol aldığı düşünülmektedir (34). Artrosentez tedavisi sonrasında proteoglikan konsantrasyonundaki artış bu düşüncüyü destekler niteliktedir (25). HA ve fosfolipid konsantrasyonu ve molekül ağırlıklarındaki azalmaların da eklem yüzeylerindeki sürtünmenin artmasında önemli faktörler olmaktadır (27,35,36). Sinoviyal sıvının eklem yüzeylerinin yağlanmasıdaki etkilerini nasıl bir mekanizmayla yitirdikleri ise tam olarak bilinmemektedir (24).

2.6. Artiküler Kartilaj Yapısı

TME' de artiküler kartilaj diğer sinoviyal eklemlerden farklı olarak fibrokartilaj yapıdadır. Ana içerik olarak ekstrasellüler matriks, çözülmüş elektrolitler ve sudan oluşmaktadır (37). Fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynayan su molekülleri doku ağırlığının yaklaşık %85' ini oluşturmaktadır. Yaklaşık olarak %75' i kollajenden oluşan ekstrasellüler matrikste %25 oranında prostoglandin (PG) molekülü bulunmaktadır. PG' ler fibröz kollajen fibrilleri ağ şeklinde birbirine bağlarken, kondrositler ise glikoprotein, enzimler, PG ve fibrillerin yapımından sorumlu aktif hücrelerdir. Glikoprotein esaslı PG, glikozaminoglikan (GAG) zinciriyle HA moleküllerine bağlanmaktadır (38,39). Hacim olarak gösterdiği genişleme hidrofilik özelliğinden kaynaklanmakta ve bu özelliği sayesinde ekleme gelen kuvvetlerin tolere edilebilmesi sağlanmaktadır (40).

Artiküler kartilaj dıştan içe doğru, hipertrofik, matür, proliferatif ve fibröz tabakalardan oluşmaktadır. Tabakalar, ekleme gelen yük absorpsiyonu, ekstraselüler matriks organizasyonu ve kartilajın biyomekanik özelliklerinin tanımlanmasında görev alırlar (38,41). Kollajen ve PG moleküllerin organizasyonu ile ekleme gelen yükler ve dengesiz kuvvetler, eşit şekilde kartilaj üzerinde dağıtılmaktadır (42). Kollajen liflerin belli doğrultulardaki organizasyonu sayesinde hareket esnasındaki kayma ve makaslama kuvvetlerine direnç sağlanmaktadır (38,41). Artiküler kartilajda tip I ve tip II kollajen varlığı diğer eklemlerden farklılık gösterirken, bu yapının kuvvet absorpsiyonuna etkili olduğu düşünülmektedir (42,43). Tip I ve tip III kollajenin bulunduğu proliferatif ve fibröz tabakalar ile tip II ve tip X kollajenin yoğun olduğu matür ve hipertrofik tabakalara gelen kuvvetlerin PG ve kollajen üretiminde tetikleyici olduğu düşünülmektedir (44,45). Kartilaj üzerine gelen gerilme kuvvetlerini kollajen moleküllerinin, sıkışma kuvvetlerini ise PG'lerin absorbe ettiği görüşü hakimdir (45).

2.7.Sinoviyal Sıvıdaki Proenflamatuar Sitokinler

TME rahatsızlıkları, toplum içinde karşılaşılan ve kişinin hayat standartlarını olumsuz etkileyen yaygın rahatsızlıklardır. TME' nin ID' si mandibular kondil, artiküler fossa ve artiküler diski de kapsayan, anormal eklem ilişkileri olarak tanımlanmaktadır (46). Ağrı, eklem sesleri ve bazen de ağız hareketlerinde kısıtlanma olarak kendini göstermektedir (47).

ID görülen bir çok hastada, sinovitis ve kartilaj yüzeyinde görülen dejeneratif değişiklikler, bu hastalığın karakteristik bulguları arasındadır. Ayrıca sitokinlerin, sitokin reseptörlerinin ve sitokin reseptör antogonistlerinin de sinoviyal doku ve sıvıda var oldukları bilinmektedir (48,49).

TME' nin normal sinoviyal sıvısında bulunmayan proenflamatuar sitokinlerin, ID patolojisinde rol aldığı düşünülmektedir (50,51). Sitokinler doğumsal ve sonradan kazanılmış immün sistem hücreleri tarafından salınır ve bu sistemi düzenlerler.

Lenfositlerin ürettiği “lenfokinler”, monositlerin ürettiği “monokinler”, kemotaksiste görev alan “kemokinler”, lökositlerin ürettiği “interlökinler (IL)” başta olmak üzere sitokiler, mikroorganizmalar ve antijenlere karşı immün sistemin yanıtı olarak üretilirler (52). Hematopoez, immün sistem düzenlenmesi, kemik formasyonlarının kontrolü, hücre metabolik olayların düzenlenmesi, hücre bölünmesi gibi biyolojik olaylarda rol alırlar (53). Toksinler, immün kompleksler, bakteriyel ürünler, enflamatuar olaylarla sekresyonları uyarılır (54).

Hızlı immün yanıtın oluşması ve patojenitenin eliminasyonu, enflamatuar değişikliklerin ortaya çıkmasında önemli roller aldığı düşünülen IL-1, IL-6, IL-8, IL-11 ve tümör nekrotizan faktör alfa (TNF- α) proenflamatuar sitokinler olarak tanımlanmıştır (55). Tümör, travma, otoimmün ve enfeksiyöz rahatsızlıklar sonucu meydana gelen doku hasarları sonucunda uyarılan makrofajlar bu proenflamatuar sitokinlerin salınımını tetiklemektedir (56). Ayrıca proenflamatuar sitokinlerin, sinovitis ve OA gibi dejeneratif kemik ve kartilaj değişikliklerine neden olan TME rahatsızlıklarında önemli görevler üstlendikleri bildirilmektedir (50,57,58,59). Özellikle osteoblastik ve osteoklastik aktivitelerin kemik formasyonlarının düzenlenmesinde önemli değişikliklere neden oldukları bilinmektedir. IL-1, TNF- α ve IL-6'nın osteoklastik aktivite ve dolayısıyla kemik rezorpsiyonunda, diğer proenflamatuar sitokinlerin ise kemik formasyonunun stimülasyonunda etkin rol aldıkları görüşü kabul edilmektedir (60).

IL-1 ve bu aileden olan diğer proenflamatuar sitokinlerin, enflamasyon ve otoimmün hastalıklarda gen ekspresyonuyla ilişkilendirilebileceği ileri sürülmektedir (61). IL-1 β 'nin TME rahatsızlıklarının patogeneğinde önemli bir sitokin olduğu belirtilmiştir (62). Bununla beraber sinoviyal sıvıda bulunan IL-6'nın da TME ID'sinde görev alan başka bir proenflamatuar sitokin olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir (38,50,63). IL-8 ise sinoviyal sıvıya nötrofil infiltrasyonu ve sonrasında artan eklem enflamasyonundan sorumlu kemokin olarak bilinmektedir (64). ID'si olan hastalardan alınan sinoviyal doku örneklerinin %80'inde IL-8 kemokinine rastlanmıştır (65). Benzer bir şekilde IL-11' de OA

patogenezinde rol almaktadır. OA rahatsızlığı olan TME ve diğer eklemlerden alınan sinoviyal sıvı örneklerinde yüksek oranlarda IL-11 proenflamatuar sitokinine rastlanmıştır (51,66,67). Proenflamatuar sitokin varlığı, osteoartritik değişiklikler ve sinoviyal sıvıdaki artmış TNF- α ile ilişkilendirilmektedir (58). IL-1 β ve TNF- α 'nın PG ayrışmasına ve bu ayrışma sonucunda kartilaj destrüksiyonunda görev aldığı gösterilmektedir (68,69,70,71). Kopp ve ark. , TNF- α uyarımıyla salınan IL-8' in, T-lenfositleri aktif hale getirdiği, bu mekanizmanın tetiklemesiyle beraber IL-6 sentezinin gerçekleştiği ve sonuç olarak sinoviyal sıvı infiltrasyonu sağlanan makrofaj ve lenfositlerin TME ID' sinde patojeniteye neden olduğunu bildirmektedir (72).

2.8. Sinovitis

Süperior veya posterior eklem bölgesinde, eklemede meydana gelen kuvvetlerle beraber oluşan ağrı ve fonksiyon sınırlaması ile karakterize görülen rahatsızlık, sinoviyal membranın enflamatuar rahatsızlığı olarak da tanımlanabilen sinovitistir. Posterior dişlerde maloklüzyona neden olabilen rahatsızlıkta fluktuasyon ile beraber görülebilen ödem sözkonusudur. Prostaglandin (Pg) ve ve kollejenaz değerlerinde artış görülür. Major lizozomal enzimleri Katepsin B ve D olarak belirtilmiştir. Sinovitiste HA içeriğinde total bir artış görülmesine rağmen eklem sıvısının artmasıyla birlikte HA konsantrasyonunda azalma gerçekleşmektedir. Osteoartritte ise Katepsin D ve asit fosfotaz gibi lizozomal enzimlerin, kartilaj yıkımından sorumlu oldukları bilinmektedir. Sinovitisteki eklem içi değişiklikler, radyolojik muayeneler ile tespit edilememektedir (73).

2.9 TME' nin İnternal Düzensizliği

İnternal düzensizlik (ID) terimi, TME rahatsızlıklarında en sıklıkla karşılaşılan problemlerdendir (74,75,76). Bu terim, eklem normal anatomik ilişkideki intraartiküler disk ve kondil arasındaki yumuşak hareketlerinin bozulduğu durumlarda kullanılır. Diskin yer değiştirmesi durumunda kondil olağan

hareketlerini yerine getiremez ve bunun sonucu disfonksiyonlar meydana gelir (77). Internal düzensizliğin iki yaygın tipi bulunmaktadır. Daha sıklıkla görülen tipi diskin anteriora konumlanmasına rağmen eklem hareketlerinde diskin kondili yakalayabildiği redüksiyonlu disk deplasmanıdır (RluADD). Normal fonksiyonel sınırlarının dışında konumlanmış olan disk, ağız açma ve kapama hareketleri sırasında “Klik” sesi çıkarmaktadır. Redüksiyonsuz anterior disk deplasmanında (RsuzADD) ise disk daimi olarak yer değiştirmiştir. Fonksiyon sırasında kondil diski yakalayamadığı için ağız açıklığı sınırlı durumdadır (78,79). Bu tipte, direk ya da indirek olarak gelen aşırı mekanik stresler nedeniyle diskte doformitelerin, şekil değişikliklerinin, hatta yırtılmaların görülebileceği belirtilmektedir (80,81). Kısaca İD terimi, Rlu ya da Rsuz ADD, artiküler disk ve bununla birlikte görülebilen retrodiskal doku perforasyonları, disk ve artiküler yüzeylerdeki çeşitli dejeneratif değişiklikleri kapsamaktadır (82,83).

Farklı eklem yüzeyleri arasındaki anormal kontak ile karakterize olan artiküler disk deplasmanı, normal kayma hareketini engelleyen lokalize mekanik bir durumdur (11). Başlangıçta enflamasyonun izlenmediği yapısal bozukluklar ilerledikçe, ağrı ve fonksiyon kaybına da neden olan eflamatuar bir tabloyla karşılaşılır. Çene hareketleriyle artan bu ağrı, koruyucu fizyolojik refleks mekanizması olarak tanımlanır. Ağrıyla birlikte, eklem çevresi komşu yumuşak doku ve çiğneme kaslarında spazmlar meydana gelir. Kaslar ve yumuşak dokulardaki bu kontraksiyon sonucu fonksiyon kaybıyla beraber, eklemden daha fazla hasarın oluşması engellenmektedir (84).

Anteriorda konumlanan disk, mekanik bir engel oluşturarak kondilin kayma hareketini önler ve ağız açıklığında azalmaya neden olur. Klinik olarak ağız açıklığının sınırlanması, anlamına gelen bu durum “Kapalı Kilitlenme” (KK) olarak da tanımlanır. Klinik olarak akut veya kronik seyirde görülebilir. Akut KK, semptomların 4 haftadan kısa sürelerde izlenmesi olarak belirtilmektedir (85). KK'nın, kondilin kayma hareketini engellemesinin, redüksiyonsuz deforme disk nedeni olduğu düşünülmektedir (86). Translasyon hareketindeki bu kısıtlılık, klik sesiyle

beraber görülür ve protrusiv harekette kısıtlılıkla beraber çenenin etkilenen tarafa doğru deviasyonuyla karakterizedir (87).

Kapsül fibrozisi ve disk deplasmanının eklem dejenerasyonuna yol açan primer etkenler olduğu ileri sürülmüştür (11,88). Aşırı fonksiyonel yükleme ve travma sonucu oluşan disk deplasmanının, eklemden sekonder dejeneratif kemik değişikliklerine neden olduğu da belirtilmektedir (88,89,90).

ID' nin etyolojisinde, yaş, sistemik hastalıklar ve buna bağlı hormonal değişiklikler, mikro ve makro travma gibi mekanik faktörler, parafonksiyonlar, aşırı fonksiyonel yüklemeler sonucu eklem yüzeylerindeki sürtünmenin artması gibi bir çok faktör göz önünde bulundurulmalıdır.

Tüm bu etyolojik faktörlerin aşırı fonksiyonel yüklemeye neden olduğu ve buna bağlı eklem içi dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği bilinmektedir (90,91). Artmış yükleme remodelingi stimüle eder ve ekstrasellüler matriks sentezi artar. Remodeling fonksiyon esnasında oklüzal ilişkilerde hemostazı sağlarken, aynı zamanda eklem formunun da şekillenmesini sağlayan çok önemli biyolojik bir cevaptır (84,90).

Aşırı fonksiyonel yükleme, serbest radikallerin salınımına neden olmaktadır. Açığa çıkan bu serbest radikaller ise hyalüronan degregasyonu ve bunun sonucu olarak eklemden sinoviyal sıvının lubrikasyon özelliğinde bozulmalara neden olmaktadır (92,93). Aynı zamanda eklem içi basınç artarak kapiller permeabilitesini düşürür. Sonuç olarak geçici hipoksi meydana gelmektedir. Aşırı fonksiyonel yükleme ortadan kalktığında oksijenizasyon tekrar sağlanmakta ve oksidatif radikallerin açığı çıkması bu hipoksi-reperfüzyon siklusu sırasında non-enzimatik olarak meydana gelmektedir. Bu siklus esnasında sinoviyal sıvı viskozitesinde azalma ve buna bağlı olarak HA biyosentez-degradasyon inhibisyonunun oluşan reaktif oksidatif radikallerin etkisi olduğu belirtilmektedir (94).

Bu reaksiyonlar sonucu eklem yüzeyleri arasında sürtünme katsayısının arttığı ve disk artiküler kartilaj arasında makaslama geriliminin oldukça arttığı gözlenmiştir. Sonuç olarak eklem dokularında aşırı yorgunluğa bağlı hasarlar oluşmakta, bunların sonucunda geridönüşü olmayan deformateler meydana gelerek İD tablosu OA' ya doğru ilerlemektedir (95). HA' nın tip B sinoviyal hücreleri tarafından anormal biyosentezi ile hyaluronan yıkımı meydana gelmekte, bu da kartilaj yıkımını tetiklemektedir (84).

Hücrel ve moleküler biyoloji tekniklerindeki ilerlemeler disk dejenerasyon mekanizmaları ve patogenezi anlamamızda yol gösterici olmaktadır. Artiküler disk yapısının anlaşılmasıyla beraber, yeni çalışmalar genelde kollojen yıkımı ve sitokin ekspresyonu ile ilgilidir (56,76). Bu çalışmalar, dejeneratif eklem değişiklikleri, matriks doku sentezi ve dejenerasyonları arasında, apoptoz nedeniyle meydana gelen dengesizlikler sonucu oluştuğunu göstermektedir.

Diğer eklemlerde non-fizyolojik mekanik yüklemeler apoptotik bir süreç sonucunda ekstraselüler matriks yapım, onarım ve üretimini azaltarak disk dejenerasyonunu düşürmektedir. Apoptoz, memeli gelişiminde embriyogenezis de dahil olmak üzere normal doku gelişimi ve homeostazisini sağlayan fizyolojik bir süreçtir. FasL, tümör nekroz faktör (TNF) α ve ligant indükleyen-apoptoz ilişkili-TNF (TRAIL) gibi apoptozun metabolik sürecini tetikleyen sinyaller eklem içindeki yıkım olayları sırasında açığa çıkmaktadır (76). Ekleme gelen aşırı yükler sonucu sinoviyal sıvı ve HA' da meydana gelen değişikliklerde apoptozin rolü olduğu bilinmektedir.

2.10. Osteoartrit

Osteoartrit (OA), artiküler yapıların dejenerasyonu ile karakterize idiyopatik bir rahatsızlıktır (96). Patogenezi eklem yüzeylerine gelen anormal streslerin etkisiyle, immunolojik reaksiyonların aktivasyonu, buna bağlı olarak gelişen, biyomekanik, biyokimyasal ve enflamatuar değişiklikler sonucu kartilajda

başlayarak subkondral kemik ve tüm eklem yapılarını da içine alan dejeneratif patolojik bir durumdur (90,97,98). Kartilajdaki bu yıkım, fibrilasyon, eklem yüzeylerinin kalınlığında kayıplar, geniş ülserasyon alanları ve fissür oluşumlarına öncülük etmektedir (96).

OA' da eklem içerisinde oluşan yapısal değişiklikler genelde aynı oranlarda klinik belirti vermeyebilir. Bu nedenle OA' nın toplum genelindeki insidansının tam olarak belirlenememesiyle beraber, yaşla birlikte görülme sıklığının arttığı bilinmektedir (99). OA insidansı üzerinde, mikroskobik ve makroskobik olarak yapılan çalışmalarda toplumda OA görülme sıklığının %22 ila %84 oranında olduğu belirtilmiştir (88, 100). Asemptomatik bireylerde bu oranın %90' a kadar çıkabileceği belirtilmektedir (101). Bunun nedeni olarak, yaşla beraber miktarı ve konsantrasyonu azalan HA ve PG' nin eklem içi koruyucu etkisiyle birlikte kayganlaştırıcı özelliklerinin de azalması, disk içerisindeki kalsiyum miktarının artması gibi etkenler sonucunda, eklem içi yapısal düzensizliklerin artması gösterilmektedir (95, 102). Ancak genç bireylerde görülen OA' nın, eklem patolojisindeki belirtilerin göstergesi olduğu düşünülmektedir (103). Güler ve ark. (2004) çalışmalarında, 13 ve 63 yaşları arasında, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile değerlendirdikleri 133 hastanın 266 TME' sinde OA görülme olasılığının 10 ve 30' lu yaşlarda maksimum seviyede olduğunu bildirmiştir (104). Kadınlarda OA görülme oranın erkelerden 3 ila 8 kat daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (104, 105). Oranlar arasında ki bu farkın, östrojen hormonunun etkisiyle, eklem mobilitesinin artması ve bununla beraber östrojen hormonunun yapısal özellikleri nedeniyle serbest radikaller ve katabolik enzimlerin daha kolay serbestlenmesi olduğu düşünülmektedir (106).

OA' nın genelde ID tablosu sonrasında veya beraber görüldüğü, aşırı fonksiyonel yüklemeye yer değiştiren artiküler diskin kayma hareketlerini engellemesi sonucu eklemde dejenerasyonların gerçekleştiği görüşü hakimdir (107,108,109,110). Kollojen, HA ve PG gibi kartilaj için hayati önem taşıyan yapısal proteinlerin konsantrasyonunda ki azalmalar, kronik travma gibi sürekli uyaranlar

etkisiyle eklemde aşırı stres yüklenmelerine neden olmaktadır (11, 90). Bu tablonun sonucu olarak başlangıçta hipoksi tablosu, buna bağlı olarak serbest radikallerin oluşumu ve nörolojik emflamasyonlar görülmesi sonucunda matriks yıkımında görev alan enzimlerin salınımı gerçekleşmektedir (106, 111).

Ekleme gelen aşırı stres yükleri nedeniyle fizyolojik adaptasyon sınırının aşılması ve bozulan yapım-yıkım dengesi sonucunda ekstrasellüler matriks yıkımı artmaktadır (112). Bu yapısal değişimler sırasında serbest radikallerin salınımı artmakta, buna bağlı olarak moleküler değişiklikler meydana gelmektedir. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) salınımı ile nörolojik ve enflamatuar yanıtlar oluşmakta, sonuç olarak artiküler kartilaj için hayati önem taşıyan glukozamino glikan (GAG), prostoglandin (PG) ve kollojen inhibisyonu gerçekleşmektedir (11,90,97,113). Eklem içerisinde VEGF salınımındaki artışın, matriks yapım-yıkımından sorumlu olan matriks malloproteinazın (MMP) salınımının artışına ve matriks malloproteinaz doku inhibitörü-1' in (TIMP-1) azalmasına neden olarak matriks yıkımının ve buna bağlı olarak kollojen dejenerasyonunun gerçekleşeceğini belirten çalışmalar mevcuttur (114,115).

OA gelişiminin bir diğer nedeni olarak sayılan serbest radikallerin salınımı ise bu moleküllere aşırı duyarlı olan HA ve fibronektin gibi yapısal moleküllerin yıkımına neden olmaktadır (116). Serbest radikallerin salınımı ile sinir liflerinden zengin retrodiskal doku hücrelerinin uyarılması sonucu, nörolojik enflamasyona neden olabilecek nitrik oksit ve nöropeptid gibi moleküllerin salınımının gerçekleştiği bildirilmiştir (111,117). Sinoviyal sıvının önemli komponentlerinden olan HA' nın, eklem içerisindeki enflamasyon sonrasında viskozitesinin azaldığı ve eklem içi stres absorpsiyon özelliğini giderek yitirdiği belirtilmektedir (118). Eklem içi lubrikasyonda önemli rolü olan HA serbest radikallerin salınımı ile hassasiyet göstererek yıkılmakta ve sonuç olarak eklem yüzeyleri arasındaki kayganlaştırıcı özelliğini gösterememektedir. Bu nedenle eklem yüzeyleri arasında sürtünme katsayısı artmakta, ağız hareketleriyle oluşan kuvvetler sonrasında da artiküler disk konumunda değişimler gerçekleşmektedir (119,120). İnsan üzerinde yapılan çalışma

sayısının azlığına rağmen yapılan hayvan çalışmaları, OA sırasında HA' da meydana gelen metabolik ve biyomekanik değişimleri gösterilmiştir (119,120).

OA sinoviyum içerisinde hücre sayısında artışla beraber, hücrelerde hipertrofi ve hiperplazi meydana gelmektedir. Bu gelişmeler genelde mononükleer hücrelerin (lenfosit ve makrofajlar) ortama infiltrasyonu ile beraber görülmektedir. mononükleer hücre infiltrasyonu ile sinoviyal hücre tabakasının kalınlaşması arasında bir ilişki varlığı görülmektedir (121). OA'lı hastalarda, hastalığın her aşamasında sinoviyal hücre tabakasının kalınlaştığı, enflamatuvar hücre infiltrasyonu ve vaskülarizasyonda artış en çok dikkat çeken değişikliklerdir (122). Sinoviyum değişiklikleri üzerine yapılan çalışmalarda, sinoviyal dokudaki fibrin depolarının miktarı ve lökosit infiltrasyonunun derecesi, hastalığın şiddetiyle ilişkilendirilmiştir. Fibrin dopoları genelde kronik OA da gözlenirken, sinoviyal infiltrasyon, hastalığın başlangıcından en şiddetli döneme kadar her evrede görülebilmektedir (123).

OA' da ki sinoviyal enflamasyon ayrıntılı bir süreç değildir; kondropati alanlarına komşu bölgelerle sınırlanmış ve dağınık bir düzene sahiptir (124). OA' nın geç safhalarında neovaskülarizasyon, fibroblast ve makrofaj infiltrasyonları görülmektedir (125). Radyolojik olarak daha şiddetli gözlenebilen ikinci safhada kalsiyum fosfat dihidrat (CDDP) çökmesi sözkonusudur. CDDP kristallerinin kuvvetli proenflamatuvar oldukları bilinmektedir. Buna rağmen CDDP kristallerinin oluşumuyla sinovitis, histolojik olarak ilişkilendirilememiştir (126,127,128). Sinoviyumdaki patolojik değişiklikler, etkilenen eklem bölgesine göre çeşitlilik göstermektedir. Örneğin diz eklemi üzerinde yapılan çalışmalarda fibrozis; yüksek sayıda enflamatuvar hücrelerin görüldüğü, vaskülarizasyonun, pigmentasyonun ve sinoviyal hiperplazinin arttığı patellofemoral kompartmanda, medial tibiofemoral kompartmana göre daha sıklıkla gözlenmektedir (129).

Sinoviyumdaki bu patolojik değişiklikler ilerlemiş OA da belirgin özellikler olmasına rağmen, kartilaj hasarının çok daha az olduğu erken safhalarda da görülebilmektedir. Bu durum sinoviyumun hastalık tablosuna çok erken dönemlerden itibaren eklendiğinin göstergesidir. Her şeye rağmen, OA' lı sinoviyal

membrandaki bu değişikliklerin hastalığın başlangıç evrelerinde mi yoksa eklem eflamasyonu, kartilaj zedelenmesi ve subkondral kemikteki lezyonların meydana geldiği sürecin sonucu olarak mı görüldüğü tam olarak açıklık kazanmamıştır (130). OA' lı hastalarda sinovitis sadece dejeneratif kartilaj alanlarına komşu bölgelerde gözlemlenmiştir. Ancak buna rağmen dejeneratif kartilaj her zaman sinovitisle beraber görülmeyebilmektedir (124). Bu bulgu, enflamasyonun kartilaj yıkımında oluşan ürünler nedeniyle oluştuğu fikrini desteklemektedir (125). İlerlemiş OA' da sinoviyal enflamasyon özellikle marjinal alanda çok şiddetli gözlenmektedir (Shibakava ve ark. göre eklem kenarının 5 mm çevresinde gözlenebilmektedir) (129). Bu bölgedeki sinoviyal dokulardan alınan bazı hücrelerin, mezenkimal hücreler, kondrositler ve MMP' lerle benzer özellikler taşıdığı görülmüştür (131).

2.11. Enflamatuvar Hücre Çoğalması

Sinoviyal infiltrasyonun en büyük unsurları aktive edilmiş T hücreleri, B hücreleri ve makrofajlardır (102). Benito ve ark. , OA' nın erken safhalarında sinoviyal dokudaki CD4⁺ lenfositler, CD68⁺ makrofajlar, artmış kan damarı formasyonları, hücreler arası bağlayıcı molekül-1 ve endotelyal büyüme faktörünün OA' nın ilerlemiş safhalarına göre önemli derecede yüksek konsantrasyonda olduğunu göstermişlerdir. OA' nın erken safhalarında görülen enflamasyonun daha yoğun olduğunu, anjiyogenezin sinoviyumun enflame alanlarında gerçekteştiğini ve vasküler ve sinoviyal hücreler arasında ilişki olduğu fikrini doğrulamaktadır.

Sinoviyuma infiltre olan T hücreleri genelde CD4⁺ olmasına rağmen CD8⁺ T hücreleri ve B hücreleri de eşlik etmektedir (132). CD4⁺ T hücreleri üzerindeki CD3 ekspresyonundaki azalma, onların aktive olduğunu göstermekle birlikte, lokal kronik T-hücre stimülasyonunun da OA' ya dahil olduğunu göstermektedir (133). T hücre organizasyonu ile birlikte, özellikle perivasküler alanda anjiyogenik aktivitenin başladığı düşünölmektedir (133). Antijenlere, lökositlere ve endotelyel bağlayıcı moleküllere maruz kalan sinoviyal membrandaki T hücrelerinin, Ramatoid artritteki (RA) kadar olmasa da aktive olduğu görölmektedir (133). Aynı zamanda ortamda

bulunan sınırlı sayıda T hücre reseptörü (TCR) $V\alpha$ ve $V\beta$ da gözlenmiştir (102). Böylece OA' daki T hücre yanıtının kartilaj ve sinoviyumda otoantijen olabilecek genel antijenik hedeflere direk bir yanıt olduğu görülmektedir. OA' lı sinoviyal membranda klonlanarak çoğalmış olan T hücreleri, enflamasyon sürecinin başlama ve genişlemesinde rol oynamaktadır. Alsalameh ve ark. (1990), T hücrelerinin kondrosit membranları üzerinde reaksiyona girebilme özelliklerinin, kondrosit yıkımında açığa çıkan antijenler nedeniyle gerçekleştiğini göstermişlerdir (134). Bu sürecin en önemli iki otoantijeninin, YKL-39 olarak da bilinen ve insan kartilajından türeyen kitinaz-3 benzeri protein 2 ve kesin bilgilere dayanmamakla beraber tip II kollojen olduğu düşünülmektedir (133,135). OA' lı hastaların ayrıca proteoglikan bağlantılı proteinlere de immünite gösterdiği bilinmektedir (133). Genel olarak herpes virüsler üzerinde sitotoksik etkisi bulunan $CD8^+$ T hücrelerinin varlığı da kesin olmamakla beraber bazı OA rahatsızlıklarında sinoviyumda gözlenmiştir (133,136).

B hücreleri OA' lı sinoviyal membranda nadiren bulunmaktadır. Ancak az sayıda bulunan bu hücreler aktive olmuş durumdadır (134,136). Aktive haldeki bu B-hücreleri, OA' lı sinoviyal membranda lenfoid birikintileri olarak bulunan güçlü B-hücre kemoatraktanı CXC-kemokin ligant (CXCL) 13 tarafından çekilirler (137). OA kartilajında bulunan tip 2 kollojen gibi otoantijenlerin, lokal olarak sinoviyum infiltrasyonundaki B-hücreleri tarafından üretildiği düşünülmektedir (134,135).

OA' lı hastaların sinoviyal membranlarında patojen motiflerinin hatırlanmasına yarayan Toll-benzeri reseptör (TLR 2 ve TLR 4), OA patogenezinde doğuştan gelen immünite içermektedirler. TLR 2 ve TLR 4, OA kartilaj matriksinde genelde de bulunan fibronektin ve HA' yı tanıyarak, sinoviyal aktivasyon ve enflamasyona dahil olmaktadır (138). Doğuştan gelen immüniteyle ilgili RA da kapsamlı çalışmalar olmasına rağmen, doğuştan gelen immüntenin OA patogenezindeki rolünün yapılacak olan yeni çalışmalarla aydınlatılması gerekmektedir.

2.12. Sinoviyumun Anjiyogenezi

Normal sinoviyum, fizyolojik olarak avasküler olan kartilajı beslemek ve oksijenizasyonunu sağlamak amacıyla yüksek oranda vaskülarizasyon içermektedir. OA' da ise antianjiyogenik ve proanjiyogenik faktörler arasındaki dengesizliğe bağlı olarak, yeni damar formasyonları oluşturmak amacıyla endotel hücre proliferasyonunda artış gözlenmektedir (139). Anjiyogenez ve enflamasyon, hastalığın ilerleyişi ve ağrıyı etkilemesi açısından birbirleriyle yakın ilişkide olan süreçlerdir. Endotel hücre proliferasyonu, makrofaj infiltrasyonu OA' lı hastalarda, hastalığın kontrolü açısından birbirleriyle çok yakın ilişkiindedir (128). Enflamasyonun anjiyogenezi tetikleyebileceği gibi, anjiyogenez de enflamasyonu hızlandırabilmektedir. Sinoviyumdaki anjiyogenez, kronik sinovitisle görülebileceği gibi, OA' nın her evresinde meydana gelebilmektedir (140). Neovaskülarizasyonu tetikleyen, proanjiyogenik vasküler endotel büyüme faktörünün (VEGF) OA' lı sinoviyumda artış göstermesidir (140).

Anjiyogenez, enflamasyonu başlatmak yerine, onun potansiyelini arttırarak sürekliliğini sağlar ve akut enflamasyonun kronik hale geçmesine katkıda bulunabilir (128, 139). E-selektin gibi yeni damarlarda oluşan adezyon molekülleri, enflamatuar hücre infiltrasyonunu kolaylaştırır (139). Tüm bunlara ek olarak, enflamatuar hücrelerin çevresindeki yeni damarlanmalar, enflamasyonun devamı açısından gerekli olan besin ve oksijenin taşınmasına yardımcı olmaktadır. Sonuç olarak anjiyogenez, enflamatuar alana hücre infiltrasyonunu arttırarak bu süreçte katkıda bulunmaktadır (128).

2.13. Enflamatuar Mediatorler

OA' lı sinoviyal sıvıda saptanan enflamatuar mediatorler, temel olarak 3 ana dokunun histolojik olarak farklılaşmasıyla meydana gelmektedir. Bu dokular, kartilaj, subkondral kemik ve sinoviyumdur. OA patogenezi dahil olan iki major

sitokin, temel olarak aktive sinovitler, mononükleer hücreler ve artiküler kartilaj ürünleri olan IL-1 β ve tümör nekrotizan faktör (TNF)' dır. OA' da IL-1 β , doğal antogonsti olan IL-1 reseptör antogpnisti (IL-1Ra) ile uyumlu bir denge içindedir. Sinoviyum içerisinde normalin çok üst seviyelerinde, IL-6, IL-10, granülosit-makrofaj koloni-stümüle edici faktör (GM-CSF) ve kemokinler (CXCL8 olarak bilinen IL-8, CC-kemokin ligant 2 olarak isimlendirilen monosit kemotaktik protein-1), adezyon molekül-1 ve interselüler adezyon hücre molekül-1 bulunmaktadır (122,129,141). OA' nın erken safhalarında, erken safhalarında yüksek miktarda IL-1 β ve TNF içerirken, ilerlemiş safhalarda bu oranların oldukça düştüğü belirtilmiştir (142). Ayrıca OA' lı sinoviyumda yoğun oranda IL-1, IL-6,IL-8, IL-10, TNF endotelial büyüme faktörü (EGF), MMP-1'in doku inhibitörü (TIMP-1) ve prostoglandin E₂ (PGE₂) bulunmaktadır(141,142).

IL-1 β ve TNF otokrin davranışı içinde kendi ürünlerini oluşturabilirler çünkü sinoviyal fibroblastlar, yüksek konsantrasyonda IL-1 β reseptörü ve TNF resptörü TNF-R55 içermektedir (122,141). Bu sitokinler ayrıca diğer sitokinleri üretmek için (IL-6, IL-8 ve lökosit inhibitör faktörü) kondrositler ve sinoviyal hücreleri stimüle ederler. Tüm bu sitokinlerin üretim nedeni, sinoviyal sıvıya diffüze olmak, kartilaj matriksi ve kondrositler üzerinde etkinlik sağlayabilmek amacıyla üretilmektedir.

OA sinoviyumunda görülen bazı hücre çeşitleri sinoviyal enflamasyondan sorumlu olabilmektedir. Sinoviyal makrofajların tüketim etkisi üzerine yapılmış olan sınırlı sayıdaki çalışmada TNF ve IL-1 β ' nin genel olarak CD14⁺ sinoviyal makrofajları tarafından üretildiğini göstermiştir. IL-1 β ve TNF' nin tüketilmesinde öncülük eden bu makrofajlar, sırasıyla IL-6, kemokinler (IL-8, monosit kemotaktik protein-1) ve MMP-1 ve MMP-3' ün serbestlenmesini engelleyebilmektedir. Bu nedenle, makrofajların IL-1 β ve TNF üzerine kombine etkilerle sinoviyal fibroblastların yıkımı ve enflamasyonundan sorumlu tutulabilmektedir (143).

Bir diğer proenflamatuar sitokin, IL-17, tek başına TNF ile uyumlu olarak OA sinoviyal fibroblastlarının proanjyogenik faktörler üretmesini indükleyebilir (144).

IL-17 ayrıca IL-8 ve growth-regulated α protein (GRO- α) gibi mononükleer hücrelerin çekimine ve kondrosit farklılaşmasına etkisi olan kemokinlerin salınımını sağlayarak kartilaj enflamasyonuna katkıda bulunur (144). Buna rağmen IL-17 reseptörleri kondrositler üzerinde bariz bir şekilde teşhis edilmişken, bu sitokinler, bir çok OA vakasında lokal olarak gözlenememektedir (143).

Doğuştan gelen immün yanıtlarda üretilen diğer bir sitokin IL-15, OA' nın erken safhalarında sinoviyal sıvıda yüksek konsantrasyonlarda görülürken, son safhalarda aynı konsantrasyonda gözlenememektedir. Reseptörü olan IL-15Ra endotelyumun sinoviyal tabaka hücrelerinde görülmüştür. IL-15 MMP üretimi ve CD8⁺ T hücrelerinin iyileşmesi ve korunmasında görev alabilmektedir. IL-21 de IL-15 gibi erken safhalarda yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır (145).

OA' lı sinoviyum, ayrıca visfatin, adiponektin ve leptin gibi adipoz dokudan üretilen adipokinezler içermektedir. Ancak düşük konsantrasyona sahip olup enflamasyon ve kartilaj yıkımında görev aldıkları düşünülmektedir(142,143).

2.14. Sinovitisin OA İçindeki Patojenik Rolü

Düşük seviyedeki sinovitis, proenflamatuar sitokinler ve diğer çözünebilen mediatörler (nitrikoksit, PGE₂, lökotrien B₄) yoluyla artiküler kartilajın katabolizmasını hızlandırarak kondropatinin ilerleyişine katkıda bulunmaktadır (130). Sinoviyal hücreler ve OA kondrositleri yüksek oranda MMP (MMP-1, MMP-3, MMP-9, MMP-13) üretirler (129,131). Bu MMP' lerin içsel kaynaklı inhibitörü olan TIMP-1 de aynı zamanda sinoviyum tarafından üretilir. MMP-3 ağırlıklı olarak hiyalin kartilajda üretilir ve OA sinoviyal dokusunda gizli olarak bulunan bu MMP-3 direk olarak kartilaj yıkımında görev alır (131). MMP-3 ile yapılan, immünohistokimyasal boyamalarda direk sinoviyuma enflamatuar hücrelerin girişiyle ilişkilendirilmiştir (132). Sinoviyal makrofajların, deneysel çalışmalarda OA kartilajın yıkımının başlaması için kartilaj yıkımına öncülükte önemli oldukları gösterilmiştir. MMP aracılığıyla oluşan kartilaj hasarları, makrofaj aktivasyonu

olmadan gerçekleşemez (124). Sinoviyal makrofajlar ayrıca aktif MMP-9 aracılığıyla aktive edilem MMP-3 ve 13' ün pro-MMP-9' unu üretirler (146).

Sinoviyal makrofajlar OA patogenezinde ekstraenflamatuar fonksiyona sahiptirler. Diz eklemlerinde yapılan çalışmalarda, klodronat içeren lipozomların etkisiyle sayıları azaltılan sinoviyal makrofajların TGF- β uyarılmış osteofit formasyonunu engellediği görülmüştür. Sinoviyal osteofitlerin, TGF- β uyarılmış osteofitlerinin formasyonunda önemli araçlar olduğu düşünülmektedir. Bu etkilerini BMP-2 ve BMP-4 gibi kemik morfolojik proteinleri ve/veya mezenkimal kök hücreleri üzerine gönderdikleri sinyaller aracılığıyla yapmaktadırlar (138,141,143).

Sinoviyal makrofajların aktivasyonunu etkileyen mediatörler tam olarak tanımlanmamıştır. Eğer kartilajdan kaynak alıyorsa, sinoviyal makrofajların OA' nın patofizyolojisine ikincil bir süreçte dahil olduklarını düşünmek gerekmektedir. Bununla beraber makrofajlar, OA' nın erken safhalarında da sürece dahil olabilmektedir. Aynı zamanda aktive makrofajlar, sinoviyal T hücre immün yanıtından sorumlu MMP üretiminde sinoviyumu uyarmaktadır (122,128,130,133,140). Aktive edilmiş T hücreleri, interferon- γ ve IL-2' nin (T_H1 hücrelerinden sorumlu sitokinler), OA' lı kronik eklem lezyonuna sahip hastalarda var oluşu, T hücrelerinin kronik enflamasyona katkıda bulunduğu fikrini doğrulamaktadır. Bu T_H1 benzeri sitokin kalıbı, makrofajlar tarafından serbestlenen IL-12 tarafından yönlendirildiği düşünülmektedir (133).

Bu bilgiler mekanik stres ve doku yıkım enzimlerinin etkisiyle oluşan ekstraselüler matriksin yıkım ürünleri sinoviyal enflamasyona neden olduğunu göstermektedir. Sinovitis, OA' nın erken safhalarında başlayabilir. Kartilaj yıkımı başladığı anda, sinoviyal hücre fagositleri ve yıkım ürünleri sinoviyal sıvı içine serbestlenirler. Bunun sonucu sinoviyal membran hipertrofik ve hiperplastik bir hal almaya başlar. Bu enzimler sinoviyal hücreleri aktive ederek proenflamatuar sitokinlerin, kollojenazın ve diğer hidrolitik enzimlerin salınımına neden olur. Bu

nedenle kartilaj yıkımı ve sinoviyal enflamasyona neden olan agresif bir geridönüşüm süreci başlamış olur (147).

Bu enflamatuvar yanıtı tepki olarak IL-13, IL-4, IL-1Ra ve IL-10 gibi anti-enflamatuvar sitokinler, sinoviyum ve kartilaj tarafından üretilmeye başlanır. Bu sitokinlerin, OA' lı hastaların sinoviyal sıvılarında spontan şekilde üretildiği, çalışmalarda gösterilmiştir (136). PGE₂, IL-1β, TNF ve MMP' lerin salınımını azaltırlar ve IL-1Ra ve TIMP üretimini stimüle ederler(134). Bunlara ek olarak IL-4 ve IL-13 sinoviyositlerin apoptozunu engelleyebilir ve sinoviyal hipertrofiye yardımcı olur (130). Sinoviyum, kartilaj enflamasyonu ve yıkımına etkileriyle beraber kemik matriksinin yeniden şekillenmesine de dahil olur. Sinoviyal makrofajlar, kemik formasyonu ve rezorpsiyonuna etkisi olan fonksiyonel osteoklastlara farklılaşabilirler (133). Hızlı yıkım gücü olan OA' da olgun ve aktive osteoklastlar bulunurken, yaygın OA' da bulunmamaktadır. Bu veriler, sinoviyumun, OA' daki subkondral kemiğin osteoklastogenezinde önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir (148).

2.14.1 OA' nın İmmünolojik İlişkisi

OA' nın primer olarak kartilaj ve kemiği etkilediği düşünülmeyle birlikte son yıllarda, sinoviyum, ligamentler ve sinir bağlantılarında içinde olduğu sinoviyal eklemlerin bütün elemanlarının da bu hastalıktan zarar gördüğü ileri sürülmektedir (149). OA; travmatik, akut ya da kronik eklem hasarları, yaşlanma sonucu artiküler kartilajda ki yapım yıkım dengesinin bozulması nedeniyle oluşan non-enflamatuvar dejeneratif bir rahatsızlık olarak nitelendirilir. Ancak genetik faktörlerin de bu rahatsızlıkta rol aldığı unutulmaktadır. Enflamasyonun sistemik belirteci olarak nitelendirilen C-reaktif proteini (CPR)' nin OA' nın erken evrelerinde şaşırtıcı derecede artış gösterdiği görülmüştür (150,151) ve bu durumun hastalığın erken safhalarında düşük derecede enflamasyon varlığını kanıtladığı düşünülmemektedir (149).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, doğumsal immün aktivasyon ve genetik faktörler arasındaki ilişkinin, OA' da ki kronik doku iyileşmesinde, enflamasyonun patolojik rol oynadığını destekler niteliktedir (152,153). HLA haplotipleri ve OA arasında ilişki olduğunu destekleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır (154,155,156). Polimorfolojik moleküller olan bu haplotiplerin, OA' da immün aktivasyonun başlamasına destek olan T hücrelerine antijen sağladığı görüşü hakimdir.

OA' nın erken ve ilerlemiş safhalarında aktive lenfositlerin selüler infiltrasyonu ve yeni damarlanmalar rapor edilmiştir (150,157,158). MRI görüntülerde tanımlanmış sinoviyal enflamasyonun ciddiyetinin OA'lı hastaların ağrı şiddetiyle ilişkilendirildiği çalışmalar da bulunmaktadır (159). Artroskopide görülen sinovitisin kartilaj yıkımıyla ilişkilendirildiği çalışmalar da mevcuttur (124).

OA' da immünglobulin seviyelerinin yüksek oranlara çıktığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada OA' lı hastalarda görülen IgM ve IgG seviyelerinin normal kartilaj dokudakine oranla 3 kat fazla olduğunu göstermiştir (149). Bu sonuçlar immünglobulinlere karşı geçirgenliği artmış olan etkilenmiş eklem kartilajlarında, antikor sentezlendiğini düşündürmektedir.

2.15. Apoptoz

Apoptoz ilk olarak 1972 yılında Kerr tarafından tanımlanmış, nekrozdan metabolik olarak farklılık gösteren belli bir sistematığı olan fizyolojik hücre ölüm şekli olarak nitelendirilmiştir (160).

Apoptoz, organizmaların çekirdekli hücrelerin gelişim ve hayatlarının devamı için, proliferasyonlarını denge halinde tutan genetik olarak programlanmış bir hücre ölüm şeklidir (161,162,163). Bu ölüm şekli nekroz ya da hücre lizisinden farklı mekanizmalarla gerçekleşmekte, hücrenin apoptozu sırasında, komşu hücreler hiç bir zarara uğramamaktadır (163). Son yıllarda apoptoz üzerine yapılan çalışmalar, bir çok immünolojik rahatsızlığın (AIDS, kanserler, kalp hastalıkları, nörodejeneratif

rahatsızlıklar gibi) nedeni olarak, proliferasyon ve apoptoz dengesinin bozulması sonucu gerçekleştiğini ve bu mekanizmanın tamamen anlaşılmasıyla, bu rahatsızlıkların tedavisinde yeni bir dönem açılacağı düşünülmektedir (161, 162, 164, 165).

Apoptoz, hücrenin yaşamı süresince, yapım-yıkım dengesinin sürmesine olanak sağlamaktadır (164). Klasik olarak bilinen hücre ölüm şekli olan nekrozdan bir çok açıdan farklılık göstermektedir. Fizyolojik bir ölüm şekli olan nekroza karşılık, apoptoz hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda meydana gelmektedir (161, 164). Nekrozda hücre içine sıvı girişi sonrası şişme gerçekleşirken, apoptozda bunun aksine hücre hacminde küçülme söz konusudur (164, 165). Apoptozda kromatin paterni hücre çevresinde yoğunlaşırken, nekrozda neredeyse normal hücrelere benzer özellikler göstermektedir. Nekrozda hücre içi komponentlerinin hücre dışına salınması dolayısıyla dokuda enflamasyon görülürken, apoptoz metabolizması sonucu oluşan küçük cisimcikler, komşu hücreler ya da makrofajlar tarafından fagosite edilir ve sonuç olarak enflamasyon çok daha düşük seviyelerde gerçekleşir (161,164,165). Apoptotik hücrelerin, stoplazmaları içerisindeki fosfolipidlerin, apoptozun erken evrelerinde hücre membranı dış yüzeyine doğru hareketleri sonucu, komşu hücre ve makrofajların bu hücreleri tanımlaması sağlanmaktadır (164).

Otonomik ve programlı şekilde hücre ölümü olarak tanımlanan apoptoz, hücre içi ve dışı faktörler ve sinyaller ile tetiklenmektedir(161). Bu faktörler temel olarak Fas Ligant (FasL) ve Tümör Nekrotizan Faktör (TNF) protein aktivatörleridir. Ölüm faktörü olarak da nitelendirilen bu proteinlerin ilgili reseptöre bağlanması sonucunda süreç etkin hale geçer (166).

Apoptoz ayrıca, onkojenler, kemoterapotikler, viral ve bakteriyel enfeksiyon ve toksinler gibi çeşitli nedenlerle de tetiklenebilmektedir. Bu etkiler sonrasında meydana gelen DNA hasarları, p53 geni aktivasyonu ve sonrasında oluşan serbest radikaller, hücre temel elamanlarından olan mitokondri hücre membranı gibi hücrenin yaşamının devamlılığını sağlayan organellerde zararlara neden olarak,

hücre bütünlüğünün korunmasını imkansız hale getirmektedir (163). p53 tümör baskılayıcı bir gen dir ve bir çok genin kopyalanmasından sorumludur. p53' ün hücre sel aktivitesindeki artış "Inducible (uyarılabılır) NO (nitrik oksit)" tarafından düzenlenirken, etkinleşmesi MDM2 geni tarafından yapılır, Bax geni tarafından kopyalanır (163). Sonuç olarak sitokrom-C salınımı gerçekleşir ve apoptoz meydana gelir (163).

2.15.1. Apoptozin Tetikleyici Faktörleri

2.15.1.1 FasL ve TNF

Hücrenin proliferasyonu ve değişimi, belirli reseptörlere bağlanan proteinler olan sitokinler tarafından kontrol edilmektedir. TNF sitokin ailesinin bir üyesidir. FasL ise TNF ailesinin bir üyesidir (162). TNF' ler CD20 Ligand, CD30 Ligand, CD40 Ligand, OX-40 Ligand, TRAIL gibi isimlerle de adlandırılmaktadır. TNFR-1 ve TNFR-2 reseptörleri ile bağlanarak apoptozu indükler.

Doğal ölümcül hücreler (Natural Killer-NK) ve sitotoksik T lenfositlerde (CTL) bulunan FasL apoptotik hücre duvarlarında bulunun Fas ile birleşerek apoptotik süreci aktif hale geçirir (162,165). N ve C terminal dalları bulunan Fas, Tip II membran proteinine benzer şekilde sentezlenmektedir. İletiler hücre duvarının dış yüzündeki C terminalinden iç yüzeydeki N terminaline doğru iletilir (163). Ayrıca TNF ve FasL, metalloproteinaz enzimleri aktivasyonu sonucu, hücre duvarından ayrılarak hücreler arası sıvıda çözülmüş halde bulunabilirler. Hücrelerin buldukları doku sıvısı içerisinde çözülmüş halde bulunan bu formları, soluble TNF ve soluble FasL olarak isimlendirilmektedir (163,164,167). Çözülmüş halde bulunan soluble FasL ve soluble TNF de tıpkı FasL ve soluble TNF gibi apoptoz sürecini başlatabilmektedir. Ancak çözülmüş formların etkisinin daha düşük olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmektedir (168).

2.15.1.2. Fas ve TNF Reseptörleri

Apoptozun başlayabilmesi için FasL ve TNF' nin belirli reseptörlerle birleşerek sinyal iletimini gerçekleştirmeleri gerekmektedir. Fas, FasL' nin reseptörüdür ve tip I membran proteinidir. APO-1 ve CD-95 olarak da adlandırılır (169,170). Hepatositler, kanser hücreleri, lenfoid dokular ve akciğer hücrelerinde bulunur. TNF ise FasL gibi reseptör aracılığıyla sinyallerini iletmektedir. TNFR-1 ve TNFR-2 bilinen reseptörlerine ek olarak CD27, CD40 ve CD30 reseptörleri de bulunmaktadır.

2.15.1.3. Apoptoz İlerleme Süreci (Kaskad Sistemi)

TNF ligand ve FasL nin reseptörü olan TNFR-1 ve Fas aminoasitlerden oluşan yapısıyla hücrede apoptozu yani hücrenin ölümünü gerçekleştirecek olan sinyalleri hücre yüzeyindeki C terminalinden içerideki N terminaline iletirler. Bu nedenle hücre membranlarındaki bu bölgeler, ölüm alanı olarak nitelendirilir. Fas için FADD (Fas ile ilgili ölüm alanı), TNFR-1 ve TNFR-2 için MORT 1 veya TRADD (TNFR-1 ve 2 için ölüm alanı) olarak adlandırılır (162). Ölüm sinyalleri hücre içerisine alındıktan sonra çekirdeğe iletim kaskadı denilen bir düzen içinde iletilir (162,165).

Aktif haldeki reseptörler, inaktif haldeki prokaspazları aktif hale getirerek apoptoz sürecini devam ettirir (163). İlk olarak kaspaz-8 aktif hale gelir ve buna "DISC sinyalizasyonu" adı verilir. Sonrasında kaspaz-8 doğrudan prokaspaz-3' ü direk olarak parçalayıp kaspaz-3' e çevireceği gibi, dolaylı yoldan da bu işlemi gerçekleştirebilir (171). Dolaylı yolda, anti-apoptotik ve pro-apoptotik bölümleri bulunan, geniş bir protein ailesi olan Bcl-2 protein tipleri yardımıyla kaspaz-8 mitokondriye transloke olmaktadır (163). Bu translokasyon sonrasında mitokondri üzerinde porlar oluşur. Bunun sonucu serbestlenen sitokrom-C prokaspaz-9' la bir araya gelerek apoptozomu oluşturur ve kaspaz-9 meydana gelir. Kaspaz-9 prokaspaz-3' ü parçalayarak kaspaz-3 aktivasyonunu sağlar. Doğrudan ve/veya dolaylı olarak oluşan kaspaz-3 genomik DNA fragmantasyonunu uyarır ve

zincirleme reaksiyonlar son bulur. Kaspaz-8' in, kaspaz-3' ü doğrudan ya da dolaylı yolla aktive etme süreci, doku içerisindeki konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Yüksek konsantrasyonda doğrudan yol, düşük konsantrasyonda dolaylı yol kullanılır (163).

Aktif haldeki kaspazlar hücre üzerinde bir çok etkiye sahiptirler.

- 1) Kaspaz-9; nükleus üzerindeki porları genişleterek kaspaz-3 ve kaspaz-7' nin çekirdek içerisine girişini sağlamaktadır.
- 2) Çekirdek içine giren kaspaz-3 ICAD' ı parçalar ve inhibitör alt birimini bozarak DNA bölünmesini sağlar.
- 3) Kaspaz aktivasyonu, fagositozu tetikleyen sinyallerin oluşumunu sağlamaktadır.
- 4) Kaspaz-3 hücre membranına doğru hareket eder ve membran bütünlüğünü sağlayan gelsolinin parçalanmasını sağlar. Bunun sonucunda hücre içinde aktin filamentleri oluşur ve membranda girinti ve çıkıntılar meydana gelir. Aynı zamanda kaspaz-3, PDK-2 (p21-aktive olmuş kinaz-2) aktivasyonunu sağlayarak hücre iskeletini bozar ve hücre apoptotik cisimciklere parçalanır (172,173)

2.15.2. TME' de Apoptoz

Anatomik yapı ve fonksiyonların normal şekilde işleyen bir TME' de ekstrasellüler matriksin sürekliliğinin sağlanmasında yapım ve yıkım olayları arasında bir denge mevcuttur (112). Ancak OA gibi sinoviyal sıvıda fokal dejeneratif değişikliklerin gerçekleştiği durumlarda bu denge yıkım yönünde değişmektedir (72, 90). OA' da eklem dejenerasyonuna öncülük eden en önemli 2 faktör, diskin konumunun değişmesi ve kapsüller fibrozis olarak tanımlanmaktadır (11,90). TME' nin ID' sinin, OA ile bağlantılı olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (90,174,175). Eklemde meydana gelen dejeneratif kemik yıkımları, ID' de meydana gelen patolojik sürecin son evresi olarak tanımlanabilmektedir (176). TME' ye gelen dış kuvvetler, matriks üretimin sağlayan kondrositlerin adaptasyon kapasitesini

aşması halinde yıkım-yapım dengesi bozulmakta ve bunun sonucu olarak sinoviyal enflamasyonlar, eklem biyomekaniğinin bozulması, disk deplasmanları ve kartilaj yıkımı gerçekleşmektedir (80,90). Romatoid artritli hastalarda sinoviyal hücrelerin aşırı büyümesi ve eklem zararı normal olarak enflamatuar sitokinlerin apoptozu indüklemesiyle meydana gelen bir süreçtir (177). Ancak OA' lı hastalarda, enflamatuar olmayan dejeneratif sürecin, kondrosit apoptozundaki artışla beraber doku kaybı ve eklem dejenerasyonuna neden olabileceği düşünülmektedir (178).

Doğal içerikli glikozaminoglikan olan HA, ekstrasellüler matriksin ana komponenti olup, non-toksik ve non-immünojendir (179). Elli yılı aşkın süredir artritli hastaların sinoviyal sıvılarında izole edilmektedir (180). Daha çok serozal yüzeyleri kaplayarak kurumalarını önler ve doku hasarlarından korur (181). Hylan-GF 20 ise HA yapısını tekrarlayan doğal bir glikozaminoglikandır. N-asetilglukozamin ve D-glukoronik asit ünitelerini içermektedir (179). HA' nın özelliklerinin tamamını içermektedir. Ekstra sellüler matriksi stabilize edici etkilerinin dışında, nötrofil, makrofaj ve lenfosit kümelenmelerini azaltmaktadır (182). Yüksek molekül ağırlıklı Hylan GF-20 ile ilgili ortopedik cerrahide yapılan çalışmalarda, % 0,4' lük olarak kullanılan konsantrasyonda, ratlarda postoperatif adezyonun gelişiminin anlamlı oranda azaldığı belirtilmiştir (183).

HA' nın molekül ağırlığına bağlı olarak değişik görevler üstlendiğini gösterilmektedir (184,185,186). Sinoviyal sıvıda HA yüksek molekül ağırlığındaki polimerler tarafından oluşturulmaktadır (187). Ayrıca artritli eklemlerde HA viskozitesinin düştüğü bir çok çalışmada gösterilmiştir (184). Artritte oluşan reaktif oksijen moleküllerine karşı hassastır ve O_2 , H_2O_2 , OH gibi radikallerin etkilerini eklem içi oksidatif hasarlara engelleyerek düşürmektedir (188).

CD44 ise HA' ya bağımlı major hücre proteindir (189). Ekstrasellüler alanda, spesifik tipte glikolizasyon yardımıyla, 10' dan fazla ekzon tarafından kodlanmış, bir polimorfik tip-I transmembran glikoproteindir (190). Makrofajlar üzerindeki enzimli hücre yüzey proteinlerinden biri olduğu düşünülmektedir.

Glikozaminoglikan zinciri, bazı CD44 izoformlarıyla bağlanırken diğer taraftan da heparine bağımlı büyüme faktörü, sitokinler, fibronektin gibi ekstraselüler matriks proteinleriyle ilişki kurmakta ve tüm bu özellikleri nedeniyle HA tarafından benimsenmektedir (191). CD44 artrit hastalarının çoğunda sinoviyal hücre tiplerinde bulunmaktadır ve bu hücrelerde bulunan miktarları, sinoviyal enflamasyon derecesiyle ilişkilendirilmektedir (190).

CD44 kartilaj hücrelerini çevreleyen matriksten çeşitli komponentleri bağlayabilme özelliğine sahiptir (191). Bir çok doku ve hücre tipinde gösterilmiş ve bir çok kartilaj ve fibröz dokuların ekstraselüler matriks proteini için ligand olan bir transmembran glikoproteinidir (189, 192).

Leonardi ve ark. (2000) normal ve TME rahatsızlığı olan hastalar üzerinde yaptıkları çalışmalarında (192), CD44' ün fibroblast ve kondroblast benzeri hücrelerde ve kondrositlerde bulunduğunu göstermiştir. Fibroblast ve benzeri hücrelerde, hücre göçü ve apoptozu önleme amacıyla görev alan, ekstraselüler matriks reseptörü olduğu düşünülmektedir (190, 193, 194). Hyalüronik asit, fibronektin, tip I ve tip IV kollojen gibi bir çok ekstraselüler matriks bileşeni için ligand görevi üstlendiği ileri sürülmektedir (193). Bunlarla beraber yaralanmalar ve doku tamirinde fibrotik direncin sağlanmasında da görev almaktadır (193). Svec ve ark. (1996) fibroblast hücre yüzeyindeki CD44 fonksiyonlarını anti-CD44 antikoruyla bloke ettikleri çalışmalarında, yara iyileşmesinde fibrin, fibronektin, ve fibroblastların dahil olmadığı geçici bir matriks oluşumunu izlemişlerdir (193). CD44 ayrıca hücre yaşamının kontrolünde de görev almaktadır (190). Anti-CD44 antikoruna ile beraber kültür ortamına alınmış fibroblastların kuluçka döneminde apoptoz ile ilişkili olarak morfolojik değişikliklerin gözlemlendiği belirtilmiştir (190).

2.15.2.1. Soluble Fas' ın Apoptoza Etkileri

Apoptoz, yaşlanmış, sakatlanmış ya da ölümcül hasara uğramış hücrelerin aktif enerji tasarrufu ve hücre eliminasyonunu sebepleriyle yok edilmesini

amaçlayan bir mekanizmadır. Oluşan hücresel içerikler makrofajlar tarafından fagosite edilir ve yeni hücre yapımları için işlenirler (160).

CD95 ve/veya APO-1 olarak bilinen Fas, hücre yüzeyinde, apoptozu indüklemek amacıyla bulunan ve ligandı olan FasL ile birleşerek hücre ölümünü tetikleyen bir yüzey proteinidir (195). Fas ve FasL, TNF ailesinin hücre ölümünün aktivasyonu ve indüksiyonunda, immün ayrıcalıkta ve tümör yönetiminde de görev alan, reseptör ve ligant üyeleridir (162). Aynı mRNA kaynaklı çözünmüş formda bulunan soluble Fas (sFas) da sinyalizasyonda önemli bir bileşen olarak görülmektedir (178). Soluble form, ligant konsantrasyonunu değiştirmekte, membran-reseptör sayısının düzenini bozmakta ve spesifik olarak ekstraselüler boşluktaki, ligant-reseptör ilişkisini azaltmaktadır. Böylece sFas apoptoz indüksiyonunu engellemektedir (178). Artan sFas oranının, hücre membranında FasL ve Fas birleşimini engelleyerek, apoptozu bloke ettiği önceki çalışmalarda gösterilmiştir (196,197).

2.15.2.2 Nükleer Matriks Proteini (NMP)

Nükleer matriks proteini, DNA replikasyonunda görev almaktadır (198). Çekirdeğin iç yapısı, RNA sentezi ve hormon reseptör birleşimi ile oluşmaktadır (199). NMP' ler ölü ve/veya ölmekte olan hücreler tarafından salındıkları için ayrıca bu protein, ölü hücre markerı olarak da değerlendirilmektedir. İn-vitro çalışmalarda, NMP' lerin genelde çözünmemiş halde bulunduğu, buna rağmen hücreler ölüm sürecine girdiğinde NMP lerin çözünmüş halde salındığı çeşitli doku kültürlerinde gösterilmiştir (178). NMP' ler, apoptotik süreçle beraber çözünmüş hale geçerek salınırlar ve salınmış halde bulunan NMP miktarının ölen hücre sayısının belirlenmesinde çeşitli fonksiyonları bulunmaktadır (200). NMP çözünürlüğündeki artışın, apoptotik hücre ölümü sırasında nükleustaki morfolojik değişimlerin hesaplanmasına yardımcı olmakta ve normal nükleer yapıdaki kromozom-nükleer matriks ilişkisinin bozulmasının nedeni olarak görülmektedir (178). TME rahatsızlıklarında, sinoviyum ve artiküler kartilaj apoptozu başlatma potansiyeline

sahip olan bir takım mediatörler üretmektedir (201). Artiküler kartilajda, kartilaj matriksinin yapımı ve devamlılığının sağlanması, ancak kondrosit hücreleri tarafından sağlanabilmektedir. Bu nedenle sinoviyal sıvı içerisinde çözünmüş halde bulunan NMP miktarının kondrosit hücrelerinin devamlılığı, kartilaj yıkımı ve apoptoz açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

2.15.2.3. Toll Benzeri Reseptörler (TLR)

Kazanılmış immüitenin majör mekanizmalarının büyük çoğunluğunun çözümlenmiş olmasına rağmen doğal immün yanıt mekanizmaları halen tam olarak bilinmemektedir.

Doğal immüite sisteminin temeli mikroorganizmalarda bulunan bazı ürünlerin saptanarak, konağın bunlara verdiği yanıtlar sistemine dayanmaktadır (202). Bu mikroorganizmaya ait ürünler temel olarak LPS, lipoprotein, peptidoglikan, lipoteykoik asit gibi bakteriler tarafından yapılan ürünlerdir. Doğal immün sistem, patojenlerle ilişkili moleküler patern (PAMP) da denilen bu ürünleri, patern taşıyıcı reseptörler (PRR) aracılığıyla tanımaktadır (203). Doğal immün sistem ise hücre yüzeyi ve hücre içi kompartmanlardan kan dolaşımı ve doku sıvılarına salınan (CD14, Makrofaj mannöz reseptörü gibi) PRR' ler aracılığıyla immün yanıt aktivasyonunu başlatmaktadır (204). PRR' lerin başlıca fonksiyonları arasında ise kompleman ve koagülasyon kaskadlarının aktivasyonu, opsonizasyon, proenflamatuar sinyal yollarının aktivasyonu, fagositoz ve apoptozun indüksiyonu verilebilir (204).

Bir PRR olan Toll reseptörleri ilk olarak *Drosophila* cinsi sineklerin embriyolarında dorso-ventral gelişim için temel olan reseptörler olarak tanımlanmıştır (205). 1996 yılında Hoffmann ve ark. bu reseptörü taşıyan sineklerin fungal enfeksiyonlara yüksek duyarlılık gösterdiğini, anti-fungal peptitlerin de Toll- aracılı sinyal yollarının aktivasyonu ile indüklendiğini keşfetmişlerdir (202, 206). Bu çalışma özellikle doğumsal immüitenin, bu reseptörler aracılığıyla

mikroorganizmalara karşı duyarlılığı ve invazyonunu göstermiştir (207). Memelilerde toll reseptörlerin tüm homologları tanımlanmış ve bunlara toll benzeri reseptörler (Toll like receptors, TLR) olarak adlandırılmıştır (207). Memeli TLR'lerinin fonksiyonel analizleri bu reseptörlerin, memelilerde bulunmayan bazı patojenlerin mikrobiyal bileşenlerini tanıdığı gösterilmiştir (207).

TLR'lerin enflamatuar cevaba katılan genlerin salınımını tetiklediği düşünülmektedir (208). TLR'lerin insanda bilinen 10 türü keşfedilmiştir. TLR'lerin sitoplazmik kısımları interlökin (IL)-1 reseptör ailesine yüksek oranda benzerlik gösterirken, sitoplazma dışında kalan kısımları tamamen farklıdır (207). TLR'ler kendine özgü fonksiyonları olan PRR'ler olarak tanımlanmaktadır. Tip-I transmembran ailesine ait lösin-zengin tekrarlayan (LRR) domenlerle karakterize reseptörlerdir ve hücre içinde Toll/IL-1 reseptör (TIR) domene sahiptir. Memelilerde bu domen MyD88 (Gen 88) ve TIRAP denen sinyal adaptörlerinin sitoplazmik proteinine sahiptir (202). IL-1 ise sitoplazmik yüzeyde sadece MyD88 domenine sahiptir.

TLR'lerin fizyolojik fonksiyonlarına ait genetik incelemeler ve etki mekanizması ve fonksiyonlarını tam olarak açıklayamasa da patojenlerin tanınmasındaki rolleri ortaya çıkarılmıştır. Her bir TLR'nin belirli patojenlere duyarlı olduğu düşünülmekle beraber, TLR'ler aracılığıyla tanımlanan mikrobiyal bileşenler aracılığıyla memeli immün sistemlerinin aktivasyona geçtiği düşünülmektedir (207).

TLR'ler primer yanıt olarak myeloid değişiminin MyD88-bağımlı ve MyD88-bağımsız yollarla aktivasyonuna adaptedirler (149). TLR sinyalizasyon yollarının, NF- κ B, interferon düzenleyici faktör (IRF) ve aktivatör protein-1 (AP-1)'in de dahil olduğu çeşitli kritik transkripsiyon faktörlerinin üretimine öncülük ettiği düşünülmektedir (149). Her bir TLR'nin farklı sinyal yollarını aktivelediği bilinmesine rağmen bu yolların işleyişi detaylı olarak bilinmemektedir (149, 207). Mollen ve ark. (2006) TLR'lerin tehlike anında sinyal yollarını aktif hale

getirmelerini, dokuda oluşan stres ve yaralanmalar halinde baskılanmış hücrelerin aktif olarak yaralanmayla ilişkili molekül salınımı yaptığı, bu salınımın pasif olarak nekrotik hücrelerden gerçekleştiği veya orjinal olarak ekstrasellüler matriks yıkımı sonrası olduğu yönünde teorilerle açıklamaya çalışmışlardır (209). Doku hasarı sonucunda oluşan moleküler kalıpların TLR' ler tarafından tanındığı ve tıpkı dış kaynaklı patojen kalıpların tanınmasında olduğu gibi TLR' ler tarafından tanınarak sinyal yollarının aktif hale getirildiği görüşü kabul edilmektedir (149).

Hyaluronan, heparin sülfat, fibrinojen, yüksek-mobilitate grup proteinler (HMGB1), HPS 60, konak mRNA, konak kromatin ve küçük ribonukleoprotein gibi endojen kaynaklı TLR ligamentleri bulunmaktadır (149). Bu nedenle TLR' lerin doku hasarının işleyişinde kritik role sahip oldukları ve çeşitli ağrı formlarının başlangıcındaki sinyal yollarını aktive ettikleri düşünülmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, TLR4' ün TLR' lere bağımlı doku hasarlarının başlangıcında daha önce belirtilen endojen ligantlar aracılığıyla, ana görevi üstlendikleri yönündedir (210, 211, 212, 213). TLR4' e bağımlı sinyal yollarının, doğal ya da doğal olmayan yollarla oluşan doku hasarlarıyla sonuçlanan süreçte enflamasyonu başlattığı düşünülmektedir. TLR4 mutasyonuna uğratılmış kobay fareleri üzerinde yapılan çalışmalarda, doku hasarıyla oluşan enflamatuar sitokinlerin üretiminde sorun yaşanmasının, yara insizyonlarında TNF değerini düşürdüğü, hemorojik şokta IL-6' nın dolaşımdaki değerlerini azalttığı, doku ezilmelerine bağlı siyatik sinir lezyonlarında IL-1 β ekspresyonunu sınırladığı görülmüştür (213). Sonuç olarak TLR4' seviyeleri düşük olan hayvanların makrofaj sayı ve aktivasyonlarının azalması nedeniyle, enflamatuar yanıtlarının sorunlu olduğu ve sayıca azaldıkları bildirilmektedir.

TLR2' ler ise artrit patojenitesiyle ilişkilendirilmektedir (214). Anti-TLR2 ile bloke olan TLR2, IL-8 ve VEGF artritli eklem sahip insan sinoviyal sıvılarından alınan doku kültürlerinde görülmektedir. Aynı zamanda akut evrede aritri olan insan eklemlerinde HMGB1' e de rastlanmıştır (210). Literatürde, HMGB1'in, TLR2 için primer endojen ligant olduğu görüşü yaygın kabul görmektedir (210,213,214).

Artritli eklemlerde HMGB1-TLR2 ilişkili sinyal yollarıyla ilgili direk kanıt olmamasına rağmen bazı sonuçlar bu ilişkiyi destekler niteliktedir.

2.15.2.4. OA Patolojisinde TLR' lerin Etkileri

OA' lı hatalarda hyaluranın moleküler ağırlığı ve konsantrasyonu azalmaktadır. Sıpesifik boyuttaki hyaluran fragmalarının TLR4 reseptörleri aracılığıyla anjiyogenez ve immüniteyi düzenleyici etkileri olduğu düşünülmektedir (213). Bununla beraber TLR4' ün ekzojen bakteri kaynaklı LPS ve endojen hyaluran ürünlerine verdiği yanıtlar farklı aksesör moleküllerle sağlanmaktadır. LPS CD14, hyaluran ise CD44 reseptörleri ile birleşmesi söz konusudur (213). Fibronektin isoformları ise yaş ve doku yaralanmalarıyla oluşan bir diğer ekstraselüler matriks bileşenidir (214). Fibronektinin de TLR4 aktivasyonunu etkilemektedir (215,216). TLR' ler temel olarak immün hücrelerden salınmalarına rağmen, IL-1 stimülasyonunu da azalttıkları bilinmektedir (213,214). Radstake ve ark. (2004) TLR2 ve TLR4' ün osteoartritik sinoviyal membrandan salınımı yaptığı rapor etmişlerdir (138). Ayrıca OA' lı hastalardan alınan kondrosit ve sinoviyal sıvı kültürlerinin TLR4 agonisti LPS ve TLR2 agonisti peptidoglikana duyarlılığı kanıtlanmıştır (215). TLR4 eksikliği artritli hastalarda kartilaj ve kemik erozyonunu önlerken, TLR2 eksikliği hastalığın şiddetini arttırmaktadır (217).

TLR2 ve TLR4 aktivasyonu sırasında MyD88 ve TIRAP domenleri sinyalizasyonu başlatarak IRF, AP-1 ve NF- κ B transkripsiyon faktörlerini aktive ederler. Amos ve ark. bu faktörlerin aktivasyonunun engellenmesi sonucu OA' da enflamatuar ve yıkıcı mediatörler olan TNF- α , IL-6, IL-8, MMP-1,3,9,13 üretiminin engellendiğini kanıtlamışlardır (217). MMP-1 ve MMP-13'ün tip-II kollojeni, MMP-3' ün ise fibronektini parçalayıcı özellikleri bulunmaktadır (149).

3. MATERYAL VE METHOD

Çalışma Y.Ü. Diş Hekimliği fakültesi Yüz ve Çene eklemi ağrıları kliniğine, ağrı, eklemden ses ve/veya ağız açıklığında sınırlama şikayetleri ile başvuran ve konservatif tedaviye cevap vermeyen, yaşları 15 ile 72 arasında değişen (32.58 ± 14.78) klinik ve radyolojik olarak eklemden disk deplasmanı teşhis edilen 31' i (%91.4) kadın ve 3' ü (%8.6) erkek olmak üzere toplam 34 hastanın, 35 ekleminden alınan sinoviyal sıvı örnekleri üzerinde yürütüldü. Çalışma Y.Ü. Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komitesi' nden 22/03/2012 tarihli ve 099 karar no ile etik kurul onayı alındı. Çalışmaya dahil edilen hastalar işlem hakkında bilgilendirildi ve gönüllü olur formları dolduruldu. Daha önceden uygulanan konservatif tedaviler okluzal splint, fizyoterapi ve/veya nonsteroidal antienflamatuvar ilaçlardan oluşmaktaydı. Hastaların seçiminde majör travma hikayesinin ve artrosentez, MRG için kontraendike olabilecek sistemik problemlerinin bulunmamasına, eklem açıklığında sınırlanmaları ve bu sınırlanmanın eklem içi yapılardan kaynaklanmış olmasına dikkat edildi. Sistemik enflamatuvar eklem hastalığı, makro travma veya eklemden kırık, daha önceden geçirilmiş eklem cerrahi hikayesi ve miyalji bulguları taşıyan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri;

1. TME bölgesinden kaynaklanan kalıcı-inatçı ağrının var olması
2. Ağrılı ve/veya ağrısız ağız açıklığının 35 mm' den az olması
3. Lateral ve/veya protrusiv hareketlerde kısıtlanma olması
4. Ağız açma esnasında etkilenen tarafa doğru deviasyon ve/veya defleksiyonun izlenmesi
5. Manyetik rezonans görüntüleme osteoartritik değişikliklerin redüksiyonlu ve/veya redüksiyonsuz disk deplasmanında izlenmesi

Klinik Muayene;

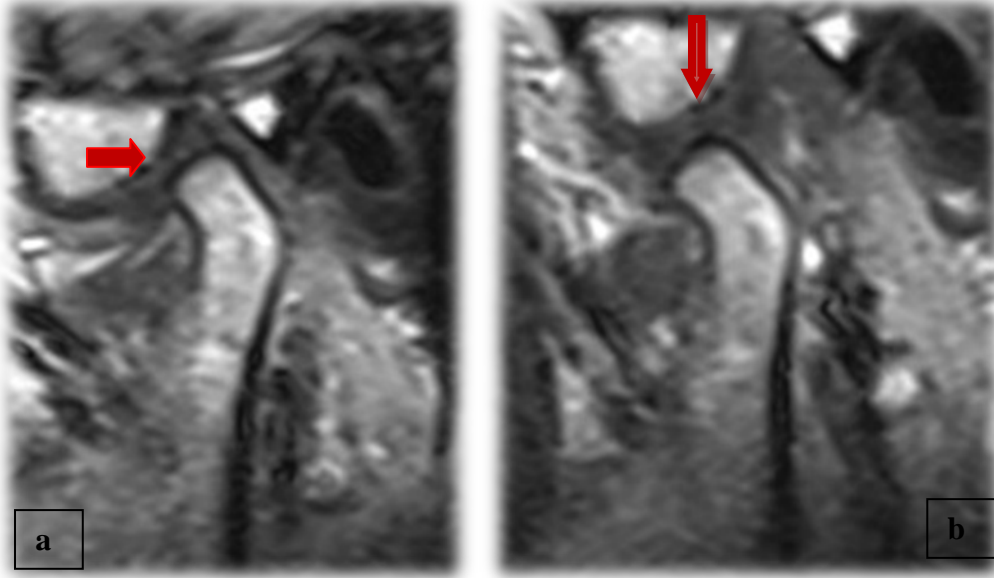
1. Hastaların fonksiyon olmadan ve fonksiyon sırasındaki ağrı dereceleri VAS skalasında değerlendirildi.
2. Maksimum ağız açıklığı, alt ve üst keser dişlerin arasındaki mesafe orta hatta ölçülerek belirlendi.
3. Maksimum destekli ağız açıklığı, ağrı varlığına rağmen ağzın açılabilirdiği en son mesafede, alt ve üst keser dişlerin orta hattında ölçüldü.
4. Mandibulanın protruziv ve lateral hareketleri esnasında üst orta hat arasındaki mesafe ölçüldü.
5. Eklem sesleri (ses yok, klik, popping ve krepitasyon) değerlendirildi.
6. İntraaurikular ve periaurikular parmak basıncıyla eklem hassasiyetleri belirlendi (eklemin lateralinde ağrı varlığının tespiti).

Hastaların yaş, cinsiyet, şikayetin lokalizasyonu, eklem sesleri, deviasyon/defleksiyon, eklemde ağrı tipi ve süresi, bruksizm varlığı gibi bulguları kendileri tarafından doldurulması istenen forma (ek-1' de) kaydedildi. Tüm klinik parametreler birinci ve ikinci artrosentez tedavi seanslarından önce kaydedildi.

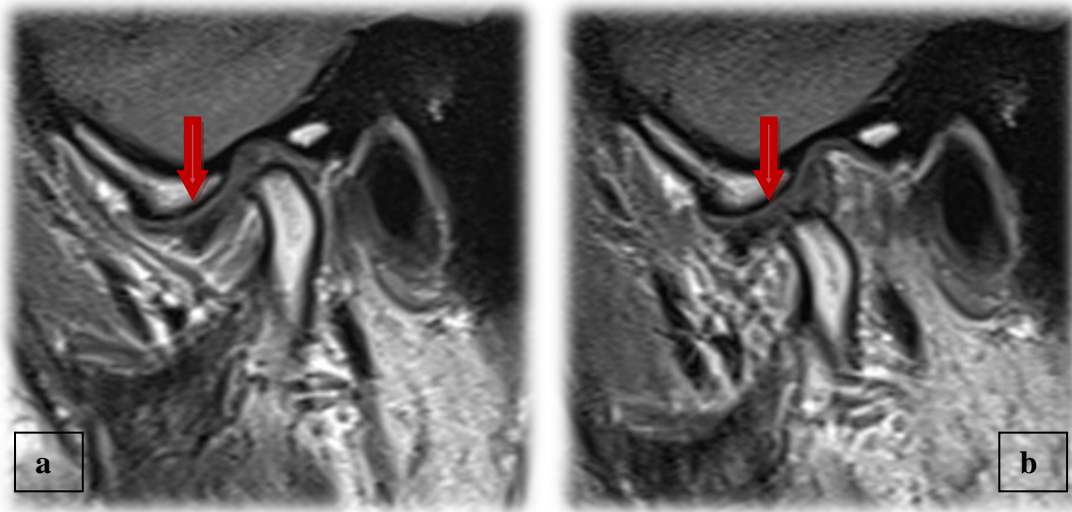
3.1. Radyolojik Değerlendirme

Klinik muayenelerin ardından hastalardan ağız açık ve kapalı konumda, koronal ve sagittal düzlemlerde T₁ ve T₂ ağırlıklı MRG' ler alındı. Artiküler diskin kondil ile ilişkisinin MRG' de değerlendirilmesi; ağız kapalı iken diskin kondil başı üzerinde saat 12 konumunda olması ve ağız açıkken artiküler eminens ve kondil arasında konumlanmasına göre yapıldı (Resim 3.1). Fonksiyon sırasında disk ile birlikte hareket etmeyen ancak ağzın açılmasıyla diskin mandibular kondil ile artiküler eminens arasında konumlandığı disk pozisyonu R' lu ADD olarak tanımlandı (Resim 3.2). Diskin fonksiyon sırasında kondil ile birlikte kayma hareketinin gözlenmediği, sabit konumlanmış disk pozisyonu, R'suz ADD olarak değerlendirildi (Resim 3.3).

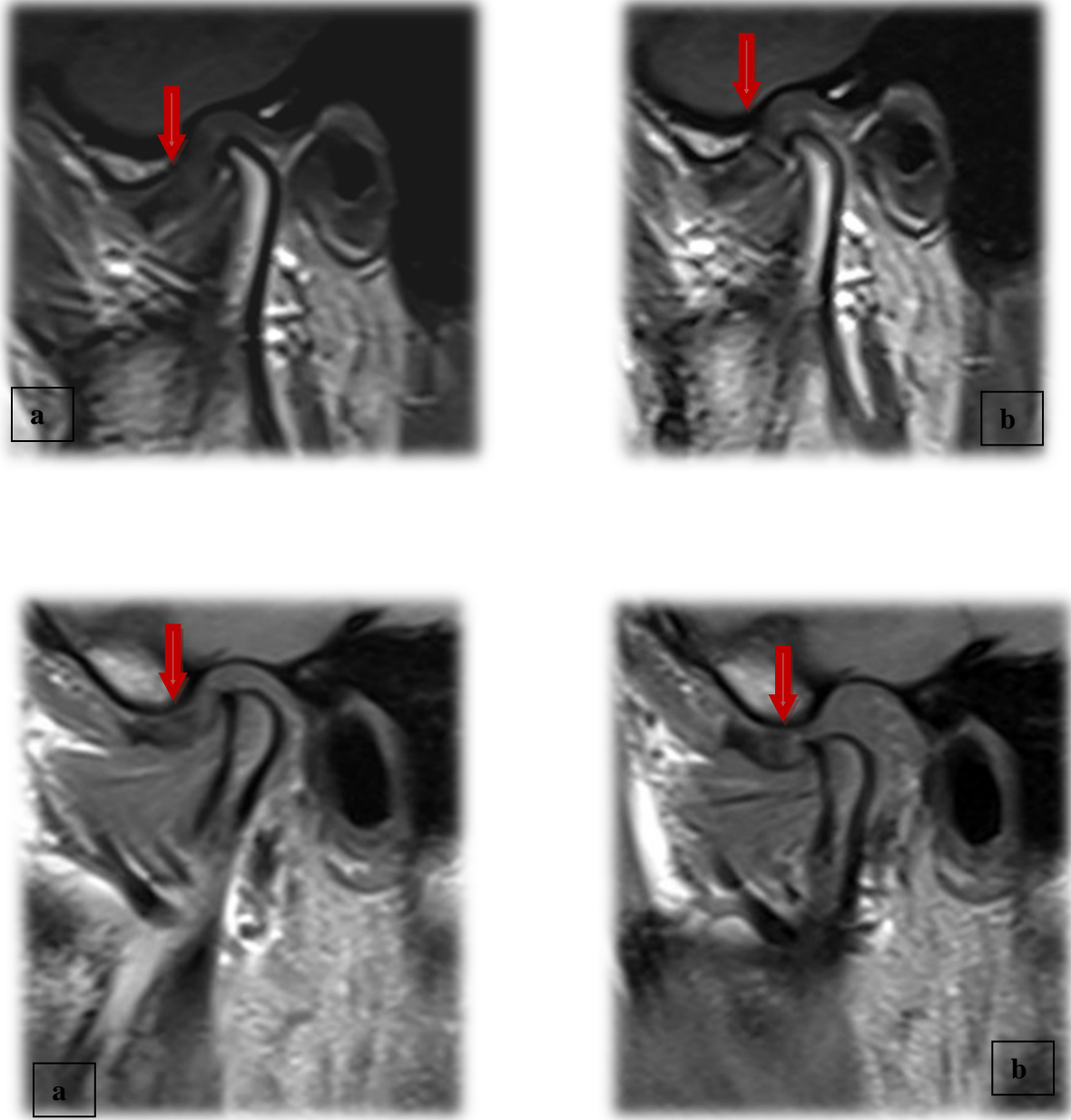
Resim 3.1: Sagittal Planda MR görüntüde ağız kapalı (a) ve açık (b) pozisyonda normal disk kondil görüntüsü



Resim 3.2: Rlu ADD'li bir eklemden sagittal plandaki MR görüntüde ağız kapalı (a) pozisyonda diskin kondilin anteriorunda yer alması, ağız açık (b) pozisyonda disk ile kondilin normal ilişkisinin görüntüsü



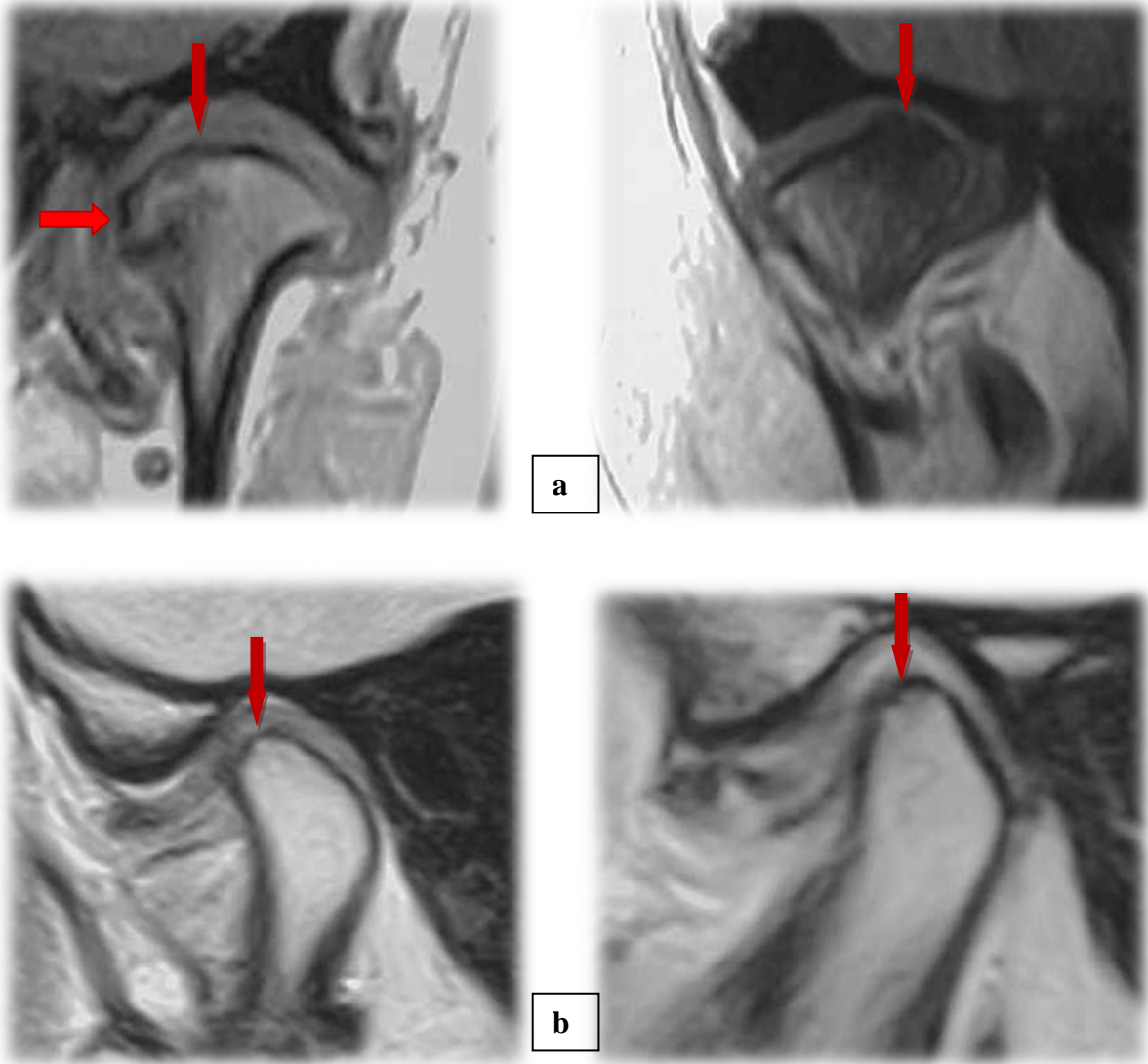
Resim 3.3: Rsuz ADD'li bir eklemden sagittal MR görüntüde ağız kapalı (a) ve açık (b) pozisyonda diskin kondilin anteriorunda yer aldığı disk pozisyonunun değişmediğinin görüntüsü



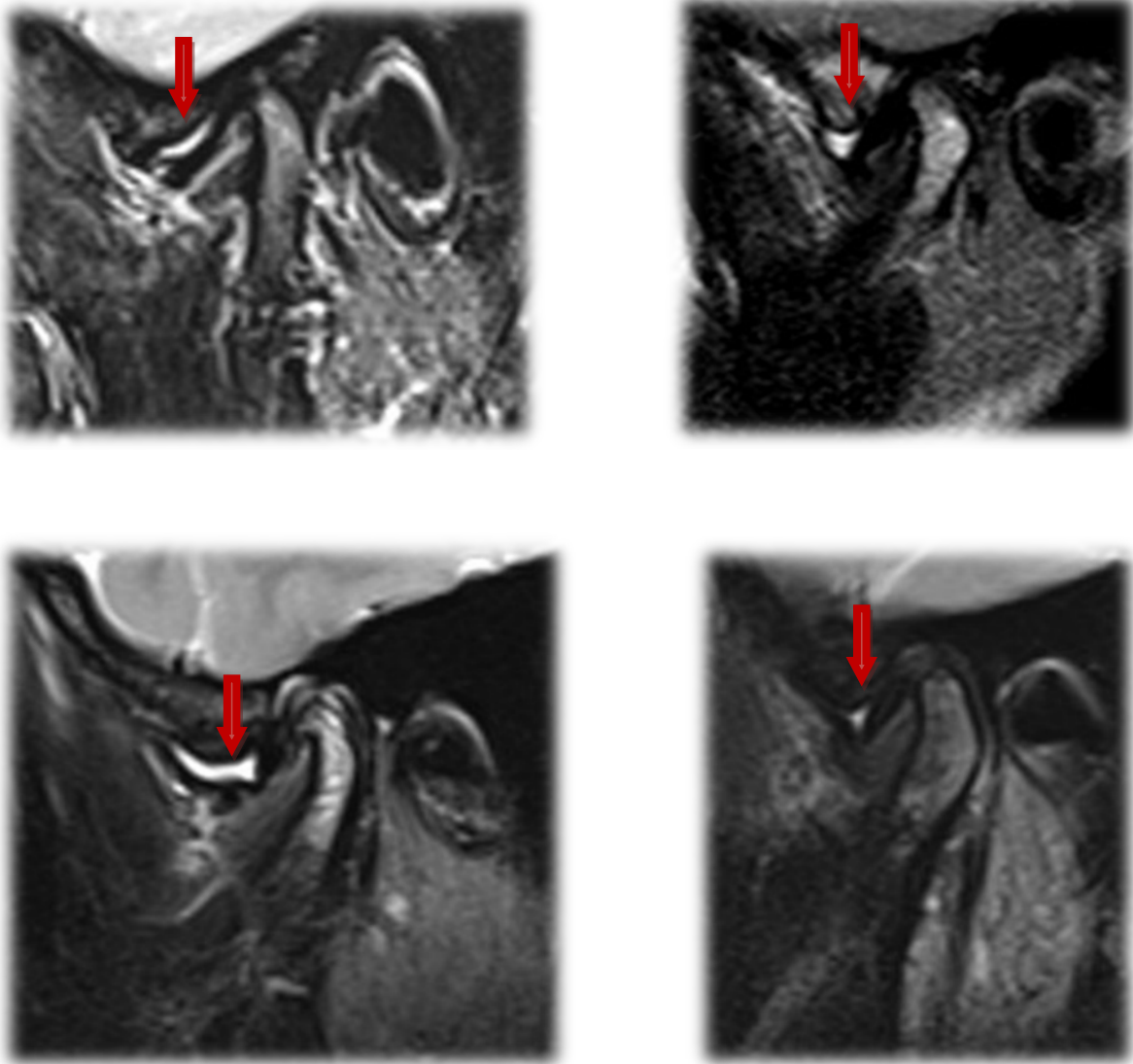
Diskin orijinal şekline benzetilen “papyon” şeklinin görüntüsünün değişimi eklem diskindeki perforasyonlar, disk formundaki uzama ya da katlanmalar kaydedildi. T₂ ağırlıklı görüntüde, enflamasyonun radyolojik bulgusu olarak tanımlanan efüzyon, alt ve/veya üst eklem boşluğundaki parlak ve yüksek sinyal yoğunluğu görüntüsü olarak değerlendirildi (Resim 3.4). Diskin lateral ve mediale doğru olan hareketleri koronal düzlemde alınan MRG' ler ile değerlendirildi. Sagittal

düzlemde kondil başında oluşan, erozyon ve osteofit gibi kemikteki dejeneratif değişiklikler kaydedildi (Resim 3.5).

Resim 3. 4: Koronal (a) ve sagittal (b) planda MR görüntülerde kondilin medialinde dejeneratif kemik değişikliği (osteofit ve erozyon)



Resim 3.5: Sagittal planda T2 ağırlıklı MR görüntüde efüzyon (parlak sinyal yoğunluğu)



3.2. Artrosentez Tekniği

Sedasyon altında tüm hastaların, uygulama öncesinde kulak ve periaurikular bölge derisi povidin iyodin antiseptik solüsyonla dezenfekte edildi ve enjeksiyon bölgesi dışındaki alanlar steril örtü ile kapatıldı. Eklem içinde uygulanacak tüm işlemler öncesi yüzeysel cilt anestezisi (Maxicain DS 1/200000 adrenalin içeren solüsyon) yapıldı. Hasta yarı oturur pozisyonda ve başı enjeksiyon yapılmayan tarafa döndürülerek konumlandırıldı. 18 gauge' luk iğne ile , ağız açık pozisyonda

mandibulanın öne çekilmesi sonucu tragusun yaklaşık 1 cm önünden ve kantral tragus hattının 2mm kadar altından, girilerek, glenoid fossanın anatomik yapısına göre yukarı ve öne doğru ilerletilip kemik teması alındı ve üst eklem boşluğuna girildi. Üst eklem boşluğuna giriş sonrasında 3 cc' lik steril serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Negatif aspirasyon ile sinoviyal sıvının enjektöre gelmesiyle üst eklem boşluğuna giriş doğrulandı (Resim 3.6). Eklem içi yıkamanın gerçekleşmesi için serum fizyolojik enjeksiyon ve aspirasyonu 10 kere tekrarlanarak üst eklem boşluğunun irigasyonu ve hidrolik basıncı sağlandı (Resim 3.7). Yıkama işlemi sonrası enjektör değiştirildi ve üst eklem boşluğuna Hylan G-F 20 (2 ml, Synvisc, Wyeth, Genzyme, Biosurgery Ridgefield, NJ, ABD) enjeksiyonu yapıldı. Hylan G-F 20' nin eklem içi yayılımının sağlanması için hastaya devamlı ağzını açıp kapaması söylendi.

Resim 3.6: Tragus ile dış kantal mesafe arasındaki eklem konumuna göre üst eklem boşluğuna iğnenin giriş yerleri



Resim 3.7: Artrosentez işlemi ile %0,09'luk NaF enjeksiyonu ile üst eklem boşluğunun yıkanması



Artrosentez sonrası şiddetli ağrı ve ödem varlığında tenoksikam etken maddeli (Tilcotil 20 mg, Roche, İstanbul, Türkiye) ilaç önerildi. Artrosentez sonrası 1. ayda oklüzal splint uygulamasına geçildi.

İlk iki artrosentez uygulaması sırasında alınan sinoviyal sıvı örnekleri, hemen eppendorf tüplerine aktarılarak Y.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi yumuşak doku labovatuvarında $-80^{\circ}C$ da saklandı. Tüm örnekler toplandıktan sonra kuru buz ile çözümleri engellenecek şekilde Y.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına götürüldü ve $-20^{\circ}C$ 'den alınıp $37^{\circ}C$ 'de çözüldü.

3.3. İmmünolojik Yöntem;

Dondurulup çözülen sinoviyal sıvı örneklerinin analizinde insan APO-1/Fas/CD95, NMP, TLR4, TLR2 ve sCD44 varlığının belirlenmesinde sandviç ELISA yöntemi kullanıldı.

Human APO-1/Fas/CD95 Invitrogen (Cat no KHS9501) (Resim 3.8), NMP (Nuclear Matrix Protein) Calbiochem (Cat no:QIA20), Human scCD44std e Bioscience Platinum ELISA (Cat no:BMS209/2 - BMS209/2 TEN), TLR4 (Toll Like Receptor 4) USCN, Life Science Inc. (Cat:E90753Hu) (Resim 3.9), TLR2 (Toll Like Receptor 2) USCN, Life Science Inc.(Cat:E90663Hu) kitleri kullanıldı.

Resim 3.8: APO-1/Fas/CD95 Invitrogen ELISA kiti



Tüm örnekler, reaktifler ve ELISA plakları (Epoch Bio Tek) kullanılmadan önce oda ısısına getirildi. Reaktiflerde kristalleşme olmamasına dikkat edildi, kristalleşme giderilene kadar oda ısısında bekletildi. Dondurulup çözölen örnekler oda ısısında 3000 rpm devir/dakikada 5 dakika santrifüj edildi (Hettich Rotina). Tüm sinoviyal sıvı örneklerinde ilgili reaktiflerin, standartların ve yöntemin uygulanması ve hazırlığı üretici firmanın önerisi doğrultusunda gerçekleştirildi. Örnek okuma ve inkübasyon zamanlarına dikkat edildi.

Resim 3.9: TLR4 USCN, Life Science Inc. (Cat:E90753Hu) ELISA kiti



3.3.1. Human APO-1/ Fas / CD95 Elisa Kitinin Örneklerde Uygulanımı:

3.3.1.1 Standartların hazırlanması

Standart, Standart Diluent Buffer ile şişe üzerindeki bilgiler dikkate alınarak, dilüe edildi (60ng/ml). Yavaşça karıştırılarak 10 dakika içinde çözünmesi sağlandı. 450µl Standart Diluent Buffer bulunan tüpe 150 µl çözünmüş standart eklendi (15ng/ml)(Hu APO-1/Fas=Top standart). 3 ila 6 adet 7.50, 3.75,1.87, 0.937, 0.469, 0.234 ng/ml şeklinde yazılarak işaretlenmiş tüplere Standart Diluent Buffer'dan 300µl koyuldu. Top standarttan 300µl 1. tüpe eklendi (7.50ng/ml), 1. tüpten 2. tüpe eklenerek son tüpe kadar seri dilüsyon yapıldı.

3.3.1.2. SAV - HRP Hazırlanmasında; Kullanılmadan 15 dakika içinde hazırlanmasına dikkat edildi. Streptavidin HRP (100X) %50 gliserol içinde ve viskozdur. Oda ısısında doğru dilüsyon sağlanmasına dikkat edildi. Streptavidin - HRP dilüentin 1 ml' si içersine 100X konsantre solüsyonun 10 µl' si bulunacak şekilde, kuyu sayısı hesaplanarak yavaşça pipetleme yapıldı. 12 ml HRP Diluent-120 µl 100X HRP konsantre solüsyonun karışımı Streptavidin HRP çalışma solüsyonu olarak işaretlendi.

3.3.1.3. Wash Buffer Dilüsyonunun hazırlanmasında ; Konsantre wash buffer (25X) oda ısısında ve karıştırılarak çökmüş tuzların hiç çökelti kalmadan çözünmesi sağlandı. 24 volüm deiyonize su 1 volüm konsantre wash buffer (25X) ile karıştırıldı.

Kullanım öncesi oda ısısına getirilen reaktifler nazikçe karıştırıldı. Test için kaç kuyu gerekli olduğu ve kuyuların doğru kullanımı için plan yapıldı. Standart dilüent buffer ile 1/10 dilüe edilen serum örnekleri hazırlandı. 180 µl standart dilüent buffer , 20 µl dilüe örnek ile karıştırıldı. Standart dilüent buffer' ın 100µl' si 0 standart kuyusuna eklendi. Bir kuyu kromojen kör için boş bırakıldı.

Standartların 100µl' si uygun kuyulara pipetlendi. 50 µl Biotinylated anti-APO-1 (Biotin Conjugate), kromojen, kör hariç her kuyuya koyuldu. Plak kenarına hafifçe vurularak karıştırıldı. Plak koruyucu ile plağın üstü örtülerek oda ısısında 1 saat inkübe edildi. Kuyulardaki solüsyon bütünü ile aspire edilerek sıvı kısım uzaklaştırıldı. Kuyular 4 kez yıkandı. Yıkama işlemi için kuyulardaki sıvı aspire edildi, 400 µl (1X) wash buffer eklendi, 15-30 sn bekletilip sıvı tekrar aspire edildi, son yıkama işleminde plak havlu kağıt üzerine ters çevrilerek kuyulardaki sıvının uzaklaşması sağlandı.

Kromojen kör hariç bütün kuyulara 100µl streptavidin HRAP working solution eklendi. Plak koruyucu ile plak üzeri kapatılarak 30 dakika oda ısısında inkübe edildi. Kuyulardaki solüsyon bütünü ile aspire edilerek sıvı kısım uzaklaştırıldı. Kuyular 4 kez yukarıda tanımlandığı gibi yıkandı. Bütün kuyulara 100µl stabilized kromojen eklendi.

Kuyulardaki sıvının renginin mavileşmeye başladığı gözlemlendi. Plak 30 dakika karanlıkta ve oda ısısında inkübe edildi. Bütün kuyulara 100 µl stop solüsyonu eklendi. Plak kenarına hafifçe vurularak karıştırıldı. Kuyulardaki solüsyonların rengin maviden sarıya dönüştüğü gözlemlendi. ELISA plak okuyucuda 450 nm dalga boyunda 30 dakika içerisinde okutuldu.

3.3.2. Nuclear Matrix Protein ELISA Kitinin örneklerde uygulanımı;

Elisa 1XPlate Wash: (20X) plak wash solüsyonunun 25 ml' si 475 ml deiyonize suda çözülerek (1X) plak wash solüsyonu ile iyice karıştırılarak hazırlandı.

1XAnti-FITC-POD: 11,94ml Elisa Conjugate Dilüent Anti- FITC POD (200X) solüsyonundan 60µl eklenerek (1X) Anti-FITC POD solüsyonu ile iyice karıştırılarak hazırlandı.

NMP standart liyofilize NMP standartı assay dilüent ile şişe üzerinde gösterilen şekilde çözülerek hazırlandı. Assay dilüent ile çözülmüş liyofilize NMP

standartının dilüsyonları ile standart eğri hazırlandı. Anti NMP kaplı 96 kuyulu plağın istenilen sayıda kuyusu kullanım için uygun şekilde belirlendi. Dizayn edilen kuyulara standart ve örneklerin 100 µl' si eklendi, plak örtücü ile plağın üstü örtülerek oda ısısında 2 saat inkübe edildi. Plak kuyuları, bütünü ile ELİSA (1X) plak wash ile tamamen dolduruldu, kuyular ters çevrilerek sıvı içeriği döküldü ve sıvının fazlası plak çevrilerek havlu kağıt üzerinde kurulandı. Yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Bütün kuyulara 100 µl NMP detector antibody eklendi. Plak örtücü ile plağın üzeri örtülerek oda ısısında 1 saat inkübe edildi. 3. adımdaki yıkama işlemi tekrarlandı. Bütün kuyulara 1X Anti-FITC-POD solüsyonunun 100 µl' si eklendi. Plak üstü plak örtücü ile örtülerek oda ısısında 1 saat inkübe edildi. 3. adımdaki yıkama işlemi tekrarlandı. Bütün kuyulara 100 µl TBM substrat eklendi. 30 dakika karanlıkta oda ısısında inkübe edildi. Elisa stop solüsyonundan 100 µl kuyulara eklendi. ELISA plak okuyucuda 595/450 nm çift dalga boyunda örnekler okutuldu.

3.3.3. Human sCD44 Platinium ELİSA Kitinin örneklerde uygulanımı

Wash Buffer (1X) ; konsantre wash buffer (20X) 'in 50ml' si 1000 ml' lik kaba aktarıldı, final volum 1000 ml olana kadar distile su ile tamamlandı. Köpük oluşturmaktan kaçınılarak hafifçe karıştırıldı.

Assay Buffer (1X); konsantre assay buffer (20X)'in 5ml' si 100 ml hacimli kaba aktarıldı, final volüm 100 ml olana kadar distile su ile tamamlandı. Köpük oluşturmaktan kaçınılarak hafifçe karıştırıldı.

HRP-Conjugate; dilüsyondan sonraki 30 dakika içinde kullanılmasına dikkat edilerek hazırlandı. 1/50 oranında; assay buffer 1X 'in 490 µl' si ile hazırlandı ve iyice karıştırıldı. 2. dilüsyon hızlıca temiz plastik tüp ya da reaktif kabında 1/40 oranında (1X) assay buffer ile hazırlandı. Dilüsyonlar kuyulara koyulacak HRP conjugate miktarı hesaplanarak hazırlandı, 2. dilüsyon için örnek: 5.850 ml (1X) assay buffer 0.150 ml predilue 1/50 HRP conjugate ile hazırlandı.

Standart

Altı tüp hazırlandı. Bütün tüplere 225 µl örnek diluent eklendi. Dilüe edilmemiş standartın (8ng/ml) 225µl' si ilk tüpe aktarıldı (4ng/ml). Son tüpe kadar seri dilüsyonlar yapıldı. Kör için örnek dilüent kullanıldı.

Renk verici reaktiflerin eklenmesi (Blue Dye, Green Dye)

Test prosedürünün her aşamasında ayrı renk vermesi için küçük miktarlarda örneklere eklendi.

Diluent 1/250; blue dye sample diluent ile kullanılacak miktar hesaplanarak hazırlandı (Örn: 50 ml sample diluent/ 200 µl blue dye). HRP konjugat 1/100 için kullanılacak miktar hesaplanarak HRP konjugatının dilüsyonundan önce 1/100 green dye eklendi (Örnek: 6 ml (1x) assay buffer/ 60 µl green dye).

Örnek dilüsyonu, 1/60 oranında hazırlandı (10 µl örnek/590 µl sample diluent). Örneklerin kuyulardaki yeri tespit edildi. Kullanım öncesi 400 µl wash buffer ile 2 kez kuyular yıkandı. Kuyu içeriklerinin yıkama işlemlerinde kuyulardaki sıvının bütünü ile aspirasyonu sağlandı. Aspirasyondan önce kuyularda wash buffer 10-15 sn bekletildi. Kuyuların yüzeyinin tahrip olmamasına dikkat edildi. Plakların 15 dakikadan fazla absorban kağıt üzerinde kalmamasına ve plakların kurumamasına dikkat edildi. Tüplerde hazırlanan standart dilüsyonların 100 µl' si kuyulara pipetlendi. Kör kuyusuna 100 µl örnek kuyularına ise 80 µl sample diluent eklendi (örnekler iki kez dilüe edildi). Örnek kuyularına 20'şer µl örnek eklendi. HRP conjugate hazırlandı. HRP conjugate'ın 50µl' si bütün kuyulara eklendi. Plak üzeri plak koruyucu ile kapatılarak oda ısısında (18-25°C) 3 saat inkübe edildi. Kuyuların üstü açıldı. Yıkama protokolüne uygun olarak 3 kez yıkama yapıldı. Hızlıca diğer adıma geçildi. Bütün kuyulara 100 µl TBM solusyonu eklendi. Plak üzeri plak koruyucu ile kapatılarak oda ısısında (18-25°C) 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. Bütün kuyulara 100 µl stop solusyonu eklendi. Örnekler ELISA plak okuyucuda 450 nm dalga boyunda okutuldu.

3.3.4. TLR4 Kitinin Örneklerde Kullanımı

Standart hazırlanmasında; kullanımdan 15 dakika önce hazırlanmasına dikkat edildi. Standart dilüentin 1 ml' si ile standart çözülerek köpük oluşturmadan nazikçe karıştırılarak oda ısısında 10 dakika bekletildi (Stok solüsyonundaki standart konsantrasyonu 100 ng/ml' dir). İlk olarak stok solüsyonu 10 ng/ml konsantrasyona dilüe edildi. Bu dilüe standart yüksek konsantrasyondaki standarttır. İçlerinde 500ml standart diluent solüsyonu olan 7 tüp hazırlandı. Dilüe standart ile 10 ng/ml, 5 ng/ml, 2,5 ng/ml, 1,25 ng/ml, 0,625 ng/ml, 0,312 ng/ml, 0,156 ng/ml ve sadece standart dilüent içeren kör (0 ng/ml) olarak seri solüsyonlar hazırlandı. Her tüp içeriği diğerine transfer edilmeden önce karıştırıldı.

Assay Dilüent A ya da Assay Dilüent B 'nin (2X) 6 ml' si 6 ml distile su ile hazırlandı. Stok Detection Reagent A ve Stok Detection Reagent B solüsyonları kullanılmadan kısa süreli santrifüj edildi. Assay Dilüent A ve B ile ayrı ayrı 1/100 olacak şekilde dilüe edildi. Konsantre wash solüsyonunun (30X) 20 ml' si 580 ml distile su ile dilüe edilerek 600 ml (1X) Wash solüsyonu hazırlandı. TBM Substratı şişenin içinden gerektiği dozda alındı, tekrar şişe içine dökmemeye dikkat edildi.

Kör ve örnekler için standart dilüsyonlardan kuyular oluşturuldu. Kör için 1, standart için 7 kuyu hazırlandı. Standart dilüsyonlarının hepsi, kör ve numunelerin 100'er µl' si uygun kuyulara pipetlendi. Plak kaplayıcı ile plağın üzeri kapatılarak 2 saat 37°C' de inkübatörde inkübe edildi.

Her kuyunun sıvı kısmı aspire edildi ancak yıkama yapılmadı. Detection Reagent A'nin 100 µl' si her kuyuya eklendi. Plak kaplayıcı ile plağın üzeri kapatılarak 1 saat 37° C' de inkübatörde inkübe edildi.

Solüsyon aspire edildi. (1X) Wash solüsyonunun 350 µl' si ile çok kanallı pipetör kullanılarak, yıkama işlemi yapıldı. 1-2 dakika beklenildi ve kalan sıvı kısım

plak ters çevrilerek döküldü. İşlem 3 kez tekrarlandı. Fazla sıvı absorban kağıtlar üzerine plak ters çevrilerek uzaklaştırıldı.

Her kuyuya 100 µl Detection Reagent B eklendi. Plak üstü plak koruyucu ile örtülerek 30 dakika 37° C' de inkübatörde inkübe edildi. 4. adımdaki aspirasyon ve yıkama işlemleri 5 kez tekrarlandı. Her kuyuya 90 µl substrat solüsyonu eklendi. Yeni bir plak örtücü ile üzeri kapatılarak 15-25 dakika (35 dakikayı geçmeyecek şekilde) 37° C' de inkübatörde karanlıkta inkübe edildi. Substrat solüsyonunun eklenmesi ile sıvının renginin maviye dönüştüğü gözlemlendi.

Her kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklendi. Stop solüsyonu eklenmesi ile sıvının rengi sarıya dönüştü. Plağa hafifçe vurularak karışması sağlandı. Sıvı kısmın üzerinde baloncuk oluşmamasından emin olunarak, 450 nm' de ELISA plak okuyucuda hızlı bir şekilde okutuldu.

3.3.5. TLR2 Kitinin Örneklerde Uygulaması

Standart Diluent solüsyonunun 1 ml' si ile standart çözülerek köpük oluşturmadan nazikçe karıştırıldı ve oda ısısında 10 dakika tutuldu. Stok solüsyonundaki standart konsantrasyonu 20 ng/ml' dir. İçerisinde 500 µ standart diluent solüsyonu olan 7 tüp hazırlandı. İlk tüpten sonra 20 ng/ml, 10 ng/ml, 5 ng/ml, 2,5 ng/ml, 1,25 ng/ml, 0,625 ng/ml, 0,312 ng/ml ve sadece standart dilüent içeren kör (0 ng/ml) olacak şekilde seri dilüsyonlar yapıldı. Her tüp içeriği diğerine transfer edilmeden önce karıştırıldı.

Standart dilüsyonları, kör ve örnekler için kuyular tespit edildi. Kör için 1, standart için 7 kuyu hazırlandı. Standart dilüsyonlarının hepsi, kör ve numunelerin 100 µl' si uygun kuyulara pipetlendi. Plak kaplayıcı ile plağın üzeri kapatılarak 2 saat 37°C' de inkübatörde inkübe edildi. Her kuyunun sıvı kısmı aspire edildi, ancak yıkama yapılmadı.

Detection Reagent A'nin 100 µl' si her kuyuya eklendi. Plak kaplayıcı ile plağın üzeri kapatılarak 1 saat 37° C' de inkübatörde inkübe edildi.

Solüsyon aspire edildi. (1X) Wash solüsyonunun 350 µl' si ile çok kanallı pipetör kullanılarak, yıkama işlemi yapıldı. 1-2 dakika beklenildi ve kalan sıvı kısım plak ters çevrilerek döküldü. İşlem 3 kez tekrarlandı. Sıvının fazlası absorban kağıtlar üzerine plak ters çevrilerek uzaklaştırıldı.

Her kuyuya 100 µl Detection Reagent B eklendi. Plak üstü plak koruyucu ile örtülerek 30 dakika 37° C' de inkübatörde inkübe edildi. 4. adımdaki aspirasyon ve yıkama işlemleri 5 kez tekrarlandı. Her kuyuya 90 µl substrat solüsyonu eklendi. Yeni bir plak örtücü ile üzeri kapatılarak 15-25 dakika (35 dakikayı geçmeyecek şekilde) 37° C' de karanlıkta inkübatörde inkübe edildi. Substrat solüsyonunun eklenmesi ile sıvının rengi maviye dönüştüğü gözlemlendi.

Her kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklendi. Stop solüsyonu eklenmesi ile sıvının rengi sarıya dönüştü. Plağa hafifçe vurularak karışması sağlandı. Sıvı kısmın üzerinde baloncuk oluşmamasından emin olunarak, 450 nm' de ELISA plak okuyucuda hızlı bir şekilde okutuldu.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm parametrelerin, istatistiksel analizlerinde SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Nicel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında eşleştirilmiş t testi, normal dağılım göstermeyen parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi ve parametreler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde Spearman's korelasyon analizi kullanıldı. Anlamlılık p<0.05 düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Klinik ve radyolojik bulgular tablo 4.1 ve 4.2' de gösterilmektedir. Yaşları 15 ile 72 arasında değişmekte olan; %91,4'ü kadın ve %8,6'sı erkek olmak üzere toplam 34 hastada kadın-erkek oranının yaklaşık 10:1 olduğu belirlendi. Hastaların şikayetlerinin %37,1'inin sol eklemde, %62,9'unun ise sağ eklemde lokalize olduğu kaydedildi.

Tablo 4.1. Hastaların yaş, cinsiyet ve şikayetin eklem lokalizasyonuna göre dağılımı

	Min-Max	Ort±SS
Yaş	15-72	32,58±14,78
	n	%
Cinsiyet		
Kadın	31	91,4
Erkek	3	8,6
Eklem		
Sol	13	37,1
Sağ	22	62,9

MR görüntülerine göre eklemde R' lu ve R' suz ADD varlığının OA ve efüzyon varlığına göre dağılımı tablo 4.2' de gösterilmektedir. R' lu ADD varlığında (%11,4) eklemlerin % 50' sinde OA varlığı gözlenirken, efüzyon varlığına rastlanmadı. R' suz ADD varlığında (%88,6) ise eklemlerin 20' sinde (%69,2) OA, 16' sinda (%61,5) ise efüzyon var olduğu belirlendi.

Tablo 4.2. Hastalardan alınan MR görüntülerinde disk-kondil ilişkisi, osteoartrit ve efüzyon varlığının dağılımı

	n	Osteoartrit		Efüzyon	
		(+)	(-)	(+)	(-)
R' lu ADD	4 (%11,4)	2 (% 50)	2 (% 50)	0	4 (% 100)
R'suz ADD	31 (%88,6)	18 (% 69,2)	8 (% 30,8)	16 (% 61,5)	10 (% 38,5)

		n	%
ADD	Redüksiyonlu	4	11,4
	Redüksiyonsuz	31	88,6
OA	Var	20	66,7
	Yok	10	33,3
Efüzyon	Var	16	53,3
	Yok	14	46,7

* Beş hastanın MR sonuçlarında OA ve Efüzyonla ilgili verilere ulaşılamamıştır

Tablo 4.3. Disk kondil ilişkisi, osteoartrit ve efüzyon varlığının yaş aralığına göre dağılımı

	n (%)	R' lu ADD	R' suz ADD	OA	Efüzyon
10-19	7 (%22,5)	3 (%9,6)	4 (%12,9)	1 (%3,2)	2 (%6,4)
20-29	9 (%29)	1 (%3,2)	8 (%25,8)	5 (%16,1)	4 (%12,9)
30-39	4 (%12,9)	0	4 (%12,9)	2 (%6,4)	3 (%9,6)
40-49	7 (%22,5)	0	7 (%22,5)	4 (%12,9)	2 (%6,4)
50-59	3 (%9,6)	0	3 (%9,6)	3 (%9,6)	3 (%9,6)
60-69	0	0	0	0	0
70-79	1 (%3,2)	0	1 (%3,2)	1 (%3,2)	0

Yaş aralığına göre eklemlerde izlenen disk kondil ilişkisi, osteoartrik değişimler ve efüzyonun dağılımı tablo 4.3' te gösterilmektedir. R' suz ADD' nin osteoartrik değişimleri ve efüzyonun en fazla 20 ila 29 ve 40 ila 49 aralığında izlendiği kaydedildi.

Klinik bulguların tedavi öncesi ile artrosentez ve intra-artiküler enjeksiyon sonrası VAS, fonksiyonel VAS, ağız açıklığı, destekli ağız açıklığı, sağ ve sol lateral hareketler ve protruziv hareket ölçümleri tablo 4.4' de gösterilmektedir.

Tablo 4.4. Klinik bulguların tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçüm değerleri

	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	<i>p</i>
	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
⁺ VAS	4,62±2,98 (5)	3,11±2,91 (3)	0,001**
⁺ Fonksiyonel VAS	7,45±2,06 (8)	5,85±2,77 (5)	0,001**
⁺⁺ Maksimum ağız açıklığı (mm)	27,94±5,20	29,82±5,94	0,015*
⁺⁺ Destekli Max. Ağız açıklığı (mm)	33,14±4,82	33,82±4,66	0,124
⁺⁺ Sağ lateral hareket (mm)	5,20±2,54	5,94±2,84	0,001**
⁺⁺ Sola lateral hareket (mm)	4,74±2,03	5,42±1,92	0,001**
⁺⁺ Protruziv (öne doğru) hareket (mm)	3,80±1,53	4,25±1,72	0,024*

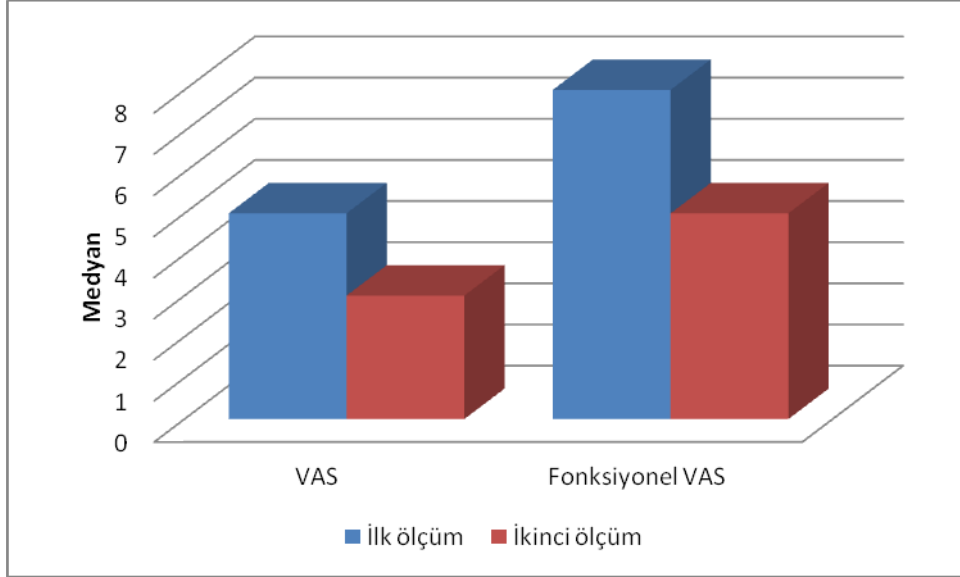
Tedavi öncesi ve sonrası VAS ve fonksiyonel VAS değerlerindeki azalma, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$)(Şekil 4.2.).

Tedavi öncesi ortalama 27,94±5,20 mm olan MAA' nın artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrasında 29,82±5,94 mm olup, istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunurken ($p<0,01$) destekli MAA' nın tedavi sonrası istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermediği kaydedildi ($p=0,124$).

Alt çenenin sağ ve sol lateral ve protruziv hareketlerinde ortalama tedavi öncesi değerleri sırasıyla 5,20±2,54 mm, 4,74±2,03 mm, 3,80±1,53 mm iken, artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrasında 5,94±2,84 mm, 5,42±1,92 mm,

4,25±1,72 mm bulundu. Çene hareketlerindeki ortalama değerlerdeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$ ve $p<0,05$).

Şekil 4.2. Tedavi öncesi ve artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası ortalama VAS ve fonksiyonel VAS değerleri



Tedavi öncesi tüm klinik parametrelerin grup içi korelasyon değerleri tablo 4.5.' de gösterilmektedir. Ortalama VAS düzeyi ile fonksiyonel VAS düzeyi arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlenirken ($r=0,562$, $p<0,01$), diğer klinik parametrelerle pozitif ya da negatif yönde bir korelasyon izlenmedi ($p>0,05$).

Tedavi öncesi MAA ile destekli maksimum ağız açıklığı değerleri arasında pozitif yönde, istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki izlendi ($r=0,826$, $p<0,01$). MAA ile sağ lateral hareket değerleri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunurken ($r=0,339$, $p=0,047$), protruziv ve sol lateral hareket değerleri arasında anlamlı bir ilişki gözlenmedi ($r=0,312$, $p>0,05$).

Destekli MAA ile sol lateral hareket değerleri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunurken ($r=0,489$, $p<0,01$) sağ lateral ve protruziv hareketlerin değerleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($r=0,199$, $p=0,252$ ve $r=0,255$, $p=0,140$). Sağ lateral hareket değerleri ile protruziv hareket değerleri

arasında pozitif yönde istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki bulundu
($r=442$, $p=0,008$).

Tablo 4.5. Klinik parametrelerin tedavi öncesi ve artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası değerleri arasındaki korelasyonu

	⁺ VAS		⁺ Fonksiyonel VAS		⁺⁺ Max. Ağız açıklığı (mm)		⁺⁺ Destekli Max Ağız açıklığı (mm)		⁺⁺ Sağ lateral hareket (mm)		⁺⁺ Protruziv hareket (mm)		⁺⁺ Sol lateral hareket (mm)	
	r	<i>p</i>	r	<i>p</i>	r	<i>p</i>	r	<i>p</i>	r	<i>p</i>	r	<i>p</i>	r	<i>p</i>
VAS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fonksiyonel VAS	0,562	0,001**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Max. Ağız açıklığı (mm)	0,060	0,733	-0,047	0,788	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Destekli Max. Ağız açıklığı (mm)	0,058	0,742	0,043	0,808	0,826	0,001**	-	-	-	-	-	-	-	-
Sağ lateral hareket (mm)	0,069	0,696	-0,136	0,437	0,339	0,047*	0,199	0,252	-	-	-	-	-	-
Protruziv hareket (mm)	0,091	0,604	0,017	0,922	0,312	0,068	0,255	0,140	0,442	0,008**	-	-	-	-
Sol lateral hareket (mm)	0,170	0,329	-0,087	0,621	0,268	0,120	0,489	0,003**	0,226	0,191	0,226	0,122	-	-

⁺ Spearman's rho test

⁺⁺ Pearson korelasyon analizi

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

Artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası hastalardaki klinik parametrelerin ölçüm değerlerinin korelasyonu tablo 4.6.' da gösterilmektedir. Tedavi sonrası VAS düzeyi ile fonksiyonel VAS düzeyi arasında pozitif yönde, ileri düzeyde anlamlı bir ilişki bulundu ($r=0,678$, $p=0,001$). Tedavi sonrası VAS değerleri ile diğer klinik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlenmedi ($p>0,05$).

Tedavi sonrası MAA ile destekli maksimum ağız açıklıkları değerleri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlendi ($r=0,897$, $p=0,001$). MAA ile sağ ve sol lateral hareketleri ve protruziv hareket değerleri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu ($r=0,423$, $p=0,011$, $r=0,456$, $p=0,006$, $r=0,394$, $p=0,019$).

Tedavi sonrası ölçümlerdeki destekli maksimum ağız açıklığı ile sağ lateral hareket değerleri arasında anlamlı bir ilişki izlenmezken ($r=0,300$, $p=0,08$), protruziv hareket ve sol lateral hareket değerleri ile pozitif yönde, bir korelasyon bulundu ($r=0,394$, $p=0,019$, $r=0,426$, $p=0,011$). Sağ lateral hareket değerleri ile protruziv hareket değerleri arasında pozitif yönde, istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki bulunurken ($r=0,495$, $p=0,002$), sağ lateral hareket değerleri ile sol lateral hareket değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görülmedi ($r=0,144$, $p=0,410$). Tedavi sonrası protruziv hareket değerleri ile sol lateral hareket değerleri arasında pozitif yönde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlemlendi ($r=0,391$, $p=0,02$).

Tablo 4.6. Artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası klinik parametrik değerlerin korelasyonu

	⁺ VAS		⁺ Fonksiyonel VAS		⁺⁺ Maksimum Ağız açıklığı (mm)		⁺⁺ Destekli Maksimum Ağız açıklığı (mm)		⁺⁺ Sağ lateral hareket (mm)		⁺⁺ Protruziv hareket (mm)		⁺⁺ Sol lateral hareket (mm)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
VAS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fonksiyonel VAS	0,678	0,001**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maksimum Ağız açıklığı (mm)	0,133	0,446	0,213	0,219	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Destekli Max. Ağız açıklığı (mm)	0,092	0,600	0,236	0,173	0,897	0,001**	-	-	-	-	-	-	-	-
Sağ lateral hareket (mm)	0,030	0,864	0,118	0,501	0,423	0,011*	0,300	0,080	-	-	-	-	-	-
Protruziv hareket (mm)	0,012	0,943	-0,254	0,142	0,456	0,006**	0,394	0,019*	0,495	0,002**	-	-	-	-
Sol lateral hareket (mm)	0,008	0,962	-0,189	0,277	0,394	0,019*	0,426	0,011*	0,144	0,410	0,391	0,020*	-	-

⁺ Spearman's rho test

⁺⁺ Pearson korelasyon analizi

* $p < 0.05$

**

$p < 0.01$

Tedavi öncesi ve artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası sFas, CD44, NMP, TLR 2 ve TLR 4' ün ortalama değerleri tablo 4.7.' de gsterilmektedir.

Tedavi öncesi ortalama $0,16\pm 0,04$ olan sFas değeri, artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrasında ortalama $0,13\pm 0,05$ olarak bulundu ve sFas değerlerindeki bu azalma, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,013$). CD44 değerlerinde istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir azalma ($p=0,009$) gözlenirken NMP, TLR 2 ve TLR 4 değerleri arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$).

Tedavi öncesi sinoviyal sıvı örneklerindeki sFas düzeyi ile CD44, NMP ve TLR2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmazken ($p>0,05$), sFas ile TLR4 arasında pozitif yönde, istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki bulundu ($r=0,516$, $p<0,01$).

Tedavi öncesi CD44 ile NMP, TLR2 ve TLR4 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

NMP ile TLR2 düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmezken ($p>0,05$), NMP ile TLR4 arasında pozitif yönde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlendi ($p<0,05$). TLR 2 ve TLR 4 düzeyleri arasında ise anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

Artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası sinoviyal sıvı örneklerindeki sFas düzeyi ile CD44 arasında pozitif yönde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlendi ($r=0,343$, $p<0,05$). sFas düzeyi ile TLR4 arasında ise negatif yönde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görüldü ($r=0,399$, $p<0,05$). sFas düzeyi ile NMP ve TLR2 düzeyleri arasında ve CD44 düzeyi ile NMP, TLR2 ve TLR4 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

Tedavi sonrası NMP ile TLR2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmazken ($p>0,05$), NMP ile TLR4 arasında pozitif yönde, istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki gözlemlendi ($r=0,567$, $p<0,01$).

TLR4 düzeyi ile TLR2 düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.7. Tedavi öncesi ve artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası immünolojik parametrelerin ortalama değerleri

	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	<i>p</i>
	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
⁺⁺ sFas	0,16±0,04	0,13±0,05	0,013*
⁺ CD44	0,40±0,56 (0,09)	0,12±0,21 (0,06)	0,009**
⁺ NMP	11,81±9,03 (9,76)	18,44±26,06 (11,18)	0,225
⁺ TLR4	0,10±0,26 (0,02)	0,07±0,19 (0,02)	0,177
⁺ TLR2	0,61±1,95 (0,01)	1,57±4,38 (0)	0,960

⁺ Wilcoxon sign test ⁺⁺ Paired sample t test * $p<0.05$ ** $p<0.01$

Klinik parametreler ile immünolojik değerlerin tedavi öncesi düzeylerinin korelasyonu tablo 4.8.' de gösterilmektedir. Tedavi öncesi VAS ile sinoviyal sıvı örneklerindeki NMP düzeyi arasında negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kaydedilirken ($r=-0,383$, $p=0,023$), diğer tüm parametreler ve immünolojik değerlerin düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon izlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 4.8. Klinik parametreler ile immünolojik değerlerin tedavi öncesi düzeylerinin korelasyonu

	⁺ sFas		⁺ CD44		⁺ NMP		⁺ TLR4		⁺ TLR2	
	r	<i>p</i>	r	<i>p</i>	r	<i>p</i>	r	<i>p</i>	r	<i>p</i>
VAS	-0,107	0,542	-0,159	0,361	-0,383	0,023*	-0,258	0,134	-0,317	0,063
Fonksiyonel VAS	0,012	0,946	-0,053	0,762	-0,173	0,319	0,033	0,852	-0,198	0,254
Maksimum Ağız açıklığı (mm)	0,207	0,232	0,035	0,841	-0,156	0,372	0,023	0,894	-0,054	0,759
Destekli Maksimum Ağız açıklığı(mm)	0,122	0,484	0,158	0,365	0,036	0,837	0,094	0,590	0,059	0,738
Sağ lateral hareket (mm)	-0,044	0,804	0,052	0,765	-0,057	0,745	-0,170	0,329	0,048	0,783
Sol lateral hareket (mm)	0,143	0,413	0,089	0,613	0,262	0,128	0,016	0,926	0,284	0,098
Protruziv hareket (mm)	-0,079	0,652	0,068	0,699	-0,016	0,928	0,012	0,947	0,095	0,587

Spearman's rho test

**p*<0.05

Çözünmüş fas değeri ile ağız açıklıkları, destekli ağız açıklıkları, sağ lateral hareket, protruziv hareket ve sol lateral hareket arasındaki ilişkinin incelenmesinde Pearson korelasyon analizi kullanıldı

TME' deki disk deplasmanı ile klinik parametrelerin ilişkisi, tablo 4.9.' de gösterilmektedir. R' lu ADD görülen eklemlerde ortalama VAS değerlerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p=0,269$), R' suz ADD' li eklemlerde ortalama VAS ve fonksiyonel VAS değerlerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,002$ ve $p=0,001$).

Maksimum ağız açıklığındaki artış miktarı R'suz ADD' li eklemlerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde izlendi ($p=0,017$). Destekli ağız açıklığı için hem R' lu hem de R' suz ADD' li eklemlerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim kaydedilmedi ($p=0,083$ ve $p=0,490$).

R' suz ADD' li eklemlerde sağ ve sol lateral hareketlerin miktarındaki artış istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunurken ($p=0,003$ ve $p=0,004$), protruziv hareketlerin miktarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p<0,05$).

Tablo 4.9. TME' deki disk deplasmanı ile klinik parametrelerin ilişkisi

		ADD		⁺ <i>p</i>
		R' lu	R' suz	
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
VAS	Tedavi öncesi	5,75±2,87 (6,5)	4,48±3,00 (5)	0,347
	Tedavi sonrası	3,50±2,51 (3)	3,06±2,99 (2)	0,511
	⁺⁺ <i>p</i>	0,269	0,002**	
Fonksiyonel VAS	Tedavi öncesi	5,50±2,51 (6)	7,70±1,90 (8)	0,070
	Tedavi sonrası	6,50±4,35 (7,50)	5,77±2,60 (5)	0,581
	⁺⁺ <i>p</i>	0,461	0,001**	
Maksimum Ağız açıklığı (mm)	Tedavi öncesi	26,50±1,00 (26)	28,12±5,50 (29)	0,602
	Tedavi sonrası	31,00±4,00 (33)	29,67±6,18 (30)	0,584
	⁺⁺ <i>p</i>	0,131	0,017*	
Destekli Max. Ağız açıklığı(mm)	Tedavi öncesi	30,00±2,82 (31)	33,54±4,91 (34)	0,168
	Tedavi sonrası	33,75±3,77 (34)	33,83±4,82 (34)	0,979
	⁺⁺ <i>p</i>	0,083	0,490	
Sağ lateral hareket (mm)	Tedavi öncesi	6,75±1,25 (7)	5,00±2,60 (4)	0,123
	Tedavi sonrası	7,50±1,73 (8)	5,74±2,92 (5)	0,142
	⁺⁺ <i>p</i>	0,083	0,003**	
Sol lateral hareket (mm)	Tedavi öncesi	4,00±2,70 (5)	4,83±1,96 (4,5)	0,618
	Tedavi sonrası	5,25±2,87 (5,5)	5,45±1,84 (5)	0,752
	⁺⁺ <i>p</i>	0,102	0,004**	
Protruziv hareket (mm)	Tedavi öncesi	3,25±1,50 (3)	3,87±1,54 (3,5)	0,473
	Tedavi sonrası	3,50±1,91 (3)	4,35±1,70 (4)	0,330
	⁺⁺ <i>p</i>	0,317	0,027*	

⁺ Mann Whitney U Test⁺⁺ Wilcoxon sign test* *p*<0.05** *p*<0.01

MR görüntü parametrelerinde OA varlığı ile klinik parametreler arasındaki korelasyon tablo 4.10.' da gösterilmektedir. OA varlığında hastalardaki tedavi öncesi ve sonrası VAS değerlerindeki değişimlerde azalma izlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (*p*>0,05). Ancak OA görülmeyen eklemlerde

tedavi öncesi ve sonrası VAS değerleri arasındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$).

OA belirlenen hastalarda tedavi öncesi ile artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası fonksiyonel VAS düzeyleri arasındaki azalma istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunurken ($p<0,01$), OA izlenmeyen hastalarda anlamlı bir değişim bulunmadı ($p=0,482$). OA izlenen ve izlenmeyen hastalarda tedavi öncesi ve artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrasında maksimum ağız açıklığı ve destekli ağız açıklığı ortalamalarında anlamlı değişimler kaydedilmedi ($p>0,05$).

Tedavi öncesi ve artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası sağ ve sol lateral hareket miktarları arasındaki artış, hem OA varlığı hem de OA izlenmeyen hastalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede bir artış izlendi ($p<0,05$). Protruziv hareket için OA varlığında gözlenen değişimler anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.10. MR görüntüsünde OA varlığının klinik parametrelerle ilişkisi

		OA		<i>p</i>
		Var	Yok	
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
⁺ VAS	Tedavi öncesi	4,80±2,62 (5)	4,80±3,58 (6)	0,757
	Tedavi sonrası	3,50±3,30 (3)	2,60±2,22 (3)	0,547
	<i>p</i>	0,061	0,017*	
⁺ Fonksiyonel VAS	Tedavi öncesi	7,70±1,92 (8)	7,10±2,33 (7)	0,409
	Tedavi sonrası	5,70±2,67 (5)	6,30±2,79 (6)	0,704
	<i>p</i>	0,001**	0,482	
⁺⁺ Maksimum Ağız açıklığı (mm)	Tedavi öncesi	28,05±5,47	27,00±4,80	0,611
	Tedavi sonrası	29,30±6,81	29,70±4,29	0,867
	<i>p</i>	0,252	0,096	
⁺⁺ Destekli Max. Ağız açıklığı(mm)	Tedavi öncesi	33,45±5,28	31,80±4,31	0,401
	Tedavi sonrası	33,75±5,07	33,30±4,24	0,811
	<i>p</i>	0,587	0,177	
⁺⁺ Sağ lateral hareket (mm)	Tedavi öncesi	5,10±2,73	6,10±2,42	0,336
	Tedavi sonrası	5,75±3,20	7,00±2,16	0,277
	<i>p</i>	0,028*	0,011*	
⁺⁺ Sol lateral hareket (mm)	Tedavi öncesi	4,40±2,34	5,10±1,37	0,393
	Tedavi sonrası	4,90±2,02	6,10±1,66	0,117
	<i>p</i>	0,029*	0,032*	
⁺⁺ Protruziv hareket (mm)	Tedavi öncesi	3,90±1,61	3,70±1,56	0,750
	Tedavi sonrası	4,35±1,87	4,10±1,72	0,726
	<i>p</i>	0,119	0,309	

⁺ Mann Whitney U Test⁺⁺ Student t test

• Wilcoxon sign test

•• Paired sample t test

* *p*<0.05** *p*<0.01

Efüzyonun varlığı ile klinik parametreler arasındaki korelasyon tablo 4.11' de gösterilmektedir . T₂ ağırlıklı MR görüntülerinde gözlenen enflamasyonun radyolojik bulgusu olan efüzyonun varlığı 16 hastada gözlemlendi. Efüzyon izlenen hastalarda tedavi öncesi ortalama VAS değerlerinin artrosentez ve intaartiküler enjeksiyon sonrası VAS değerlerinde azalması istatistiksel olarak anlamlı bulundu

($p=0,007$). Efüzyon izlenmeyen hastalarda VAS düzeyinde bir azalma izlenmesine rağmen bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,061$).

Tedavi öncesi ve artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası ortalama fonksiyonel VAS değerlerinde efüzyon varlığında görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,003$), efüzyon izlenmeyen eklemlerde, anlamlı düzeyde bir değişim izlenmedi ($p=0,199$). MAA' daki artış efüzyon varlığında istatistiksel olarak anlamlı iken ($p=0,045$), efüzyon izlenmeyen hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlenmedi ($p=0,384$)

Destekli ağız açıklığındaki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0,05$), sağ ve sol lateral hareket ortalamalarında görülen artış hem efüzyon izlenen hem de izlenmeyen eklemlerde istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Protruziv hareketin ortalama değerlerindeki değişim ise anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.11. Efüzyon varlığına göre klinik parametrelerin korelasyonu

		Efüzyon		<i>p</i>
		Var	Yok	
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
⁺ VAS	Tedavi öncesi	4,75±2,86 (4,5)	4,85±3,08 (5,5)	0,722
	Tedavi sonrası	3,12±2,91 (2,5)	3,28±3,14 (3)	0,950
	<i>p</i>	0,007**	0,061	
⁺ Fonksiyonel VAS	Tedavi öncesi	7,62±1,58 (7,5)	7,35±2,53 (8)	0,933
	Tedavi sonrası	5,81±2,34 (5)	6,00±3,11 (5,5)	0,899
	<i>p</i>	0,003**	0,199	
⁺⁺ Masimum Ağız açıklığı (mm)	Tedavi öncesi	28,25±4,49	27,07±6,01	0,545
	Tedavi sonrası	30,31±3,82	28,42±7,86	0,402
	<i>p</i>	0,045*	0,384	
⁺⁺ Destekli Max. Ağız açıklığı(mm)	Tedavi öncesi	33,50±3,68	32,21±6,20	0,506
	Tedavi sonrası	33,81±3,58	33,35±5,94	0,805
	<i>p</i>	0,627	0,175	
⁺⁺ Sağ lateral hareket (mm)	Tedavi öncesi	5,43±2,58	5,42±2,79	0,993
	Tedavi sonrası	6,18±3,12	6,14±2,79	0,968
	<i>p</i>	0,041*	0,006**	
⁺⁺ Sol lateral hareket (mm)	Tedavi öncesi	4,81±1,83	4,42±2,37	0,622
	Tedavi sonrası	5,31±1,53	5,28±2,43	0,971
	<i>p</i>	0,041*	0,022*	
⁺⁺ Protruziv hareket (mm)	Tedavi öncesi	4,00±1,67	3,64±1,49	0,546
	Tedavi sonrası	4,43±1,75	4,07±1,89	0,587
	<i>p</i>	0,203	0,165	

⁺ Mann Whitney U Test⁺⁺ Student t test

• Wilcoxon sign test

•• Paired sample t test

* *p*<0.05** *p*<0.01

Disk deplasmanı ile sinoviyal sıvıdaki immünolojik değerlerin ilişkisi tablo 4.12' de gösterilmektedir. R' suz ADD görülen eklemlerde sFas ve CD44 düzeylerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken (*p*=0,011 ve *p*=0,003),

NMP, TLR 2 ve TLR 4 değerlerindeki değişimlerde anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.12. MR görüntüde disk deplasmanının sinoviyal sıvıdaki immünolojik parametrelerle ilişkisi

		ADD		⁺ <i>p</i>
		R' lu	R' suz	
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
sFas	Tedavi öncesi	0,14±0,04 (0,15)	0,17±0,04 (0,17)	0,378
	Tedavi sonrası	0,12±0,04 (0,12)	0,13±0,06 (0,13)	0,897
	⁺⁺ <i>p</i>	0,465	0,011*	
CD44	Tedavi öncesi	0,06±0,00 (0,06)	0,44±0,58 (0,06)	0,142
	Tedavi sonrası	0,31±0,49 (0,06)	0,10±0,15 (0,05)	0,302
	⁺⁺ <i>p</i>	0,317	0,003**	
NMP	Tedavi öncesi	6,27±3,43 (5,35)	12,52±9,31 (10,09)	0,108
	Tedavi sonrası	19,16±18,89 (10,80)	18,35±27,09 (11,18)	0,756
	⁺⁺ <i>p</i>	0,144	0,422	
TLR4	Tedavi öncesi	0,39±0,77 (0,01)	0,06±0,08 (0,02)	0,407
	Tedavi sonrası	0,03±0,03 (0,02)	0,08±0,20 (0,02)	0,736
	⁺⁺ <i>p</i>	1,000	0,116	
TLR2	Tedavi öncesi	0,42±0,84 (0)	0,63±2,06 (0)	0,580
	Tedavi sonrası	3,30±6,60 (0)	1,34±4,12 (0)	0,975
	⁺⁺ <i>p</i>	0,713	0,920	

⁺ Mann Whitney U Test

⁺⁺ Wilcoxon sign test

* $p<0.05$

** $p<0.01$

MR görüntüde eklemden OA varlığının sinoviyal sıvıdaki immünolojik değerler ile ilişkisi tablo 4.13' de gösterilmektedir. OA izlenen eklemlerde, sinoviyal sıvıdaki sFas ve CD44 düzeylerinde görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,047$ ve $p=0,028$), NMP, TLR 2 ve TLR 4 düzeylerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Tüm sinoviyal sıvı örneklerindeki

immünolojik değerlerin OA varlığına ve yokluğuna göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.13. OA varlığına göre sinoviyal sıvıdaki immünolojik değerlerin ilişkisi

		OA		p
		Var	Yok	
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
⁺⁺ sFas	Tedavi öncesi	0,16±0,04	0,16±0,05	0,837
	Tedavi sonrası	0,12±0,04	0,15±0,07	0,173
	•p	0,047*	0,736	
⁺ CD44	Tedavi öncesi	0,43±0,59 (0,06)	0,12±0,18 (0,06)	0,120
	Tedavi sonrası	0,11±0,19 (0,05)	0,16±0,31 (0,06)	0,933
	•p	0,028*	0,655	
⁺ NMP	Tedavi öncesi	11,71±6,40 (10,47)	10,28±10,77 (6,82)	0,159
	Tedavi sonrası	17,55±26,64 (11,92)	22,44±31,55 (10,80)	0,692
	•p	0,478	0,169	
⁺ TLR4	Tedavi öncesi	0,13±0,34 (0,04)	0,05±0,12 (0,01)	0,134
	Tedavi sonrası	0,11±0,25 (0,02)	0,02±0,02 (0,02)	0,826
	•p	0,157	0,959	
⁺ TLR2	Tedavi öncesi	0,89±2,51 (0)	0,35±0,74 (0)	0,839
	Tedavi sonrası	1,82±5,07 (0)	1,73±4,12 (0)	0,937
	•p	0,730	0,959	

⁺ Mann Whitney U Test

⁺⁺ Student t test

• Wilcoxon sign test

•• Paired sample t test

* $p<0,05$

MR görüntüde eklemden efüzyon varlığının sinoviyal sıvıdaki immünolojik değerlerin dağılımı tablo 4.14.' de gösterilmektedir. Efüzyonun varlığında eklemden sFas değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$). Ancak efüzyon var olan eklemlerin tedavi öncesi CD44 düzeyleri, efüzyon izlenmeyen eklemlerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,003$).

Efüzyonun var olduğu eklemlerdeki tedavi sonrası CD44 değerlerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,017$).

Efüzyonun izlenmediği eklemlerdeki NMP düzeyleri, istatistiksel olarak anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,016$). Efüzyon var olan eklemlerin tedavi öncesi NMP ve düzeyleri, efüzyon izlenmeyen eklemlerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,007$).

TLR 2 ve TLR 4 düzeylerindeki değişimler efüzyon varlığı olan ve olmayan eklemlerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.14. Efüzyon varlığına göre immunolojik parametrelerin ilişkisi

		Efüzyon		
		Var	Yok	<i>p</i>
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
++sFas	Tedavi öncesi	0,17±0,05	0,15±0,04	0,382
	Tedavi sonrası	0,13±0,07	0,13±0,04	0,957
	•• <i>p</i>	0,162	0,251	
+CD44	Tedavi öncesi	0,56±0,62 (0,07)	0,06±0,00 (0,06)	0,003**
	Tedavi sonrası	0,12±0,21 (0,06)	0,13±0,26 (0,06)	0,690
	• <i>p</i>	0,017*	0,317	
+NMP	Tedavi öncesi	13,40±6,55 (13,60)	8,76±8,92 (6,82)	0,007**
	Tedavi sonrası	18,03±30,02 (9,57)	20,50±26,37 (11,92)	0,318
	• <i>p</i>	0,469	0,016*	
+TLR4	Tedavi öncesi	0,08±0,10 (0,03)	0,13±0,40 (0,01)	0,157
	Tedavi sonrası	0,10±0,24 (0,02)	0,07±0,17 (0,02)	0,934
	• <i>p</i>	0,196	0,638	
+TLR2	Tedavi öncesi	1,12±2,79 (0)	0,24±0,61 (0)	0,609
	Tedavi sonrası	2,21±5,63 (0)	1,32±3,50 (0)	0,692
	• <i>p</i>	0,635	0,773	

+ Mann Whitney U Test

• Wilcoxon sign test

* $p<0,05$

++ Student t test

•• Paired sample t test

** $p<0,01$

5.TARTIŞMA

Artrosentez, bir çok TME rahatsızlığında kullanılan invaziv bir tedavi yöntemi olmasına rağmen etki mekanizması tam olarak açıklanamamaktadır (92,93). Üst eklem kompartmanının lavaj ve lizisini içeren bu tedavi ile vakum etkisi azaltılmakta, adezyonlar çözülmekte ve viskozite değişiklikleriyle disk ve kondil ilişkisinin yenilenmesi amaçlanmaktadır (23,93). Ayrıca artrosentezin, eklem rahatsızlıklarında genel semptomlardan olan kapalı kilitlenmeli hastalarda ağız açıklığında azalma, ağrı ve disfonksiyon rahatsızlıklarının çözümünde etkili bir tedavi yöntemi olduğu bildirilmektedir (218). Buna ek olarak enflamatuar mediatörlerin ortamdan uzaklaştırılmasının, ağrının azalmasına etkili olabileceği de belirtilmektedir (51,93).

TME' de uygulanan artrosentez tedavisinin başarı oranının %70 ile %95 oranında değiştiği gösterilmektedir (87). ID tedavisinde konservatif tedavilerden sonuç alınamadığı durumlarda uygulanan artrosentez tedavisinin araştırıldığı çalışmada Murakami ve ark. KK' lı hasta gruplarında artroskopi tedavisinde %91, artrosentezde %70, konservatif tedavide ise %56' lık bir başarı oranı sağladıklarını rapor etmişlerdir (219).

Artrosentezin, disfonksiyon, ağrı ve ağız açıklığına etkilerinin araştırıldığı çalışmada disfonksiyon ve ağrıda azalma gözlenirken, ağız açıklığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğunu ancak ID derecesinde, MR görüntülerinde anlamlı sonuçlar izlenmediği belirtilmiştir (81).

Önder ve ark (2009) çalışmalarında 15 hastada 25 eklemde artrosentez, 10 hastanın 16 eklemde ise konservatif tedavi yöntemlerinden olan oklüzal split uygulamalarını karşılaştırmışlar ve tedavi sonuçlarının uzun dönem takibini değerlendirmişlerdir. Buna göre artrosentez grubunda 2. aydan 8. aya kadar MAA' nın anlamlı derecede artış göstererek maksimum değerine ulaştığını, konservatif tedavi uygulanan grupta ise anlamlı farklılıklar gözlenmediğini rapor etmişlerdir.

Parelel sonuçları VAS değerlerinde de izlemişler ve 8. ayda artrosentez grubunda bu değerlerin minimum düzeyde olduğunu ancak konservatif tedavi uygulanan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşamadığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak artrosentezin OA' lı hastaların tedavisinde geçerli bir yöntem olduğunu ancak uzun dönem takip değerlendirmesinin gerektiğini bildirmektedir (220).

Güler (2000) artrosentezin klinik bulguları ve MR görüntülerinde disk kondil ilişkisini, 1. gün, 6. ve 12. ay uzun dönem takiplerinde değerlendirdiği çalışmasını 26 hastanın 30 KK' li eklemi üzerinde gerçekleştirmiştir. MAA ve lateral hareketlerde istatistiksel olarak anlamlı oranda artış, disfonksiyon ve ağrı şikayetlerinde ise istatistiksel olarak anlamlı oranda azalma olduğunu rapor etmiştir. Ayrıca MR görüntülerinde 1 hastanın eklem diskinin redükte olduğunu, artrosentez işleminin diskin yeniden konumlanmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturmadığını, klinik değerlerde gözlenen olumlu farklılıkların, posterior ataşmanın adaptasyonu sonucu elde edildiğini rapor etmiştir. Sonuç olarak artrosentezin KK' lı hastalarda başarılı bir tedavi yöntemi olduğunu ve cerrahi uygulamalardan önce kullanılabileceğini belirtmiştir (221).

Eklemde ağrı, sınırlı ağız açıklığı şikayetleriyle kliniğimize başvuran ve konservatif tedaviye cevap vermeyen, yaşları 15 ile 72 arasında ve yaş ortalamaları $32,58 \pm 14,78$ olan 34 hastanın 35 eklemi üzerinde gerçekleştirilen çalışmada; artrosentez tedavisi sonrası üst eklem boşluğuna intraartiküler Hylan G-F 20 enjeksiyonu sonrası klinik bulgularda belirgin değişimler izlendi. VAS ve fonksiyonel VAS değerlerinde sırasıyla $4,62 \pm 2,98'$ den $3,11 \pm 2,91'$ e ve $7,45 \pm 2,06'$ dan $5,85 \pm 2,77'$ ye gözlenen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,001$). MAA ortalamalarında $27,94 \pm 5,20$ mm' den $29,82 \pm 5,94$ mm' ye kadar artış gözlemlendi. Tedavi öncesi ve sonrası elde edilen artış değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,01$). Destekli MAA' da görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Alt çenenin sağ ve sol lateral ve protruziv hareketlerinde ortalama tedavi öncesi değerleri sırasıyla $5,20 \pm 2,54$ mm, $4,74 \pm 2,03$ mm, $3,80 \pm 1,53$ mm iken, artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrasında $5,94 \pm 2,84$ mm, $5,42 \pm 1,92$ mm,

4,25±1,72 mm' ye artış gösterdiği kaydedildi. Çene hareketlerindeki ortalama değerlerdeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$ ve $p<0,05$). VAS ve fonksiyonel VAS değerlerindeki düşüş ile MAA, lateral ve protruziv hareket değerlerindeki artış literatürle uyumluluk göstermektedir. Ancak destekli ağız açıklığında görülen artış miktarının istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasını, enjekte edilen Hylan G-F 20' nin eklem aralığının dar olması, uzun süre rezorpsiyonu gerçekleşmeden bölgede kalması ve 3 hafta süreyle enjeksiyonu sonrası oluşan cerrahi işlemin genel yan etkileri sonucu olduğunu desteklemektedir. Alınan VAS sonuçları, tedavi öncesinde belirlenen ağrı odaklarının, çiğneme kaslarındaki ve ID' den kaynaklı olan ağrı olması ve hastaların bu ağrı odaklarındaki farklılıkları objektif olarak ayırt edebildiklerini göstermektedir (221). Ayrıca eflamasyonun radyolojik bulgusu olarak tanımlanan ve T₂ ağırlıklı MR' da enflamatuar mediatörlerin varlığını işaret eden efüzyon, 16 (%61,5)' eklemde izlenmiştir. Bu sonuçlar, enflamatuar cevabın göstergesi olarak izlenen efüzyonun ağrı ile olan pozitif ilişkisini desteklemektedir (222).

Dejeneratif kemik değişikliği insidansının yaşla beraber artış göstermesi normal olarak kabul edilse de genç bireylerde izlenen dejeneratif değişiklikler patolojik olarak değerlendirilmektedir (99). Puberte döneminde ID vakalarındaki artış her iki cinstede de görülmektedir. McNeill (1997), 1505 hasta üzerinde yaptığı çalışmasında TME şikayetlerinin 2. ve 4. dekatlar arasında sıklık gösterdiğini rapor etmiştir (223). Bizim çalışmamızda da hastaların ortalama yaşlarının 32,58±14,78 olması bu çalışmayla paralellik göstermektedir.

Özellikle 30 ila 40' lı yaşlarda kadınlarda görülen eklem şikayetlerindeki artışın hormonal faktörlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (106). Kadınlarda eklem şikayeti insidansındaki bu artışın TME' deki östrojen reseptörleri nedeniyle olduğu belirtilmektedir. Menapoz sonrası östrojen tedavisi gören hastalarda TME şikayetlerinin 1.77 kat daha fazla olduğunu rapor eden çalışmalar mevcuttur (105). TME şikayetlerinin cinsiyete göre ayrımının izlendiği çalışmalarda kadın/erkek oranları 4:1, 6:1, 6.8:1 olarak bildirilmektedir (104,105,112). Dworkin ve LeResche

ağrılı TME şikayetiyle kliniğe baş vuran hastalarının %75 ila 80' inin kadın hastalar olduğunu rapor etmiştir (224). Bizim çalışmamızda bu oran yaklaşık olarak 10:1' olup TME şikayetinin kadınlarda görülme insidansının yüksek olduğu görüşünü desteklemektedir.

TME' nin normal fizyolojik metabolizmasının korunmasında önemli rol oynayan sinoviyal membran tüm eklem yüzeyini kaplamakta ve internal yapıların lubrikasyonu, beslenmesini ve korunmasını sağlamaktadır (174). Ekleme aşırı yüklerin gelmesi ve buna bağlı immobilizasyonun gerçekleşmesi sonucunda ise enflamatuvar mediatörlerin artışı ve proteoglikan degregasyonu gibi biyokimyasal değişimler meydana gelmektedir (225). Bu değişimler sonucu eklem mobilitesi azalmakta ve sinoviyal membrandaki eflamasyona beraber eklem dokularında dejenerasyonlar gelişmektedir. Sinoviyal sıvı analizlerinin yapıldığı çalışmalarda; ağrı ve sinovitis arasında proenflamatuvar sitokinlerdeki artışla pozitif yönde bir korelasyon görüldüğü bildirilmektedir (112,176,219).

Diz eklemi üzerinde, OA hastalarında yapılan çok sayıda çalışmada intraartiküler HA enjeksiyonunun semptomatik rahatlama sağladığını göstermektedir (226,227). Ancak bu iyileşmenin aktivasyon mekanizması ya da bulunan patolojiyi nasıl değiştirdiği halen tartışma konusudur. Balazs ve Denlinger (227) OA hastalarında intraartiküler HA enjeksiyonunun sinoviyal sıvının fiziksel/reolojik özelliklerinin (viskosuplementasyon) HA enjeksiyonu sonrası dağılımının gerçekleşmesine rağmen uzun dönem iyileştirme etkisi ve etkinliğinin devam ettiğini ileri sürmektedir (226).

HA' nın değişik molekül ağırlıklarındaki tipleri üzerine yapılan çok sayıdaki in vitro çalışmadan elde edilen sonuçlar, ortamda bulunan glikozaminoglikan moleküllerinin sadece bir biomateryal olmasının dışında farmakolojik etkilerinin de olabileceği yönündedir (118,226,227). Yüksek molekül ağırlıklı HA' nın düşük molekül ağırlıklılara oranla biyolojik olarak çok daha aktif olduğu bir çok çalışmada ortak görüştür (226,227,228). Ayrıca düşük molekül ağırlıktaki HA' nın hücrel

seviyede reseptör bağlantılarını, HA' nın polimerik popülasyonununun yüksek olması nedeniyle daha kuvvetli gerçekleştirdiği yönünde görüşler de mevcuttur (226,227).

HA' nın, eklem sinoviyal dokusunda biyofiziksel, biyokimyasal ve hücre düzeyinde bir çok düzenleyici rolü olan özel bir makromolekül olduğu bilinmektedir. HA' ın OA üzerindeki etki mekanizmasının, disfonksiyonu bulunan sinoviyal sıvıda viskosuplementasyon yoluyla gerçekleştiği yönündedir (226). Ancak intraartiküler enjeksiyon sonrası HA nın hızlı şekilde ortamdan atılımının gerçekleşiyor olması, hastalar tarafından belirtilen uzun dönem semptomatik bulgularla bir tezatlık oluşturmaktadır (226,228). Yapılan in vitro çalışmalarda, HA' nın CD44 gibi çeşitli hücre reseptörleri aracılığıyla analjezik, antiinflamatuvar ve düzenleyici etkileri gösterilmiştir (178,201). HA' nın bu farmakolojik etkilerinin bulunması, semptomatik etkilerini açıklayabilmektedir. İntraartiküler HA enjeksiyonu sonrası artiküler kartilajın korunmasının, HA' nın kondrositler üzerine direkt etkisinin dışında sinoviyum ve sinoviyal sıvıda bulunan serbest radikaller, sitokinler ve bunların proteolitik aktivasyonunu azaltarak, matriks katabolizmasını pozitif yönde etkilemesiyle sağlamaktadır (183,184). Ancak HA' nın OA' lı eklemlerdeki etki mekanizması tam olarak açıklanamamaktadır.

TME' de yüksek molekül ağırlıklı HA' nın, OA üzerindeki etkilerinin incelendiği hayvan çalışmasında erken dönemde HA' nın antiinflamatuvar etkisiyle enflamasyonu sınırladığı, hasarlı kartilaj yüzeyini örttüğü, eklem lubrikasyonunu düzenlediği ve kondrositlerin anabolik cevabını etkileyerek ekstrasellüler matrikste PG kaybının önlenildiği belirtilmektedir (229). Yüksek molekül ağırlıklı HA' nın (Hylan G-F 20), tedavi etkinliğinin değerlendirildiği çalışmada, tüm takip dönemlerinde, osteokondral bileşimindeki invajinasyon ya da zayıflama tarzındaki değişimlerde bir farklılık izlenmediği ve bu bulgunun subkondral kemikteki fibrozis bulgusuyla ilişkilendirildiği, ancak erken dönemde kondrosit kümeleşmelerinin HA' nın kondroprotektif özelliği ile hipertrofik cevabın gerçekleşmesine neden olduğu vurgulanmaktadır (229).

Nishimura ve ark. (2004), internal düzensizliği olan 100 hastanın 103 eklemde proenflamatuar sitokin seviyelerinin karşılaştırıldığı çalışmalarında IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve IL-8' in sinoviyal sıvıdaki konsantrasyonlarını değerlendirmişlerdir (230). Artrosentez tedavisinde başarısız olunan hastalardaki proenflamatuar sitokin seviyelerinin, başarılı olanlara oranla ileri derecede yüksek bulmuşlardır. Aynı araştırmacıların bir diğer çalışmasında ise OA görülen 22 ve ID görülen 15 eklemde artroskopik lizis ve lavaj veya açık TME cerrahisi ile elde edilen sinoviyal sıvı örneklerinde proenflamatuar sitokin seviyelerinin yüksek konsantrasyonda olduğu belirtilmiştir. IL-6 konsantrasyonu ile sinovitis arasında pozitif bir korelasyon olduğu rapor edilmektedir (47). Proenflamatuar sitokinler üzerinde yapılan çalışmalarda bu mediatörlerin TME ID ve OA' sının patogenezinde önemli rol oynayabileceği vurgulanmaktadır (50,51). Artraljinin diğer bir nedeni olarak da sinoviyal sıvıdaki artan protein konsantrasyonu gösterilmektedir. Güler ve ark. (2004) çalışmalarında, artraljisi ve ADD' si olan eklemlerde protein konsantrasyonu seviyelerini 55.08 ± 35.16 mg dl⁻¹ olarak rapor etmişlerdir (222). ADD' li bireylerde, sinoviyal sıvıdaki protein konsantrasyonu 1105-1830 μ g/ml olarak bildirilirken normal disk pozsyonuna sahip hastalarda bu konsantrasyon değerinin 353 μ g/ml olduğu belirtilmiştir (23,222).

Eklem üzerine gelen mekanik yüklerin artması ve sonrasında oluşan dejenerasyon, sinoviyal sıvı hücrelerinin artan stresi biyolojik sinyallere çevirerek dokularda sipesifik yanıtların oluşmasına neden olmaktadır (72,88). Dejeneratif TME rahatsızlıklarının doku enflamasyonuna neden olan OA' dan kaynaklandığı bilinmektedir (74). Proenflamatuar sitokinlerin aktivasyonu sırasında oluşan katabolik aktivite sonucu TME' de artiküler kartilaj yıkımının gerçekleştiği rapor edilmiştir (57). TME' sinde ID ya da OA olan eklemlerde IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve IL-8 gibi belirli proenflamatuar sitokinlerin varlığı çeşitli çalışmalarla gösterilmektedir (57,230). Özellikle IL-1 β ve TNF- α ' nın TME' nin ID' sinin gelişim ve koordinasyonunda önemli görevler üstlendiği düşünülmektedir (49). Enflamasyon, ekstraselüler matriks kaskad sistemini, kollojen gibi bileşenleri tüketerek değiştirmektedir (49).

Proenflamatuar sitokinlerin normal eklemlerde görülmediği bilinmekle beraber sinoviyal sıvıda bulunan bazı biyokimyasal ajanların TME' nin ID' sinde önemli rolü olduğu düşünülmektedir (46). TME' nin ID' sinde proenflamatuar sitokinlerin varlığı bir çok çalışmada gösterilmiştir (47,50,51). Ancak bu çalışmalarda alınan sonuçlar her zaman birbirleriyle paralellik göstermeyebilmektedir. Aynı ELISA yöntemi kullanılmış çalışmalarda bile elde edilen sonuçlar arasında farklılıklar olabileceğini belirten çalışmalar bulunmaktadır (50). Verilerdeki uyumsuzlukların, yapılan testlerdeki hassasiyet ve özgünlükten ya da kullanılan örnekleme tekniklerindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir (46). Sonuç olarak ELISA testlerindeki hassasiyet farklarının sonuçlardaki farklılıklara etkili olduğu bilinmektedir.

TME rahatsızlıklarındaki dejeneratif değişiklikler, artiküler kartilajı etkilemektedir. Klinik olarak, disk deplasmanı ile karakterize hafif düzensizliklerde kemiksel değişikliklere sıklıkla rastlanmazken, şiddetli düzensizliklerde, disk ve ataşman perforasyonları, kemiksel dejenerasyonlar ve osteoartritik değişiklikler gözlenebilmektedir (178). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, OA varlığında ekleme oluşan enflamasyonun sinoviyal sıvı hücrelerinin apoptozunda azalmaya neden olduğu gösterilmektedir (177,201,214). IL-1, TNF- α ve IL-6 gibi proenflamatuar sitokinlerce engellendiği ya da işlevinin yetersiz hale getirildiği apoptoz prosesinin, dejeneratif hastalıklarda, eklem hasarlarında önemli rol oynadığı bilinmektedir (59,62). Artmış olan enflamatuar hücrelerin ortamdan uzaklaştırılmaması sonucunda sürekli enflamasyonun engellenmesi ve buna bağlı olarak sinoviyal hücrelerde hiperplazi ve ekleme dejenerasyonlar oluşmaktadır (59,62). Artmış apoptozun ise dejeneratif değişiklikler ve doku kaybına neden olduğu bilinmektedir (201). OA' da kartilaj dejenerasyonu ilk olarak kondrositler tarafından üretilen proteazların oluşumu sırasındaki olaylar sonucunda başlarken sinoviyal enflamatuar yanıt bu dejenerasyonu ikincil olarak hızlandırmaktadır (201). Tüm sinoviyal eklemlerde olduğu gibi fibrokartilaj ve TME diski, seyrek hücre yapısındadır ve korunması, tedavisi ve lubrikasyonu eklem içerisindeki sinoviyal sıvı tarafından yapılmaktadır. Yetersiz lubrikasyon ve bununla beraber eklem gelen aşırı yükler

sonucunda ise OA' ya neden olan yüzey bozulmaları meydana gelmektedir (231). Bu nedenle sinoviyum içindeki apoptozun, TME' deki dejenerasyonun gelişmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Apoptozun TME hastalıklarındaki dejenerasyon ile olan ilişkisini değerlendiren az sayıda çalışma mevcuttur. Son yıllarda yapılan çalışmalar nitrik oksitin enflamasyon ve apoptoz için önemli bir düzenleyici olduğunu göstermektedir (114,116,117,118). Bununla birlikte oksidatif stresin neden olduğu apoptozun eklem hastalıklarında enflamasyona eşlik ettiği de bilinmektedir (201,230). Homeostatik mekanizmaların organ ve dokulardaki bütünlüğü, yapısal ve fonksiyonel olarak korumak amacıyla hücrelerde proliferasyon ve apoptotik aktiviteler arasında gerekli düzeni sağlayarak bir denge oluşturmaktadır (178). Apoptoz, oksidatif hasara neden olan çeşitli sinyaller yardımıyla, TGF- β gibi belirli büyüme faktörlerinin varlığı ya da yokluğuyla veya hücreler arası ve hücre matriks arası ilişkilerin bozulmasıyla tetiklenebilmektedir (201). Tavşan TME' lerinde yapılan çalışmalar, özellikle TNF- α ' nın çeşitli dokularda ve kondrositlerde apoptozu etkilediği gösterilmiştir (229). Hasarlı eklem diskleri; bozulmuş hücre popülasyonları, parçalanmış kollojen fibrilleri, yeni damar formasyonları, mukoid dejenerasyonlar ve disk hiyalinizasyonu gibi sonuçlara neden olan bir çok histopatolojik değişiklikler gösterilmektedir. ID' nin ilerlemesi disk konfigürasyonunun daha da kötüye gitmesine neden olmaktadır (230). Ayrıca R' suz ADD sonucu sinoviyumda artan apoptozun TME dejenerasyonu ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (178). Dejenerasyon izlenen intervertebral diskler üzerine yapılan çalışmalar, fonksiyonel ekstraselüler matriks dengesinin yetersiz tamirinin özellikle apoptozla ilişkilendirilebileceği belirtilmektedir (178). Apoptozun, eklemde yaşlanma ve dejenerasyon sonrası hücre sayısının azalmasında büyük ve önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (201). Aynı zamanda programlanmış hücre ölümünün artmasının da dejeneratif disk rahatsızlıklarıyla ilişkilendirildiği bildirilmektedir (163,171). İmmünohistokimyasal çalışmalardan elde edilen bulgulara dayanarak apoptotik reaksiyonların TME rahatsızlıklarının ilerlemesiyle ilişkilendirilmesi görüşüne ulaşılmaktadır (231). Tüm bu değerlendirmeler sonrası apoptotik hücrelerin

ortamdan uzaklaştırılmaması durumunda, mevcut enflamasyon kronik hale geçerek eklem rahatsızlığının ilerlemesine neden olabileceği ileri sürülmektedir.

Sinoviyal hücrelerin elde edilmesi için invazif yöntem olan biyopsi uygulaması yerine son yıllardaki çalışmalar sinoviyal sıvı örnekleri üzerinde yürütülmektedir. Artrosentez sırasında alınan sinoviyal sıvı örnekleri sFas, NMP, CD44, TLR 2, TLR 4, CD27, CD40, CD30, TNFR-1 ve TNFR-2 gibi apoptoz ve enflamasyon belirteçlerini içermektedir (178). Bu hücreler sinoviyumda ölmekte olan ya da ölü hücre belirteçleridir ve bu belirteçlerin incelenmesi eklem içi apoptozun gösterilmesinde hassas ve pratik bir yol olarak görülmektedir (178,233,234).

Sinoviyum hücreleri, sinoviyal sıvı ve kartilajın, apoptoz ve/ veya nekroz yollarıyla kartilaj yıkımına ve kondrosit ölümüne neden olabilecek çeşitli mediatörler üretebildiği bilinmektedir (178). Bu mediatörler proenflamatuvar sitokinler, Fas ligant (FasL), oksijen radikalleri ve nitrik oksit gibi bileşenlerdir (178,201). Fas ve FasL arasındaki ilişki sonucu hücre ölümü tetiklenmektedir (178). Hedef hücre üzerindeki Fas, hücre yüzeyi ya da sinoviyal sıvıda çözülmüş haldeki FasL (soluble FasL) ile birleştiğinde hücre stoplazmasına bir sinyal gönderir ve proteazı başlatan apoptotik kaskat sistemini aktive eder (178). Bu nedenle Fas, FasL ve sFasL apoptoz indükleyicisi olarak bilinirken sFas ise Fas ve FasL bağlanmasını baskıladığı için apoptoz inhibitörü olarak değerlendirilir (178,201). sFas seviyelerinin şiddetli romatoid artrit (RA) hastalarında, hafif RA ve OA hastalarına göre çok daha yüksek oranlarda görüldüğü bildirilmektedir (205). Wetzig ve ark. (1998) sistemik sklerozis hastalarından alınan örnekler üzerinde yaptıkları çalışmalarında, serum sFas konsantrasyonlarının kontrol gruplarına göre ileri derecede yüksek düzeyde bulunduğunu belirtmişlerdir (235). Iwama ve ark. (2000) anneden, göbek bağından ve amniyotik sıvıdan aldıkları serum örneklerinde sFas değerlerini karşılaştırmışlar ve sırasıyla 2100 ± 3400 , 1300 ± 3100 ve 200 ± 400 pg/ml olarak rapor etmişlerdir (236). Sano ve ark. (1998), proliferatif glomerulonefrit ve membranoproliferatif glomerulonefrit hastalarının serumunda bulunan sFas değerlerini sırasıyla 3400 ± 900 ve 3900 ± 1500 pg/ml olarak bulunduğunu, erkeklerde sFas değeri 2100 ± 400 pg/ml

iken kadınlarda bu değerin 2200 ± 600 pg/ml olduğunu ve plazmada artan sFas değerinin proliferatif glomerulonefritte apoptozun önlenmesi için önemli bir koruyucu olduğu bildirmişlerdir (237). İmirzalıoğlu ve ark. (2009) ağız açıklığında azalma, ağrı ve etkilenen eklemdede ses şikayetleri olan 17 hastanın 17 eklemi üzerinde yaptıkları çalışmalarında, artrosentez sırasında alınan sinoviyal sıvı örneklerinde APO-1/Fas ELISA testi kullanarak, sFas ve NMP değerlerini inceledikleri çalışmalarında sFas değerlerini ortalama $484,9\pm466.7$ pg/mL olduğunu ve artan sFas değerlerinin hücre yüzeyindeki FasL ve Fas birleşimini engelleyerek apoptozu bloke ettiğini, sFas değerlerinin düşük olmasının ise hastalarda devam eden enflamasyonun ve apoptozun göstergesi olduğunu bildirmişlerdir (178). Machner ve ark. (2003) diz ekleminde OA rahatsızlığı bulunan hastaların kuadriseps femoris kası tendonundan aldıkları örnekler üzerinde Fas-FasL etkileşimine bağlı apoptozu değerlendirmek amacıyla tenosit kültürlerini incelemişlerdir. ELISA ve flow sitometri yöntemleriyle sFas ve sTNF resptör I incelemelerinin yapıldığı çalışmada OA' lı hastaların tendonlarında Fas değerlerinin kontrol grubuna göre belirgin seviyede yüksek bulunduğunu, sFas değerlerinin ise düşük seviyelerde olduğunu rapor etmişlerdir. Periartriküler tenositlerde yüksek oranda FasL' ye bağımlı apoptozun indüklendiğini ancak sFas değerlerinin düşük olmasının apoptozun engellenmesini önlediğini ileri sürmüşlerdir (239).

Çalışmamızda, tedavi öncesi ve intraartiküler enjeksiyon sonrası sFas değerleri sırasıyla $0,16\pm0,04$ ve $0,13\pm0,05$ olarak bulunurken, değerler arasındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). İstatistiksel değerlendirmede, sFas değerlerindeki bu değişimler ile klinik bulgular arasında anlamlı korelasyonlar izlenmezken özellikle R' suz ADD ve OA rahatsızlıkları olan hastalarda enjeksiyon sonrası sFas değerlerindeki azalma istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi($p<0,05$). sFas, apoptozun indükleyicisi olan Fas ve FasL birleşimini baskılamaktadır. sFas değerlerindeki bu düşüşün, eklem yüzeylerindeki kondrosit apoptozunu ve dejenerasyonu artırdığını ve devam eden enflamasyonun göstergesi olabileceğini düşünmekteyiz.

Nükleer matriks proteini, DNA replikasyonunda görev almaktadır. Çekirdeğin iç yapısı, RNA sentezi ve hormon reseptör birleşimi ile oluşmaktadır (238). NMP' ler ölü ve/veya ölmekte olan hücreler tarafından salındıkları için ayrıca bu protein, hücre ölümünün bir belirteci olarak da değerlendirilmektedir. İn-vitro çalışmalarda, NMP' lerin genelde çözünmemiş halde bulunduğu, buna rağmen hücreler ölüm sürecine girdiğinde NMP lerin çözünmüş halde salındığı çeşitli doku kültürlerinde gösterilmiştir (178). NMP' ler, apoptotik süreçle beraber çözünmüş hale geçerek salınırlar ve salınmış halde bulunan NMP miktarının ölen hücre sayısının belirlenmesinde çeşitli fonksiyonları bulunmaktadır (200). Bununla beraber NMP çözünürlüğündeki artış, apoptotik hücre ölümü sırasında nükleustaki morfolojik değişimlerin hesaplanmasına yardımcı olmakta ve normal nükleer yapıdaki kromozom-nükleer matriks ilişkisinin bozulmasının nedeni olarak görülmektedir (178). TME rahatsızlıklarında, sinoviyum ve artiküler kartilaj apoptozu başlatma potansiyeline sahip olan bir takım mediatörler üretmektedir (201). Artiküler kartilajda, kartilaj matriksinin yapımı ve devamlılığının sağlanması, ancak kondrosit hücreleri tarafından sağlanabilmektedir. Bu nedenle sinoviyal sıvı içerisinde çözünmüş halde bulunan NMP miktarının kondrosit hücrelerinin devamlılığı, kartilaj yıkımı ve apoptoz açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Nükleer matrix proteininin apoptoz üzerine etkilerini inceleyen çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. İmirzalıoğlu ve ark. eklem şikayeti bulunan 17 hasta üzerinde, artrosentezin apoptozu etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında NMP' yi ölü ya da ölmekte olan hücre belirteci olarak değerlendirmişlerdir. R'suz ADD' si bulunan hastalardan alınan NMP değerlerinin, serum değerlerinden yüksek olmasını TME' de apoptozun varlığına bir işaret olduğu gösterilmiştir (178).

Hara ve ark. Graves hastaları üzerinde yaptıkları çalışmalarında, 32 hastadan aldıkları serum örneklerindeki NMP seviyelerini 20 hastalık kontrol grubunun serum değerleriyle karşılaştırmışlar ve Graves hastalığı bulunan hastalardaki NMP değerlerinin kontrol grubundan yüksek bulunmasını bu hastalık nedeniyle artmış olan apoptozun göstergesi olduğunu rapor etmişlerdir (240).

Çalışmamızda intraartiküler enjeksiyon öncesi ve sonrası NMP değerleri sırasıyla $11,81 \pm 9,03$ (9,76) ve $18,44 \pm 26,06$ (11,18) olarak bulundu ve bu artış literatürle paralellik sağlasa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$). Tedavi öncesi VAS ile sinoviyal sıvı örneklerindeki NMP düzeyi arasında negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kaydedilirken, diğer klinik parametrelerle istatistiksel olarak anlamlı korelasyonlar izlenmedi. Radyolojik parametreler ile korelasyonda OA varlığı veya yokluğuna göre NMP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmezken efüzyon var olan eklemlerin tedavi öncesi NMP düzeyleri, efüzyon izlenmeyen eklemlerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulundu ($p = 0,007$). Efüzyon izlenmeyen hastalarda tedavi öncesi ve intraartiküler enjeksiyon sonrası NMP değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı ve yüksek olduğu görüldü ($p < 0,05$). NMP' nin ölü ve/veya ölmekte olan hücrelerden salındığını ve değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmasada bu değişimin apoptozun varlığına işaret olduğunu düşünmekteyiz. Efüzyon izlenen eklemlerde NMP değerlerinin yüksek olması, enflamasyonla birlikte apoptozun artmış olduğunun göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Fibroblastlar ve fibroblast benzeri hücrelerde CD44' ün hücre migrasyonunun belirlenmesi ve apoptozun önlenmesinde, çeşitli ekstrasellüler matriks bileşenleri için matriks resptörü işlevini üstlendiğini belirten çok sayıda çalışma mevcuttur (56,76,192). Aynı zamanda CD44' ün, hyalüronik asit, fibronektin, tip I ve tip IV kollojen gibi bir çok ekstrasellüler matriks bileşeni için ligand görevi gördüğü bildirilmektedir (192). Tüm bunlara ek olarak doku yaralanmaları ve tamirinde, fibrotik cevabın oluşmasında önemli bir rol üstlendiği görüşü hakimdir (192). Svec ve ark. anti-CD44 antikolarıyla fibroblast hücre duvarları üzerindeki CD44 aktivasyonunu bloke ettikleri çalışmalarında, yara iyileşmesinde görülen geçici matriks oluşumunda fibrin, fibrinojen ve fibronektin fonksiyonunun engellendiğini rapor etmişlerdir (193). Ayrıca CD44' ün hücre yaşamının sürdürülmesinde önemli fonksiyonu olduğu bilinmektedir (190).

CD44' ün kondrositlerde hücre çevresi matriks yapımında ve HA' nın kondrositlerle bağlanmasında görev aldığı bildirilmektedir (190). Kondrositler, matriks değişimi sırasında hüreye büyüme ve tamir koordinasyon olanağı sağlama amacıyla, ekstrasellüler matrikse çeşitli spesifik hücre reseptörleriyle bağlanmaktadır (192). Kondroid metaplazi alanlarında görülen fibrokondrosit ve fibroblast benzeri hücrelerde CD44 reseptör sayısındaki artışın hücre fenotipindeki değişimleri sağlamak amaçlı olduğu düşünülmektedir(77). İn vivo ve in vitro olarak yapılan morfolojik, immünohistokimyasal ve biyosentetik çalışmalar fibroblast benzeri hücrelerin kondrosit benzeri hücrelere değişebildiğini göstermektedir (77,192). Henke ve ark. anti-CD44 ile beraber kültür ortamına yerleştirdikleri fibroblastların morfolojik değişimlerinin, apoptozla uyumlu şekilde, azaldığını rapor etmişlerdir (190).

Nakamura ve ark. sıçan mandibular kondilinde hyalüran ve CD44' ün lokalizasyonlarını inceledikleri çalışmalarında, kondrositlerin karakteristik özelliklerini, mandibular kondiller kartilaj ile tibial büyüme plağı ve artiküler kartilajdaki değişimleri karşılaştırarak değerlendirmişlerdir (233). CD44-pozitif hücrelerinin fibröz ve proliferatif hücrelerin yüzeyel tabakalarında görüldüğünü rapor etmişlerdir. HA reaktivitesinin, yoğun olarak kondil yüzeyinde ve hipertrofik hücrelerin aralarında, etiketlenme yoğunluğunun ise kartilaj matriksin proliferatif ve matüratif tabakalarında görüldüğünü, fibröz hücre tabakalarında ise zayıf etiketlenmenin varlığını bildirmektedirler. Büyüme plağı ve artiküler kartilajda ise HA' nın bütün tabakalarda izlenebildiğini belirtmişlerdir. Tüm bu kartilajlarda görülen farklılıklar mandibular kartilajdaki CD44 ekspresyonunun tibial büyüme plağı ve artiküler kartilajdan farklılıklar gösterdiği görüşünü desteklemektedir. Sonuç olarak, CD44 ve HA arasındaki hücre matriks ilişkisinin mandibular kondilde kondrosit proliferasyonu için önemli bir rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir (233).

Çalışmamızda tedavi öncesi $0,40 \pm 0,56(0,09)$ olan CD44 değerleri, intraartiküler enjeksiyon sonrasında $0,12 \pm 0,21(0,06)$ olarak ölçülmüş ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). sFas ve CD44 arasında pozitif yönde,

istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlenirken ($p < 0,05$), klinik bulgularla CD44 değerleri arasında anlamlı korelasyonlar izlenmedi. R' suz ADD ve OA' lı hastalarda enjeksiyon sonrası CD44 değerlerindeki azalma istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi. CD44' ün radyolojik bulgularla korelasyonunda, efüzyon var olan eklemlerin tedavi öncesi CD44 düzeyleri, efüzyon izlenmeyen eklemlerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulundu ($p = 0,003$). Efüzyonun var olduğu eklemlerdeki tedavi sonrası CD44 değerlerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0,017$). Kondrosit proliferasyonunda rolü olan HA' nın reseptör düzeyinde CD44 ile birleştiği düşünüldüğünde, özellikle dejeneratif rahatsızlığı olan eklemlerde görülen CD44 değerlerindeki düşüş apoptozun artmış olduğunu göstermektedir.

Hyaluronan, heparin sülfat, fibrinojen, yüksek-mobilite grup proteinler (HMGB1), HPS 60, konak mRNA, konak kromatin ve küçük ribonukleoprotein gibi endojen kaynaklı TLR ligamentleri bulunmaktadır (149). Bu nedenle TLR' lerin doku hasarının işleyişinde kritik role sahip oldukları ve çeşitli ağrı formlarının başlangıcındaki sinyal yollarını aktive ettikleri düşünülmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, TLR4' ün TLR' lere bağımlı doku hasarlarının başlangıcında daha önce belirtilen endojen ligantlar aracılığıyla, ana görevi üstlendikleri yönündedir (210, 211, 212, 213). TLR4' e bağımlı sinyal yollarının, doğal ya da doğal olmayan yollarla oluşan doku hasarlarıyla sonuçlanan süreçte enflamasyonu başlattığı düşünülmektedir. TLR4 mutasyonuna uğratılmış kobay fareleri üzerinde yapılan çalışmalarda, doku hasarıyla oluşan enflamatuar sitokinlerin üretiminde sorun yaşanmasının, yara insizyonlarında TNF değerini düşürdüğü, hemorojik şokta IL-6' nın dolaşımdaki değerlerini azalttığı, doku ezilmelerine bağlı siyatik sinir lezyonlarında IL-1 β ekspresyonunu sınırladığı görülmüştür (215). Sonuç olarak TLR4' seviyeleri düşük olan hayvanların makrofaj sayısı ve aktivasyonlarının azalması nedeniyle, enflamatuar cevabın gelişmesinde sorunlara neden olduğu ve sayıca azaldıkları bildirilmektedir.

TLR2' ler ise artritin patojenitesiyle ilişkilendirilmektedir (214). Anti-TLR2 ile bloke olan TLR2, IL-8 ve VEGF artritli eklemde sahip insan sinoviyal sıvılarından alınan doku kültürlerinde görülmektedir. Aynı zamanda akut evrede artriti olan insan eklemlerinde HMGB1' e de rastlanmıştır (203,205). Literatürde, HMGB1'in, TLR2 için primer endojen ligant olduğu görüşü yaygın olarak kabul görmektedir (203,214,217). Artritli eklemlerde HMGB1-TLR2 ilişkili sinyal yollarıyla ilgili direk kanıt olmamasına rağmen bazı sonuçlar bu ilişkiyi destekler niteliktedir.

OA' lı hatalarda hyaluranın moleküler ağırlığı ve konsantrasyonu azalmaktadır. Sıpesifik boyuttaki hyaluran fragmalarının TLR4 reseptörleri aracılığıyla anjiyogenez ve immüneyi düzenleyici etkileri olduğu düşünölmektedir (213). Bununla beraber TLR4' ün ekzojen bakteri kaynaklı LPS ve endojen hyaluran ürünlerine verdiği yanıtlar farklı aksesör moleküllerle sağlanmaktadır. LPS' nin CD14, hyaluranın ise CD44 reseptörleri ile birleşmesi gerekmektedir (213). Fibronektin isoformları ise yaş ve doku yaralanmalarıyla oluşan bir diğer ekstrapöler matriks bileşenidir (216) ve TLR4 aktivasyonunu etkilemektedir (215). TLR' ler temel olarak immün hücrelerden salınmalarına rağmen, IL-1 stimölasyonunu da azalttıkları bilinmektedir (209,217). Radstake ve ark. TLR2 ve TLR4' ün osteoartritlik sinoviyal membrandan salınım yaptığı rapor etmişlerdir (138). Ayrıca OA' lı hastalardan alınan kondrosit ve sinoviyal sıvı kültürlerinin TLR4 agonisti LPS ve TLR2 agonisti peptidoglikana duyarlılığı kanıtlanmıştır (211,214). TLR4 eksikliği artritli hastalarda kartilaj ve kemik erozyonunu önlerken, TLR2 eksikliği hastalığın şiddetini arttırmaktadır (217).

TLR2 ve TLR4 aktivasyonu sırasında MyD88 ve TIRAP domenleri sinyalizasyonu başlatarak IRF, AP-1 ve NF-κB transkripsiyon faktörlerini aktive ederler. Amos ve ark. bu faktörlerin aktivasyonunun engellenmesi sonucu OA' da enflamatuar ve yıkıcı mediatörler olan TNF-α, IL-6, IL-8, MMP-1,3,9,13 üretiminin engellendiğini kanıtlamışlardır . MMP-1 ve MMP-13' ün tip-II kollojeni, MMP-3' ün ise fibronektini parçalayıcı özellikleri bulunmaktadır (240). Sonuç olarak TLR' ler OA içinde kemik ve kartilaj yıkımının aktivasyonu için önemli role sahiptirler.

Çalışmamızda TLR4 değerleri, tedaviye başlamadan önce ve intraartiküler enjeksiyondan bir hafta sonra sırasıyla $0,10 \pm 0,26$ (0,02) ve $0,07 \pm 0,19$ (0,02) iken TLR2 değerlerinin ise sırasıyla $0,61 \pm 1,95$ (0,01) ve $1,57 \pm 4,38$ (0) olarak bulundu. TLR 4 değerlerindeki azalma, artritli hastalarda kartilaj ve kemik erozyonunu önlenmesi görüşüyle, TLR2' deki artma ise TLR2 eksikliğinde eklemdeki enflamasyonun arttığı görüşleri ile uyumluluk içinde olup Hylan G-F 20 enjeksiyonunun erken dönemde antiinflamatuvar, analjezik ve düzenleyici etkilerini kanıtlar niteliktedir. Ancak TLR4 değerlerindeki azalma ve TLR2 değerlerindeki artış miktarları literatürle paralellik göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$). Aynı zamanda TLR2 ve TLR4 değerlerinin klinik ve radyolojik parametrelerle korelasyonlarında da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Sonuç olarak TLR' ler OA içinde kemik ve kartilaj yıkımının aktivasyonu için önemli role sahiptirler. Çalışmamızda apoptoza etkileri açısından OA' lı hastaların sinoviyal sıvılarında araştırılan bu iki markırın enflamasyonu başlatmak üzerine olan etkileri ve sonucunda eklem dokularının dejenerasyonunda rol almalarının eklem içi apoptozla ilişkilendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamız, eklem şikayeti bulunan hastalarda artrosentez sonrasında üst eklem boşluğuna enjekte edilen yüksek molekül ağırlıklı Hylan G-F 20' nin apoptoz üzerine etkilerini araştırmak amacıyla planlandı. Hastalardan birinci ve ikinci haftalarda alınan sinoviyal sıvı örneklerinin immünolojik olarak değerlendirildiğinde sFas ve CD44 değerlerindeki düşüşler (sırasıyla $0,16 \pm 0,04$ - $0,13 \pm 0,05$ ve $0,40 \pm 0,56$ (0,09)- $0,12 \pm 0,21$ (0,06)) istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p < 0,05$) NMP, TLR2 ve TLR4 değerlerindeki değişimler her ne kadar literatürle paralellik gösterse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$). sFas, CD44 değerlerindeki azalma ve NMP değerlerindeki artış, enjekte edilen Hylan G-F 20' nin apoptoz üzerine etkinliğini göstermektedir. Bu sonuçlara göre eklem içi apoptozun devam ettiği görülmekle beraber apoptozdaki bu artışın inflamatuvar hücreler üzerinde olduğunu düşünmekteyiz. TLR2 ve TLR4' ün enjeksiyon öncesi ve sonrasındaki değişim oranlarının istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasının belirli miktarlarda alınabilen doku kültüründe yeterli yoğunlukta olmamasından kaynaklandığını ve TLR' ler

üzerine yapılacak incelemelerde ELISA testlerinden daha ayrıntılı testlerin uygulanması gerektiğini düşünmekteyiz. TLR' ler üzerinde yapılan incelemelerin istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen TLR4' teki azalma ve TLR2' deki artış literatürle paralellik göstermektedir. TLR değerlerindeki bu değişimin eklem içerisindeki enflamasyonun azalması ile ilişkilendirilebilir.

İntraartiküler enjeksiyon öncesi sFas ve TLR4 ile NMP ve TLR4 değerleri arasında pozitif yönde anlamlı bir ilişki görüldü ($p<0,05$). Pozitif yöndeki bu ilişki enflamasyon ve apoptoz arasındaki ilişkiyi göstermektedir. İntraartiküler enjeksiyon sonrasında ise sFas ve TLR4 arasındaki negatif düzeyde ve anlamlı bir ilişkinin varlığı ($p<0,05$), uygulanan tedavi sonrasında, apoptozdaki artış ve enflamasyondaki azalmayla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Aynı zamanda bu ilişki artan apoptozun enflamatuar hücreler üzerinde gerçekleştiğini desteklemektedir. CD44 ve sFas arasında, intraartiküler enjeksiyon sonrasındaki pozitif anlamlı ilişki apoptozdaki artışı göstermektedir.

R' suz ADD rahatsızlığı bulunan hastalarda VAS ve fonksiyonel VAS değerlerinin ortalamalarındaki azalma ve MAA, sağ ve sol lateral hareket değerlerinin ortalamalarındaki artışlar anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Anlamlılık derecelerinin R' lu ADD hastalarına oranla belirgin şekilde anlamlı bulunması Hylan G-F 20 nin R' suz ADD' li hastalarda etkinliğini göstermektedir. OA şikayeti bulunan hastalarda da benzer sonuçlar izlenmiş, VAS değerlerindeki azalma ve lateral hareketlerdeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). OA' lı hastalarda apoptoz ve enflamasyonun OA izlenmeyen eklemlere göre daha belirgin olduğu düşünüldüğünde alınan sonuçlar tedavinin etkinliğini göstermektedir. MR görüntülerinde efüzyon izlenen eklemlerde ise yine VAS değerlerindeki azalma ve MAA ve lateral hareket değerleri ortalamalarında izlenen artışın anlamlı bulunması ($p<0,05$), intraartiküler enjeksiyondan bir hafta sonra enflamasyonun azalmasıyla efüzyonun da azaldığını ve bununla beraber eklem içerisindeki ödemin azalmasıyla eklem hareketlerinin arttığını göstermektedir (46).

Çalışmamızda R' suz ADD ve OA rahatsızlığı bulunan eklemlerde tedavi sonrasında sFas ve CD44 düzeylerindeki azalmalar anlamlı bulundu ($p<0,05$). Özellikle eklem şikayetleri daha şiddetli olan bu hastalarda görülen sFas ve CD44 değerlerindeki azalmanın belirgin olması, şiddetli eklem rahatsızlıklarında apoptozun daha etkili olabileceği görüşünü desteklemektedir (201). R' suz ADD ve OA ya sahip eklemlerde klinik olarak da daha anlamlı sonuçların izlenmesi bu görüşü desteklemektedir. Efüzyon izlenen eklemlerdeki CD44 değerinin izlenmeyenlere oranla istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulunması ($p<0,05$), ayrıca enjeksiyon sonrasında effüzyon bulunan eklemlerde CD44 değerlerindeki azalmanın anlamlı bulunması ($p<0,05$), enflamasyonun radyolojik bulgusu olan efüzyonun apoptozla olan ilişkisini göstermektedir ve bu bulgular enflamasyonun yoğun olduğu eklemlerde apoptozun artmış olduğunu göstermektedir. Ayrıca sitokin reseptör seviyelerinin artması, eklemdaki efüzyon ekspresyonunu etkilediği ve efüzyonun TME' deki sinoviyal enflamasyonu yansıtabileceği görüşünü de desteklemektedir (243).

Düşük ve yüksek molekül ağırlıklı HA' nın TME rahatsızlıklarında artrosentez sonrası enjeksiyonunun klinik ve radyolojik etkilerini araştıran bir çok çalışma mevcuttur(93,119,241). Tüm bu çalışmalar genel olarak HA enjeksiyonunun etkinliğini kanıtlar nitelikte olmasına rağmen, HA' nın enjeksiyon sonrasında eklem içerisindeki etki mekanizması halen tam olarak anlaşılamamıştır. TME' nin patolojisinde kullanılan HA' nın immünolojisi üzerine yapılan çok az sayıda çalışma mevcuttur ve çalışmamız bu alanda klinik, radyolojik ve immünolojik bulguları içinde barındıran özellikli bir çalışmadır. Artrosentez sonrası HA enjeksiyonunda erken dönemde hastaların şikayetlerindeki azalmaların, HA' nın antiinflamatuvar özelliği ile inflamatuvar cevabı sınırlandırması, hasarlı kartilaj yüzeyini örtmesi, eklem lubrikasyonunu düzenlemesi ve kondrositlerin anabolik cevabını etkileyerek ekstrasellüler matriksten PG kaybını önleyebilmesi ile açıklanmaktadır(87,229). Ancak moleküler düzeyde yapılan çalışmalar HA' nın apoptozu indükleyerek inflamatuvar hücrelerin ortamdan uzaklaştırılmasıyla mekanizmanın işler hale geldiği görüşüne vurgu yapmaktadır. Bizim çalışmamızda alınan klinik, radyolojik

ve immünojik verilerin değerlendirilmesi sonucu bu gr desteklemektedir. Ancak özellikle çalışmanın immünojik bölümünde, her ne kadar literatürle paralel sonuçlar alınsa da, istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşılamayan belirteçlerle ilgili daha ayrıntılı testlerin uygulanmasını önermekteyiz. TME rahatsızlıklarında artrosentez sonrası uygulanan yüksek molekül ağırlıklı HA enjeksiyonunun etki mekanizmasının enflamatuar hücrelerin apoptozu ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR

- Eklemde ağrı, sınırlı ağız açıklığı şikayetleriyle kliniğimize başvuran ve konservatif tedaviye cevap vermeyen, yaşları 15 ile 72 arasında ve yaş ortalamaları $32,58 \pm 14,78$ olan 34 hastanın 35 eklemi üzerinde gerçekleştirilen çalışmada; MAA ortalamalarında $27,94 \pm 5,20$ mm' den $29,82 \pm 5,94$ mm' ye kadar artış gözlemlendi. Tedavi öncesi ve sonrası elde edilen artış değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,01$). VAS ve fonksiyonel VAS değerlerinde sırasıyla $4,62 \pm 2,98$ ' den $3,11 \pm 2,91$ ' e ve $7,45 \pm 2,06$ ' dan $5,85 \pm 2,77$ ' ye gözlenen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0,001$).
- Alt çenenin sağ ve sol lateral ve protruziv hareketlerinde ortalama tedavi öncesi değerleri sırasıyla $5,20 \pm 2,54$ mm, $4,74 \pm 2,03$ mm, $3,80 \pm 1,53$ mm iken, artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrasında $5,94 \pm 2,84$ mm, $5,42 \pm 1,92$ mm, $4,25 \pm 1,72$ mm' ye artış gösterdiği kaydedildi. Çene hareketlerindeki ortalama değerlerdeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$ ve $p < 0,05$).
- Tedavi öncesi ve intraartiküler enjeksiyon sonrası sFas değerleri sırasıyla $0,16 \pm 0,04$ ve $0,13 \pm 0,05$ olarak bulunurken, değerler arasındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). Tedavi öncesi sFas ile CD44, NMP ve TLR2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmazken ($p > 0,05$), sFas ile TLR4 arasında pozitif yönde, istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir ilişki bulundu ($p < 0,01$). Artrosentez ve intraartiküler enjeksiyon sonrası sFas düzeyi ile CD44 arasında pozitif yönde ($r = 0,343$, $p < 0,05$). TLR4 arasında ise negatif yönde, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görüldü ($r = 0,399$, $p < 0,05$).
- Tedavi öncesi ve intraartiküler enjeksiyon sonrası NMP değerleri sırasıyla $11,81 \pm 9,03$ (9,76) ve $18,44 \pm 26,06$ (11,18) olarak bulundu ve bu artış literatürle paralellik sağlasa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$). Tedavi öncesi VAS ile sinoviyal sıvı örneklerindeki NMP düzeyi arasında negatif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kaydedilirken, efüzyon var olan eklemlerin tedavi öncesi

NMP düzeyleri, efüzyon izlenmeyen eklemlerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,007$). Efüzyon izlenmeyen hastalarda tedavi öncesi ve intraartiküler enjeksiyon sonrası NMP değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı ve yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$).

- Tedavi öncesi ve intraartiküler enjeksiyon sonrasında CD44 düzeyleri (sırasıyla $0,40\pm0,56$ ve $0,12\pm0,21$) arasındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). CD44' ün radyolojik bulgularla korelasyonunda, efüzyon var olan eklemlerin tedavi öncesi CD44 düzeyleri, efüzyon izlenmeyen eklemlerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,003$). Efüzyonun var olduğu eklemlerdeki tedavi sonrası CD44 değerlerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,017$).

- Tedavi öncesi ve intraartiküler enjeksiyon sonrasında TLR4 değerleri, $0,10\pm0,26$ ve $0,07\pm0,19$ iken, TLR2 değerleri ise sırasıyla $0,61\pm1,95$ ve $1,57\pm4,38$ olarak bulundu. TLR4 değerlerindeki azalma ve TLR2 değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

- OA izlenen eklemlerde, sinoviyal sıvıdaki sFas ve CD44 düzeylerinde görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p=0,047$ ve $p=0,028$), NMP, TLR 2 ve TLR 4 düzeylerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$). Tüm sinoviyal sıvı örneklerindeki immünolojik değerlerin OA varlığına ve yokluğuna göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

- Efüzyonun varlığında eklemlerde sFas değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$). Ancak efüzyon var olan eklemlerin tedavi öncesi CD44 düzeyleri, efüzyon izlenmeyen eklemlerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,003$). Efüzyonun var olduğu eklemlerdeki tedavi sonrası CD44 değerlerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,017$). Efüzyonun izlenmediği eklemlerdeki NMP düzeyleri, istatistiksel olarak anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,016$). Efüzyon var olan eklemlerin tedavi öncesi NMP ve

düzeyleri, efüzyon izlenmeyen eklemlerden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve yüksek bulundu ($p=0,007$). TLR 2 ve TLR 4 düzeylerindeki değişimler efüzyon varlığı olan ve olmayan eklemlerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

- Çalışmamızda elde edilen klinik, radyolojik ve immünolojik bulgular sonucunda, artrosentez sonrası uygulanan intraartiküler Hylan G-F 20' nin apoptozu indüklediğini, ancak apoptozun bu indüksiyonunun genel olarak enflamatuvar hücreler üzerinde gerçekleştiğini, tüm bunların sonucu olarak, hastanın eklem şikayetlerinin azaldığını düşünmekteyiz. Ancak özellikle temporomandibular eklemden gerçekleştirilecek immünolojik çalışmalarda daha hassas testlerin ve hastaların uzun dönem takiplerinin yapılmasını önermekteyiz.

7.KAYNAKLAR

1. Fletcher MC, Piecuch JF, Lieblich SE. Anatomy and Pathophysiology of the temporomandibular joint In "Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery 2nd Edition" Ed. By Michael Miloro, 933-947, 2004.
2. Okeson JP. Management of temporomandibular disorders and occlusion. 4th Edition, Mosby-Year Book Inc., St Louis 1998.
3. Obrez A, Gallo LM. Anatomy and Function of the TMJ. Laskin DM, Greene CS, Hylander WL, editörler. TMDs An Evidence Base Approach to Diagnosis and Treatment. Hanover Park, IL Quintessence Publishing Co. Inc; 35-52, 2006.
4. Hylander WL. Functional Anatomy and Biomechanics of the Masticatory Apparatus. Laskin DM, Greene CS, Hylander WL, editörler. TMDs An Evidence Base Approach to Diagnosis and Treatment. Hanover Park, IL Quintessence Publishing Co. Inc; 3-34, 2006.
5. Mongini F ve Schimid W. Craniomandibular and TMJ orthopedics. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin, 1989.
6. Stegenga B, Bont LGM. TMJ Disc Derangements. Laskin DM, Greene CS, Hylander WL, editörler. TMDs An Evidence Base Approach to Diagnosis and Treatment. Hanover Park, IL Quintessence Publishing Co. Inc; 125-136, 2006.
7. Cooper BC. Craniomandibular Disorders, Management of Facial, Head and Neck Pain. Philadelphia,153-254, 1989.
8. Bourbon B. Craniomandibular Examination and Treatment, Saunders Manuel of Physical Therapy Practice. Philadelphia, 669-715, 1995.
9. April EW.NMS Klinik Anatomi, 3.baskı. Istanbul: Nobel tıp kitabeveleri, 1998.
10. Caputo AA ve Standlee JP. Biomechanics in clinical dentistry, Quintessence Pub Co Inc., Chicago, 1987.
11. Stegegna B, de Bont LG, Boering G, Van Willigen JD. Tissue responses to degenerative changes in the temporomandibular joint: A review. J Oral Maxillofac Surg; 49 (10): 1079-1088, 1991.
12. Aksoy C. Temporomandibular Ağrı ve Disfonksiyon, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon;1391-1425, 2000.

13. Çimen A. *Anatomi*, 4. baskı Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1994.
14. Rayne J ve Phil D 1987 *Functional anatomy of the temporomandibular joint*, *British J of Oral Maxfac Surg*,25, 92-99, 1987.
15. Shillingburg HT, Brackett SE, Hobo S, Jacobi R, Whitsett LD 1997 *Fundamentals of fixed prosthodontics*. Quintessence Pub Co Inc., Chicago, 3rd Edition, 54: 78-84 1997.
16. Dijkgraaf LC, Debont LGM, Boering G, Liem RSB. *Structure of the normal sinoviyal membrane of temporomandibular joint: A review of literature*. *J Maxillofac Surg*, 54:332-338, 1996.
17. Simkin PA. *Physiology of normal and abnormal synovium*. *Semin Arthritis Rheum* 21:179, 1991.
18. Worrall JG, Wilkinson LS, Bayliss MT. *Zonal distribution of chondroitin-4-sulphate/dermatan sulphate and chondroitin 6-sulphate in normal and diseased human synovium*. *Ann Rheum Dis*, 53:35, 1994.
19. Bibb CA, Pullinger AG, Baldiocega F *The articular-synovial lining tissue system in the temporomandibular joint of young adults*, *J Orafacial Pain*, 7, 241-245, 1993.
20. Israel HA *Current concepts in the surgical management of temporomandibular joint disorders*, *J Oral Maxillofac Surg*, 52, 289-294, 1994.
21. Kaminishi RM, Davis CL. *Temporomandibular joint arthroscopic observations of superior space adhesions*. *Oral Maksillofac Surg Clin North Am*, 1:103, 1989.
22. Henderson B, Edwards JCV. *The sinoviyal lining: in health and disease*. London, England, Chapman and Hall, pp 41-71, 1987.
23. Nitzan DW, Samson B, Better H. *Long-term outcome of arthrocentesis for sudden onset, persistent, severe closed lock of the temporomandibular joint*. *J Oral Maxillofac Surg*, 55(2):151-7, 1997.
24. Blewis ME, Nugent-Derfus GE, Schmidt TA, Schmecher BL, Sah RL. *A Model of Synovial Fluid Lubricant Composition in Normal and Injured Joints*. *European Cells and Materials*, Vol. 13:pp 26-39, 2007
25. Schmid T, Lindley K, Su J, Soloveychik V, Block J, Kuettner K, Schumacher B. *Superficial zone protein (SZP) is an abundant glycoprotein in human synovial fluid and serum*. *Trans Orthop Res Soc* 26: 82, 2001.

26. Swann DA, Silver FH, Slayter HS, Stafford W, Shore E. The molecular structure and lubricating activity of lubricin isolated from bovine and human synovial fluids. *Biochem J* 225: 195-201, 1985.
27. Mazzucco D, Scott R, Spector M. Composition of joint fluid in patients undergoing total knee replacement and revision arthroplasty: correlation with flow properties. *Biomaterials* 25: 4433-4445, 2004.
28. Momberger TS, Levick JR, Mason RM. Hyaluronan secretion by synoviocytes is mechanosensitive. *Matrix Biol* 24: 510-519, 2005.
29. Wilkinson LS, Pitsillides AA, Worrall JG, Edwards JC. Light microscopic characterization of the fibroblast-like synovial intimal cell (synoviocyte). *Arthritis Rheum* 35: 1179-1184, 1992.
30. Levick JR, McDonald JN. Synovial capillary distribution in relation to altered pressure and permeability in knees of anaesthetized rabbits. *J Physiol* 419: 477-492, 1989.
31. Poli A, Mason RM, Levick JR. Effects of Arg- Gly-Asp sequence peptide and hyperosmolarity on the permeability of interstitial matrix and fenestrated endothelium in joints. *Microcirculation* 11: 463-476, 2004.
32. Coleman PJ, Scott D, Abiona A, Ashhurst DE, Mason RM, Levick JR. Effect of depletion of interstitial hyaluronan on hydraulic conductance in rabbit knee synovium. *J Physiol* 509: 695-710, 1998.
33. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage. Part II: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *J Bone Joint Surg Am* 79: 612-632, 1997.
34. Elsaid KA, Jay GD, Warman ML, Rhee DK, Chichester CO. Association of articular cartilage degradation and loss of boundary-lubricating ability of synovial fluid following injury and inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 52: 1746-1755, 2005.
35. Belcher C, Yaqub R, Fawthrop F, Bayliss M, Doherty M. Synovial fluid chondroitin and keratan sulphate epitopes, glycosaminoglycans, and hyaluronan in arthritic and normal knees. *Ann Rheum Dis* 56: 299-307, 1997.
36. Rabinowitz JL, Gregg JR, Nixon JE. Lipid composition of the tissues of human

- knee joints. II. Synovial fluid in trauma. *Clin Orthop Rel Res* 190: 292- 298, 1984.
37. Kubota E, Kubota T, Matsumoto J, Shibata T, Murakami KI. Synovial fluid cytokines and proteinases as markers of temporomandibular joint disease. *J Oral Maxillofac Surg*, 56: 192-8, 1998.
 38. Singh M, Detamore MS. Biomechanical properties of the mandibular condylar cartilage and their relevance to the TMJ disc. *J Biomech*, 42: 405- 17, 2009.
 39. Detamore MS, Athanasiou KA. Structure and function of the temporomandibular joint disc: implications for tissue engineering, *J Oral Maxillofac Surg*, 61, 494-506, 2003.
 40. Daniel J. McCarty. *Structure and Function of Proteoglycans, Arthritis and Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology*, Hollander JL, Febiger Philadelphia, 1: pp 245, 1989.
 41. Singh M, Detamore MS. Tensile properties of the mandibular condylar cartilage. *J Biomech Eng*, 130: 011009-17, 2008.
 42. Detamore MS, Hegde JN, Wagle RR, Almarza AJ, Montufar-Solis D, Duke PJ, Athanasiou KA. Cell type and distribution in the porcine temporomandibular joint disc. *J Oral Maxillofac Surg*, 64: 243-8, 2006.
 43. Mizoguchi I, Takahashi I, Nakamura M, Sasano Y, Sato S, Kagayama M, Mitani H. An immunohistochemical study of regional differences in the distribution of type I and type II collagens in rat mandibular condylar cartilage. *Arch Oral Biol*, 41: 863-9, 1996.
 44. Delatte M, Von den Hoff JW, van Rheden RE, Kuijpers-Jagtman AM. Primary and secondary cartilages of the neonatal rat: the femoral head and the mandibular condyle. *Eur J Oral Sci*, 112: 156-62, 2004.
 45. Teramoto M, Kaneko S, Shibata S, Yanagishita M, Soma K. Effect of compressive forces on extracellular matrix in rat mandibular condylar cartilage. *J Bone Miner Metab*, 21: 276-86, 2003.
 46. Gülen H. Temporomandibular eklem düzensizliği olan hastaların sinoviyal sıvısında önemli proenflamatör sitokinlerin etkisinin incelenmesi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2007.
 47. Nishimura M, Segami N, Kaneyama K, Suzuki T, Miyamaru M. Proinflammatory

- cytokines and arthroscopic findings of patients with internal derangement and osteoarthritis of the temporomandibular joint, *Br J Oral Maxillofac Surg*, 40, 68-71, 2002.
48. Barkin S, Weinberg S. Internal derangements of the temporo- mandibular joint: the role of arthroscopic surgery and arthrocentesis. *J Can Dent Assoc* 66:199-203, 2000.
49. Suzuki T, Segami N, Kaneyama K, Nishimura M, Nojima T. Specific expression of interleukin-1 beta in temporomandibular joints with internal derangement: correlation with clinical findings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 88:413-7, 1999.
50. Takahashi T, Kondoh T, Fukuda M, Yamazaki Y, Toyosaki T, Suzuki R. Proinflammatory cytokines detectable in synovial fluids from patients with temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85:135-41, 1998.
51. Kaneyama K, Segami N, Sun W, Sato J, Fujimura K. Analysis of tumor necrosis factor- α , interleukin-6, interleukin-1 β , soluble tumor necrosis factor receptors I and II, interleukin-6 soluble receptor, interleukin-1 soluble receptor type II, interleukin-1 receptor antagonist, and protein in the synovial fluid of patients with temporomandibular joint disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 99:276-84, 2005.
52. Abbas A, Lichtman AH, Pober JS. Cytokine In "Cellular and Molecular Immunology", WB Saunders Company Philadelphia, 235-269, 2000.
53. Clemens MJ. Cytokines Bios Scientific Publishers Ltd, Oxford, 57-75, 1991.
54. Bienvenu J. Exploration of cytokines in biological fluids, *CR Seances Soc Biol Fil*, 189, 545-55, 1995.
55. Tuglu C ve Kara SH. Depresyon, sitokinler ve bağışıklık sistemi, *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 142-150, 2003.
56. Alstergren P, Benavente C, Kopp S. Interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist, and interleukin-1 soluble receptor 2 in temporomandibular joint synovial fluid from patients with chronic polyarthritides, *J Oral Maxillofac Surg*, 61, 1171- 1178, 2003.

57. Shafer DM, Assael L, White LB, Rossomando EF. Tumor necrosis factor- α as a biochemical marker of pain and outcome in temporomandibular joints with internal derangements. *J Oral Maxillofac Surg* 52:786-91, 1994.
58. Fu K, Ma X, Zhang Z. Tumor necrosis factor in synovial fluid of patients with temporomandibular disorders, *J Oral Maxillofac Surg*, 53, 424-426, 1995.
59. Kubota E, Imamura H, Kubota T. Interleukin- 1 β and stromelysin activity of synovial fluid as possible markers of osteoarthritis in temporomandibular joint, *J Oral Maxillofac Surg*, 55, 20, 1997.
60. Jorgensen NR. Cytokines and osteoporosis, *Ugeski Laeger*, 160, 24-8, 1997.
61. Dinarello CA. Interleukin-1 family [IL-1F1, F2]. In: Thomson AW, Lotze MT, editors. *The cytokine handbook*, 4th ed. London: Elsevier Science; p. 643-68, 2003.
62. Tominaga K, Habu M, Sakedai M, Hirota Y, Takahashi T, Fukuda J. IL-1 α , IL-1 receptor antagonist and soluble type II IL-1 receptor in synovial fluid of patients with temporomandibular disorders. *Arch Oral Biol*, 49:493-9, 2004.
63. Sato J, Segami N, Nishimura M, Demura N, Yoshimura H, Yoshitake Y, et al. Expression of interleukin 6 in synovial tissues in patients with internal derangement of the temporomandibular joint. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 41:95-101, 2003.
64. Koch AE, Kunkel SL, Burrows JC, Evanoff HL, Haines GK, Pope RM, et al. Synovial tissues macrophage as a source of the chemotactic cytokine IL-8. *J Immunol* 147:2187-95, 1991.
65. Sato J, Segami N, Nishimura M, Yoshitake Y, Kaneyama K, Kitagawa Y. Expression of interleukin 8 in synovial tissues in patients with internal derangement of the temporomandibular joint and its relationship with clinical variables. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 103:467-74, 2007.
66. De Benedetti F, Pignatti P, Gerloni V, Massa M, Sartirana P, Caporali R, et al. Differences in synovial fluid cytokine levels between juvenile and adult rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 24:1403-9, 1997.
67. Trontzas P, Kamper EF, Potaminou A, Kyriazis NC, Kritikos H, Stavridis J. Comparative study of serum and synovial fluid interleukin-11 levels in patients with various arthrides. *Clin Bio- chem* 31:673-9, 1998.

68. Saklatvala J. Tumor necrosis factor alpha stimulates resorption and inhibites synthesis of proteoglycan in cartilage, *Nature*, 322, 547, 1986.
69. Amer EC ve Pratta MA. Independent effects of interleukin-1 on proteoglycan breakdown, proteoglycan synthesis, and prostoglandin E2 release from cartilage in organ culture, *Arthritis Rheum*, 32, 288-297, 1989.
70. Henderson B ve Pettipher ER. Arthritogenic actions of recombinant IL-1 and tumor necrosis factor alpha in the rabbit: evidence for synergistic interactions between cytokines in vivo, *Clin Exp Rheumatol*, 75, 306, 1998.
71. Okada Y, Shinmei M, Tanaka O. Localization of matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) in osteoarthritic cartilage and synovium, *Lab Invest*, 66, 680-690, 1992.
72. Kopp S, Wenneberg B, Clemenson E. Clinical misroscopical and biochemical investigation of synovial fluid from temporomandibular joints, *Scand J Dent Res*, 91, 33-41, 1983.
73. Yustin D, Kryshalskyj B, Galea A. Use of Hylan G-F 20 for viscosupplementation of the temporomandibular joint for the management of osteoarthritis. *J Orofacial Pain*, 9:375-379, 1993.
74. Whyte AM, McNamara D, Rosenberg I, Whyte AW. Magnetic resonance imaging in the evaluation of temporomandibular joint disc displacement – a review of 144 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 35:696-703, 2006.
75. Katzberg RW, Westesson PL, Tallents RH, Drake CM. Ana- tomic disorders of the temporomandibular joint disc in asymptomatic subjects. *J Oral Maxillofac Surg* 54:147-53; discussion 153-5, 1996.
76. Leonardi R, Loreto C, Barbato E, Caltabiano R, Lombardo C, Musumeci G, et al. MMP-13 (collagenase 3) localization in human temporomandibular joint discs with internal derangement. *Acta Histochem*, 110:314-8, 2008.
77. Leonardi R, Almeida LE, Trevilatto PC, Loreto C. Occurrence and Regional Distribution of TRAIL and DR5 on TMJ Disc: Comparison of Disc Derangement With and Without Reduction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 109:244-251, 2010.
78. Nebbe B, Major PW. Prevalence of TMJ disc displacement in a pre-orthodontic

- adolescent sample. *Angle Orthod*, 70: 454-63, 2000.
79. Sato S, Goto S, Kawamura H, Motegi K. The natural course of nonreducing disc displacement of the TMJ: relationship of clinical findings at initial visit to outcome after 12 months without treatment. *J Orofac Pain*, 11:315-20, 1997.
 80. Milam SB. Pathophysiology and epidemiology of TMJ. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 3:382-90; discussion 406-7, 2003.
 81. Eberhard D, Bantleon HP, Steger W. Functional magnetic resonance imaging of temporomandibular joint disorders. *Eur J Orthod* 22:489-97, 2000.
 82. Smolka W, Yanai C, Smolka K, Lizuka T. Efficiency of arthroscopic lysis and lavage for internal derangement of the temporomandibular joint correlated with Wilkes classification. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 106(3):317-23, 2008.
 83. Undt G, Murakami K, Rasse M, Ewers R. Open versus arthroscopic surgery for internal derangement of the temporomandibular joint: a retrospective study comparing two centres results using the jaw pain and function Questionnaire. *J Craniomaxillofac Surg*, 34:234-41, 2006.
 84. Tanaka E, Detamore MS, Mercuri LG. Degenerative disorders of the temporomandibular joint: etiology, diagnosis, and treatment. *J Dent Res*, 87(4):296-307, 2008.
 85. Ness GM. Temporomandibular joint arthrocentesis for acute or chronic closed lock. *J Oral Maxillofac Surg*, 54:112-20, 1996.
 86. Wilkes CH. Internal derangements of the temporomandibular joint. Pathological variations. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 115(4):469-77, 1989.
 87. Sembronio S, Albiero AM, Toro C, Robiony M, Politi M. Is there a role arthrocentesis in recapturing the displaced disc in patients with closed lock of the temporomandibular joint. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endol*, 105:274-80, 2007.
 88. Westesson PL, Rohlin M. Internal derangement related to osteoarthritis in temporomandibular joint autopsy specimens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 57:17-22, 1984.
 89. De Bont LGM, Boering G, Havinga P. Spatial arrangement of collagen fibrils in

- the articular cartilage of the mandibular condyle: A light microscopic and scanning electron microscopic study. *J Oral Maxillofac Surg*, 42:306, 1984.
90. Stegenga B, De Bont LGM, Boering G. Osteoarthritis as the cause of craniomandibular pain and dysfunction. *J Oral Maxillofac Surg* 47:249, 1989.
 91. Arnett GW, Milam SB, Gottesman L. Progressive mandibular retrusion-idiopathic condylar resorption. Part 1. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 110(2):117-27, 1996.
 92. Arnett GW, Milam SB, Gottesman L. Progressive mandibular retrusion-idiopathic condylar resorption. Part 2. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 110(1):8-15, 1996.
 93. Nitzan DW, Dolwick MF, Martinez GA. Temporomandibular joint arthrocentesis: a simplified treatment for severe, limited mouth opening. *J Oral Maxillofac Surg*, 49(11):1163-7, 1991
 94. Grootveld M, Henderson EB, Farrell A, Blake DR, Parkes HG, Haycock P. Oxidative damage to hyaluronate and glucose in synovial fluid during exercise of the inflamed rheumatoid joint. Detection of abnormal low-molecular-mass metabolites by proton-n.m.r. spectroscopy. *Biochem J*, 273(Pt 2):459-67, 1991.
 95. Tanaka E, Hanaoka K, van Eijden T, Tanaka M, Watanabe M, Nishi M, Kawai N, Murata H, Hamada T, Tanne K. Dynamic shear properties of the temporomandibular joint disc. *J Dent Res*, 82(3):228-31, 2003.
 96. Lajeunesse D., and Reboul, P. Subchondral bone in osteoarthritis: a biologic link with articular cartilage leading to abnormal remodeling. *Curr Opin Rheumatol*, 15, 628, 2003.
 97. De Bont LGM, Boering G, Liem RSB, Eulerink F and Westesson PL. Osteoarthritis and internal derangement of the temporomandibular joint: A light microscopic study. *J Oral Maxillofac Surg*, 44: 634-643, 1986.
 98. Marquelles-Bonnet RE, Carpentier P, Yung JP. Defrennes D and Pharaboz C. Clinical diagnosis compared with findings of magnetic resonance imaging in 242 patients with internal derangement of the TMJ. *J Orofac Pain*, 9: 244-253, 1995.
 99. Pereria FJ Jr, Lundh H, Westesson PL. Morphologic changes in the temporomandibular joint in different age groups: an autopsy investigation. *Oral*

- Surg Oral Med Oral Pathol, 78: 279-287, 1994.
100. Westesson PL, Katzberg RW, Tallents RH, Sanchez-Woodworth RE, Svensson SA. CT and MR of the temporomandibular joint: comparison with autopsy specimens. *Am J Roentgenol*, 148: 1165-71, 1987.
 101. Wiberg B, Wänman A. Signs of osteoarthritis of the temporomandibular joints in young patients: a clinical and radiographic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 86: 158-64, 1998.
 102. Nakayama Y, Narita T, Mori A, Uesaka S, Miyazaki K, Ito H. The effects of age and sex on chondroitin sulfates in normal synovial fluid. *Arthritis Rheum*, 46: 2105-8, 2002.
 103. Muir CB, Goss AN. The radiologic morphology of asymptomatic temporomandibular joints. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 70: 349-54, 1990.
 104. Guler N, Emlik D, Ataoglu H, Uçkan S. Normal ve disk deplasmanlı Temporomandibular eklemlerde osteoartrozun yaş ve cinsiyet ile ilişkisinin belirlenmesi. *Türk Oral Maksillofas Cer. Derg*, 8: 1-9, 2004.
 105. LeResche L, Saunders K, Von Korff MR, Barlow W, Dworkin SF. Use of exogenous hormones and risk of temporomandibular disorder pain. *Pain*, 69: 153-60, 1997.
 106. Milam SB, Aufdemorte TB, Sheridan PJ, Triplett RG, Van Sickels JE, Holt GR. Sexual dimorphism in the distribution of estrogen receptors in the temporomandibular joint complex of the baboon. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 64: 527-32, 1987.
 107. Dimitroulis G. The prevalence of osteoarthritis in cases of advanced internal derangement of the temporomandibular joint: a clinical, surgical and histological study. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 34: 345-9, 2005.
 108. Long X, Li J. Experimental study of anterior disc displacement in the rabbit temporomandibular joint. *Chin J Dent Res*, 3: 53-7, 2000.
 109. Sharawy M, Ali AM, Choi WS. Experimental induction of anterior disc displacement of the rabbit craniomandibular joint: an immuno-electron microscopic study of collagen and proteoglycan occurrence in the condylar cartilage. *J Oral Pathol Med*, 32: 176-84, 2003.

110. Dijkgraaf LC, de Bont LG, Boering G, Liem RS. The structure, biochemistry, and metabolism of osteoarthritic cartilage: a review of the literature Review. *J Oral Maxillofac Surg*, 53: 1182-92, 1995.
111. Milam SB, Zardeneta G, Schmitz JP. Oxidative stress and degenerative temporomandibular joint disease: a proposed hypothesis Review. *J Oral Maxillofac Surg*, 56: 214-23, 1998.
112. De Bont LG, Stegenga B. Pathology of temporomandibular joint internal derangement and osteoarthrosis. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 22: 71-4, 1993.
113. Lander HM, Tauras JM, Ogiste JS, Hori O, Moss RA, Schmidt AM. Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras)-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. *J Biol Chem*, 272: 17810-4, 1997.
114. Laskin DM. Etiology and pathogenesis of internal derangement of the temporomandibular joint. *Oral Maxillofac Surg Clin*, 6: 217-222, 1994.
115. Pufe T, Harde V, Petersen W, Goldring MB, Tillmann B, Mentlein R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces matrix metalloproteinase expression in immortalized chondrocytes. *J Pathol*, 202: 367-74, 2004.
116. Zardeneta G, Milam SB, Schmitz JP. Iron-dependent generation of free radicals: plausible mechanisms in the progressive deterioration of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg*, 58: 302-8, 2000.
117. Hutchins B, Patel H, Spears R. Attenuation of pro-inflammatory neuropeptide levels produced by a cyclooxygenase-2 inhibitor in an animal model of chronic temporomandibular joint inflammation. *J Orofac Pain*, 16: 312-6, 2002.
118. Balazs EA, Watson D, Duff IF, Roseman S. Hyaluronic acid in synovial fluid. I. Molecular parameters of hyaluronic acid in normal and arthritis human fluids. *Arthritis Rheum*, 10: 357-76, 1967.
119. Nitzan DW. The process of lubrication impairment and its involvement in temporomandibular joint disc displacement: a theoretical concept Review. *J Oral Maxillofac Surg*, 59: 36-45, 2001.
120. Nitzan DW, Etsion I. Adhesive force: the underlying cause of the disc anchorage to the fossa and/or eminence in the temporomandibular joint-- a new

- concept. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 31: 94-9, 2002.
121. Myers, S. L. Synovial inflammation in patients with early osteoarthritis of the knee. *J. Rheumatol.* 1662-1669, 1990.
 122. Smith, M. D., Triantafillou, S., Parker, A., Youssef, P. P. & Coleman, M. Synovial membrane inflammation and cytokine production in patients with early osteoarthritis. *J. Rheumatol.* 365-371, 1997.
 123. Loeuille, D. Macroscopic and microscopic features of synovial membrane inflammation in the osteoarthritic knee: correlating magnetic resonance imaging findings with disease severity. *Arthritis Rheum.* 3492-3501, 2005.
 124. Ayril, X., Pickering, E. H., Woodworth, T. G., Mackillop, N. & Dougados, M. Synovitis: a potential predictive factor of structural progression of medial tibiofemoral knee osteoarthritis—results of a 1 year longitudinal arthroscopic study in 422 patients. *Osteoarthritis Cartilage* 361-367, 2005.
 125. Lindblad, S. & Hedfors, E. Intraarticular variation in synovitis. Local macroscopic and microscopic signs of inflammatory activity are significantly correlated. *Arthritis Rheum.* 28, 977-986, 1985.
 126. Neame, R. L., Carr, A. J., Muir, K. & Doherty, M. UK community prevalence of knee chondrocalcinosis: evidence that correlation with osteoarthritis is through a shared association with osteophyte. *Ann. Rheum. Dis.* 62, 513-518, 2003.
 127. Walsh, D. A. Angiogenesis in osteoarthritis and spondylosis: successful repair with undesirable outcomes. *Curr. Opin. Rheumatol.* 16, 609-615, 2004.
 128. Walsh, D. A. Angiogenesis in the synovium and at Fernandez-Madrid, F. et al. Synovial thickening detected by MR imaging in osteoarthritis of the knee confirmed by biopsy as synovitis. *Osteoarthritis Cartilage* 15, 743-751, 2007.
 129. Shibakawa, A. Presence of pannus-like tissue on osteoarthritic cartilage and its histological character. *Osteoarthritis Cartilage* 11, 133-140, 2003.
 130. Sutton, S. The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis. *Vet. J.* 179, 10-24, 2009.
 131. Yuan, G. H. Characterization of cells from pannus-like tissue over articular cartilage of advanced osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 12, 38-45, 2004.

132. Fernandez-Madrid, F. Synovial thickening detected by MR imaging in osteoarthritis of the knee confirmed by biopsy as synovitis. *Magn. Reson. Imaging* 13, 177-183, 1995.
133. Sakkas, L. I. & Platsoucas, C. D. The role of T cells in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 56, 409-424, 2007.
134. Alsalameh, S. Cellular immune response toward human articular chondrocytes. T cell reactivities against chondrocyte and fibroblast membranes in destructive joint diseases. *Arthritis Rheum.* 33, 1477-1486, 1990.
135. Kotzin, B. L. Use of soluble peptide-DR4 tetramers to detect synovial T cells specific for cartilage antigens in patients with rheumatoid arthritis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97, 291-296, 2000.
136. Tan, L. C. Specificity of T cells in synovial fluid: high frequencies of CD8⁺ T cells that are specific for certain viral epitopes. *Arthritis Res. Ther.* 2, 154-164, 2000.
137. Shi, K. Lymphoid chemokine B cell-attracting chemokine-1 (CXCL13) is expressed in germinal center of ectopic lymphoid follicles within the synovium of chronic arthritis patients. *J. Immunol.* 166, 650-655, 2001.
138. Radstake, T. R. Expression of Toll-like receptors 2 and 4 in rheumatoid synovial tissue and regulation by proinflammatory cytokines interleukin-12 and interleukin-18 via interferon-gamma. *Arthritis Rheum.* 50, 3856-3865, 2004.
139. Bonnet, C. S. & Walsh, D. A. Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation. *Rheumatology (Oxford)* 44, 7-16, 2005.
140. Haywood, L. Inflammation and angiogenesis in osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 48, 2173-2177, 2003.
141. Furuzawa-Carballeda, J., Macip-Rodriguez, P. M. & Cabral, A. R. Osteoarthritis and rheumatoid arthritis pannus have similar qualitative metabolic characteristics and pro-inflammatory cytokine response. *Clin. Exp. Rheumatol.* 26, 554-560, 2008.
142. Benito, M. J., Veale, D. J., FitzGerald, O., van den Berg, W. B. & Bresnihan, B. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 64, 1263-1267, 2005.
143. Bondeson, J., Wainwright, S. D., Lauder, S., Amos, N. & Hughes, C. E. The role

- of synovial macrophages and macrophage-produced cytokines in driving aggrecanases, matrix metalloproteinases, and other destructive and inflammatory responses in osteoarthritis. *Arthritis Res. Ther.* 8, R187, 2006.
144. Honorati, M., Neri, S., Cattini, L. & Facchini, A. Interleukin-17, a regulator of angiogenic factor release by synovial fibroblasts. *Osteoarthritis Cartilage* 14, 345–352, 2005.
 145. Scanzello, C. R. Local cytokine profiles in knee osteoarthritis: elevated synovial fluid interleukin-15 differentiates early from end-stage disease. *Osteoarthritis Cartilage* 17, 1040–1048, 2009.
 146. Dreier, R., Grassel, S., Fuchs, S., Schaumburger, J. & Bruckner, P. Pro-MMP-9 is a specific macrophage product and is activated by osteoarthritic chondrocytes via MMP-3 or a MT1-MMP/MMP-13 cascade. *Exp. Cell Res.* 297, 303–312, 2004.
 147. Sellam J & Berenbaum F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Mol. Bio. Psyc. Disor.* January 16-18, 2012.
 148. Ogawa, K. Mature and activated osteoclasts exist in the synovium of rapidly destructive coxarthrosis. *J. Bone Miner. Metab.* 25, 354–360, 2007.
 149. Wu Q, Henry J L. Toll-Like Receptors: At the Intersection of Osteoarthritis Pathology and Pain. *Principles of Osteoarthritis - Its Definition, Character, Derivation and Modality-Related Recognition* 429-444, 2010.
 150. Saxne T, Lindell M, Mansson B, Petersson IF, Heinegard D. Inflammation is a feature of the disease process in early knee joint osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* 42:903-904, 2003.
 151. Sowers M, Jannausch M, Stein E, Jamadar D, Hochberg M, Lachance L. C-reactive protein as a biomarker of emergent osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 10:595-601, 2002.
 152. Kato T, Xiang Y, Nakamura H, Nishioka K. Neoantigens in osteoarthritic cartilage. *Curr Opin Rheumatol* 16:604-608, 2004.
 153. Scanzello CR, Plaas A, Crow MK. Innate immune system activation in osteoarthritis: is osteoarthritis a chronic wound? *Curr Opin Rheumatol* 20:565-572, 2008.
 154. Wakitani S, Imoto K, Mazuka T, Kim S, Murata N, Yoneda M. Japanese

- generalised osteoarthritis was associated with HLA class I--a study of HLA-A, B, Cw, DQ, DR in 72 patients. *Clin Rheumatol* 20:417-419, 2001.
155. Merlotti D, Santacroce C, Gennari L, Geraci S, Acquafredda V, Conti T, Bargagli G, Canto ND, Biagi F, Gennari C, Giordano N. HLA antigens and primary osteoarthritis of the hand. *J Rheumatol* 30:1298-1304, 2003.
 156. Riyazi N, Spee J, Huizinga TW, Schreuder GM, de Vries RR, Dekker FW, Kloppenburg M. HLA class II is associated with distal interphalangeal osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 62:227-230, 2003.
 157. Walsh DA, Bonnet CS, Turner EL, Wilson D, Situ M, McWilliams DF. Angiogenesis in the synovium and at the osteochondral junction in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 15:743-751, 2007.
 158. Pearle AD, Scanzello CR, George S, Mandl LA, DiCarlo EF, Peterson M, Sculco TP, Crow MK. Elevated high-sensitivity C-reactive protein levels are associated with local inflammatory findings in patients with osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 15:516-523, 2007.
 159. Hill CL, Hunter DJ, Niu J, Clancy M, Guermazi A, Genant H, Gale D, Grainger A, Conaghan P, Felson DT. Synovitis detected on magnetic resonance imaging and its relation to pain and cartilage loss in knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 66:1599-1603, 2007.
 160. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 26:239-57, 1972
 161. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-62.
 162. Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. *Science* 267: 1449-56, 1995.
 163. Gultetin N, Karaoglu K, Kucukates E. New discoveries in the mechanism of apoptosis and cell survival and novel potential therapeutic strategies. *Arch Turk Soc Cardiol* 36(2):120-130, 2008.
 164. Cooper GM. Programmed cell death. The cell. In: Cooper GM (ed) Chapter 14. Washington: ASM Pres; 592-6, 1994.
 165. Behnia M, Robertson KA, Martin WJ. Lung infections: Role of apoptosis in host defense and patogenesis of disease. *Chest* ; 117: 1771-7, 2000.

166. Lewin B. Apoptosis. Genes VI. In: Lewin B (ed). Chapter 36. New York: Oxford University Press. 1122-9, 1997.
167. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer* 2:647-56, 2002.
168. Grell M, Douni E, Wajant H, Löhden M. The transmembrane form of the tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* 83: 793-802, 1995.
169. Itoh N, Yonehara S, Ishii A, Yonehara M, et al. The polipeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell*, 66: 233-43, 1991.
170. Oehm A, Behrmann I, Falk W, Pawlita M, et al. Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily: sequence identity with the Fas antigen. *J Biol Chem*, 267: 10706-15, 1992;
171. McCarthy NJ, Bennett MR. Death signalling by the CD95/TNFR family of death domain-containing receptors. *Apoptosis: the molecular biology of programmed cell death*. Oxford: Oxford Uni Press; p. 200-34, 2002.
172. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. *Annu Biochem*, 69:217-45, 2000.
173. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature*, 407:770-6, 2000.
174. Larheim TA, Katzberg RW, Westesson PL, Tallents RH, Moss ME. MR evidence of temporomandibular joint fluid and condyle marrow alterations: occurrence in asymptomatic volunteers and symptomatic patients. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 30:113-7, 2001.
175. Güler N, Yatmaz P, Ataoglu H, Uçkan S, Emlik D. Temporo- mandibular internal derangement: correlation of mr findings with clinical symptoms of pain and joint sounds in patients with bruxing behaviour. *DentoMaxfac Radiol*, 32:304-9, 2003.
176. de Leeuw R, Boering G, Stegenga B, de Bont LG. Radiographic signs of the temporomandibular joint osteoarthritis and internal derangement 30 years after nonsurgical treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*

79:382-92, 1995.

177. Wakisaka S, Suzuki W, Takeba Y, Shimoyama Y, Nagafuchi H, Takeno N. Modulation by proinflammatory cytokines of Fas/Fas ligand-mediated apoptotic cell death of synovial cells in patients with rheumatoid arthritis (RA). *Clin Exp Immunol*, 114: 119-27, 1998.
178. Imirzalioglu P, Uckan S, Guler N, Haberal A, Uckan D. Synovial apoptosis in temporomandibular joint disc displacement without reduction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 108:693-698, 2009.
179. Lundorff P, van Geldorp H, Tronstad SE, Lalos O, Larson B, Johns DB, diZerega GS. Reduction of post-surgical adhesions with ferric hyaluronate gel; European study. *Hum Reprod*. 16:1982-1988, 2001.
180. Fletcher E, Jacobs JH, Markham RL. Viscosity studies on hyaluronic acid of synovial fluid in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clin Sci* 14: 653-660, 1955.
181. Urman B, Gomel V. Effect of hyaluronic acid on postoperative intraperitoneal adhesion formation and reformation in the rat model. *Fertil Steril*. 56:568-570, 1991.
182. Rodgers KE, Johns DB, Girgis W, Campeau J, diZerega GS. Reduction of Adhesion formation with hyaluronic acid after peritoneal surgery in rabbits. *Fertil Steril*. 67:553-558, 1997.
183. Reijnen MM, Meis JF, Postma VA, van Goor H. Prevention of intraabdominal abscesses and adhesions using a hyaluronic acid solution in a rat peritonitis model. *Arch Surg*. 134:997-1001, 1999.
184. Horton MR, McKee CM, Bao C, Liao F, Farber JM, Hodge-DuFour J, Pure E, Oliver BL, Wright TM, Noble PW. Hyaluronan fragments synergize with interferon-gamma to induce the C-X-C chemokines mig and interferon-inducible protein-10 in mouse macrophages. *J Biol Chem* 273: 35088-35094, 1998.
185. McKee CM, Lowenstein CJ, Horton MR, Wu J, Bao C, Chin BY, Choi AM, Noble PW. Hyaluronan fragments induce nitric oxide synthase in murine macrophages through a nuclear factor kappaB-dependent mechanism. *J Biol Chem* 272: 8013-8018, 1997.

186. Noble PW, McKee CM, Cowman M, Shin HS. Hyaluronan fragments activate an NF-kappa B/I-kappa B alpha autoregulatory loop in murine macrophages. *J Exp Med* 183: 2373–2378, 1996.
187. Saari H, Konttinen YT. Determination of synovial fluid hyaluronate concentration and polymerisation by high performance liquid chromatography. *Ann Rheum Dis* 48: 565–570, 1989.
188. Sato H, Takahashi T, Ide H, Fukushima T, Tabata M, Sekine F, Kobayashi K, Negishi M, Niwa Y. Antioxidant activity of synovial fluid, hyaluronic acid, and two subcomponents of hyaluronic acid. Synovial fluid scavenging effect is enhanced in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 31: 63–71, 1988.
189. Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M, Underhill CB, Seed B. CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell* 61: 1303–1313, 1990.
190. Henke CA, Roongta U, Mickelson DJ, Knutson JR, McCarthy JB. CD44-related chondroitin sulfate proteoglycan, a cell surface receptor implicated with tumor cell invasion, mediates endothelial cell migration on fibrinogen and invasion into a fibrin matrix. *J Clin Invest* 97: 2541–2552, 1996.
191. Sherman L, Sleeman J, Herrlich P, Ponta H. Hyaluronate receptors: key players in growth, differentiation, migration and tumor progression. *Curr Opin Cell Biol* 6: 726–733, 1994.
192. Leonardi R, Villari L, Piacentini C, Bernasconi G, Baciliero U, Travali S. CD44 standard form (CD44H) expression and distribution in dysfunctional human temporomandibular joint discs. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 29: 296–300, 2000.
193. Svec K, White J, Vaillant P, et al. Acute lung injury, fibroblast migration and invasion of a fibrin matrix is mediated by CD44. *J Clin Invest* 1996; 98: 1713–7.
194. Lesley J, Hyman R, Kincade PW. CD44 and its interaction with extracellular matrix. *Adv Immunol*, 54: 271–335, 1993.
195. Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell*, 75:1169–78, 1993.
196. Hasunuma T, Kayagaki N, Asahara H, Motokawa S, Kobato T, Yagita H, et al. Accumulation of soluble Fas in inflamed joints of patients with rheumatoid

- arthritis. *Arthritis Rheum*, 40: 80-6, 1997.
197. Nozawa K, Kayagaki N, Tokano Y, Yagita H, Okumura K, Hasimoto H. Soluble Fas (APO-1, CD95) and soluble Fas ligand in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 40:1126-9, 1997.
198. Berezney R, Coffey DS. Identification of a nuclear protein matrix. *Biochem Biophys Res Commun*, 60:1410-7, 1974.
199. Zeitlin S, Parent A, Silverstein S, Estradiatis A. Pre-mRNA splicing and the nuclear matrix. *Mol Cell Biol*, 7:111-20, 1987.
200. Miller TE, Beausang LA, Winchell LF, Winchell LF, Lidgard GP. Detection of nuclear matrix proteins in serum from cancer patients. *Cancer Res*, 52:422-7, 1992.
201. Gu Z, Shibata T, Cao Z, Feng J, Hu J. Chondrocyte apoptosis in temporomandibular joints with disc displacement. *J Oral Maxillofacial Surg* 60:1026-31, 2002.
202. Oral HB. XII. Turk klinik mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastaliklari kongresi. Toll benzeri reseptorleri s.71-72, 2005
203. Underhill DM, Ozinsky A. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Curr. Opin. Immunol*, 14: 103-10, 2002.
204. Beutler B. Toll-like receptors: how they work and what they do. *Curr. Opin. Hematol*, 9: 2-10, 2002.
205. Hashimoto C, Hudson KL, Anderson KV. The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell*, 52:269-79, 1988.
206. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart J-M, Hoffmann JA. The dorsoventral regulatory gene cassette *spatzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*, 86:973- 83, 1996.
207. Takeda K, Akira S. TLR signaling pathways *Seminars in Immunology* 16: 3-9, 2004
208. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway Jr CA. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*, 388:394-7, 1997.
209. Mollen KP, Anand RJ, Tsung A, Prince JM, Levy RM, Billiar TR. Emerging

- paradigm: toll-like receptor 4-sentinel for the detection of tissue damage. *Shock* 26:430-437, 2006.
210. Johnson GB, Brunn GJ, Kodaira Y, Platt JL. Receptor-mediated monitoring of tissue well-being via detection of soluble heparan sulfate by Toll-like receptor 4. *J Immunol* 168:5233-5239, 2002.
211. Ohashi K, Burkart V, Flohe S, Kolb H. Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the toll-like receptor-4 complex. *J Immunol* 164:558-561, 2000.
212. Smiley ST, King JA, Hancock WW. Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4. *J Immunol* 167:2887-2894, 2001.
213. Taylor KR, Trowbridge JM, Rudisill JA, Termeer CC, Simon JC, Gallo RL. Hyaluronan fragments stimulate endothelial recognition of injury through TLR4. *J Biol Chem* 279:17079-17084, 2004.
214. Cho ML, Ju JH, Kim HR, Oh HJ, Kang CM, Jhun JY, Lee SY, Park MK, Min JK, Park SH, Lee SH, Kim HY. Toll-like receptor 2 ligand mediates the upregulation of angiogenic factor, vascular endothelial growth factor and interleukin-8/CXCL8 in human rheumatoid synovial fibroblasts. *Immunol Lett* 108:121-128, 2007.
215. Lasarte JJ, Casares N, Gorraiz M, Hervas-Stubbs S, Arribillaga L, Mansilla C, Durantez M, Llopiz D, Sarobe P, Borrás-Cuesta F, Prieto J, Leclerc C. The extra domain A from fibronectin targets antigens to TLR4-expressing cells and induces cytotoxic T cell responses in vivo. *J Immunol* 178:748-756, 2007.
216. Gondokaryono SP, Ushio H, Niyonsaba F, Hara M, Takenaka H, Jayawardana ST, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H. The extra domain A of fibronectin stimulates murine mast cells via toll-like receptor 4. *J Leukoc Biol* 82:657-665, 2007.
217. Abdollahi-Roodsaz S, Joosten LA, Koenders MI, Devesa I, Roelofs MF, Radstake TR, Heuvelmans-Jacobs M, Akira S, Nicklin MJ, Ribeiro-Dias F, van den Berg WB. Stimulation of TLR2 and TLR4 differentially skews the balance of T cells in a mouse model of arthritis. *J Clin Invest* 118:205-216, 2008.
218. Carvajal WA, Laskin DM. Long-term evaluation of arthrocentesis for the treatment of internal derangements of the temporo- mandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 58:852-5, 2000.

219. Murakami KI, Hosaka H, Moriya Y, Segami N, Likuza T. Short-term treatment outcome study for the management of temporomandibular joint closed lock. A comparison of arthrocentesis to nonsurgical therapy and arthroscopic lysis and lavage. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 80:253-7, 1995.
220. Önder ME, Tüz H, Koçyiğit D, Kişnişçi R. Long-term results of arthrocentesis in degenerative temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 107:e1-e5, 2009.
221. Güler N. Kapalı kilitlemeli temporomandibular eklem hastalarında artrosentezin ağız açıklığına ve eklem içi yapılara etkisi ve manyetik rezonans görüntüleme ile bir yıllık takibi. Selçuk Üniversitesi, Doktora tezi, Konya, 2000.
222. Güler N, Uçkan S, İmirzalıoğlu P, Açıkgozoğlu S Temporomandibular internal derangement: relationship between joint pain and MR grading of effusion and total protein concentration in the joint fluid. *Dentomaxillofacial Radiol* 34;175-181, 2005
223. McNeill C. Management of Temporomandibular disorders: concepts and controversies, *J Prosthet Dent*, 77, 510-522, 1997.
224. Dworkin SF ve LeResche L. Research diagnostic criteria for temporomandibular disorders. Review, criteria examinations and specifications, critique, *J Craniomandib Disord*, 6, 301-355, 1992.
225. Quinn JH, Bazan NG. Identification of prostoglandin E2 and leukotriene B4 in the sinoviyal fluid of painful, dysfunctional temporomandibular joints. *J Oral Maxillofac Surg*, 48:968-971, 1990.
226. Ghosh P, Guidolin D. Potential Mechanism of Action of Intra-articular Hyaluronan Therapy in Osteoarthritis: Are the Effects Molecular Weight Dependent? *Seminars in Arthritis Rheuma*, 32:10-37, 2002.
227. Balazs EA, Denlinger JL. Viscosupplementation: A new concept in the treatment of osteoarthritis. *J Rheumatol*, 20:3-9, 1993.
228. Weiss C, Band P. Basic principles underlying the development of viscosupplementation for the treatment of osteoarthritis. *J Clin Res* 5: 2-11, 1999
229. Duygu G, Güler N, Kurkcu M. The effects of high molecular weight hyaluronic acid (Hylan G-F 20) on experimentally induced temporomandibular joint

- osteoarthritis: part II. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 40(12):1406-13, 2011.
230. Nishimura M, Segami N, Kaneyama K, Sato J, Fujimura K. Comparison of cytokine level in synovial fluid between successful and unsuccessful cases in arthrocentesis of the temporomandibular joint, *J Oral Maxillofac Surg*, 62, 284-287; discussion 287-288, 2004.
231. Sah RL, Chen AC, Chen SS, Li KW, Dimicco MA, Kurtis MS, et al. Articular cartilage repair. In: Koopman W, ed. *Arthritis and allied conditions—a textbook of rheumatology*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; p. 2264-73 2001.
232. Nagai H, Kumamoto H, Fukuda M, Takahashi T. Inducible nitric oxide synthase and apoptosis-related factors in the synovial tissues of temporomandibular joints with internal derangement and osteoarthritis. *J Oral Maxillofac Surg* 61:801-7, 2003.
233. Nakamura H, Kato R, Hirata A, Inoue M, Yamamoto T. Localization of CD44 and Hyaluronan in Rat Mandibular Condyle. *J Histochem & Cytochem.* 53(1): 113-120, 2005
234. Loreto C, Almeida LE, Trevilatto P, Leonardi R. Apoptosis in displacement temporomandibular joint disc with and without reduction: immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med* 65:1-8, 2010
235. Wetzig T, Petri JB, Mittag M, Hausteil UF. Serum levels of soluble Fas/APO-1 receptor are increased in systemic sclerosis. *Arch Dermatol Res* 290:187-90, 1998.
236. Iwama H, Akatsu H, Kuretake S, Tohma J, Nakamura N. Serum concentration of soluble Fas antigen and soluble Fas ligand in mother and newborn. *Arch Gynecol Obstet*, 263:108-10, 2000.
237. Sano H, Asano K, Minatoguchi S, Hiraoka J, Fujisawa K, Nishigaki K, et al. Plasma soluble Fas and soluble Fas ligand in chronic glomerulonephritis. *Nephron* 80:153-61, 1998.
238. Zeitlin S, Parent A, Silverstein S, Estradiatis A. Pre-mRNA splicing and the nuclear matrix. *Mol Cell Biol* 7:111-20, 1987.
239. Machner A, Baier A, Wille A, Drynda S, Pap G, Drynda A, Mawrin C, Buhling F, Gay S, Neumann W, Pap T. Higher susceptibility to Fas ligand induced

apoptosis and altered modulation of cell death by tumor necrosis factor-alpha in periarticular tenocytes from patients with knee joint osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 5(5): R253-61 2003

240. Hara H, Morita Y, Sato R, Ban Y. Circulating nuclear matrix protein in Graves' disease. *Endocr J* 49:343-7, 2002.
241. Sarialtın D. Temporomandibular eklemin internal düzensizliğinde artrosentez ve intraartiküler Hylan G-F 20 enjeksiyonunun ağrı ve ağız açıklığı üzerine etkisinin belirlenmesi. Yeditepe Üniversitesi, Master Tezi, İstanbul, 2009.
242. Amos N, Lauder S, Evans A, Feldmann M, Bondeson J. Adenoviral gene transfer into osteoarthritis synovial cells using the endogenous inhibitor IkappaBalpha reveals that most, but not all, inflammatory and destructive mediators are NFkappaB dependent. *Rheumatology (Oxford)* 45:1201-1209, 2006.
243. Kaneyama K, Segami N, Yoshimura H, Honjo M, Demura N. Increased levels of soluble cytokine receptors in the synovial fluid of temporomandibular disorders in relation to joint effusion on magnetic resonance images. *J Oral Maxillofac Surg* 68: 1088-1093, 2010.



YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
HASTANESİ

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİTESİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı / Protokol Numarası: Temporomandibular internal düzensizliği ve osteoartrit tedavisinde kullanılan yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asitin apoptoza etkisi/099

Araştırmanın Konusu: Çene ekleminde oluşan ve ağız açıklığını etkileyen ağrı ve fonksiyon kaybına neden olan osteoartrit ve redüksiyonsuz disk deplasmanının tedavisinde etkin olan artrosentez ve viskosuplementasyon-hyaluronik asit enjeksiyonu- işlemlerinde programlı hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozun rolünü immunohistokimyasal olarak incelemek

Araştırmanın Amacı: Konservatif tedaviye cevap vermeyen osteoartrit ve redüksiyonsuz disk deplasmanının tedavisinde artrosentez ve viskosuplementasyon-hyaluronik asit enjeksiyonu- işlemlerinde programlı hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozun etkinliğini değerlendirmek

Araştırmanın Süresi: 30 ay

Araştırmaya Katılan Gönüllü Sayısı: 30 kişi

Araştırmada İzlenecek Yöntem: Rutin tedavi uygulaması sedasyon altında uygulanacaktır.

Artrosentez işleminden sonra hyaluronik asit enjeksiyonundan önce eklemin yıkanması sırasında alınan sinovyal sıvının immunohistokimyasal olarak soluble FAS ölçümleri ELİSA testi ile yapılacaktır.

Alternatif Tedavi veya Girişimler: Rutin ve non invazif bir tedavi şekli olup alternatif tedavisi cerrahi müdahaledir.

Araştırma Sırasında Karşılaşılabilecek Riskler: Sedasyon işlemi sırasında gerekli bilgilendirmeler yapılacaktır. Artrosentez işlemi sırasında kulağınızın önünde ağrı ve su sesi duyulabilir basınç hissi hissedilebilir.



YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ
HASTANESİ

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİTESİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırma ilacının Olası Yan Etkileri: Hyaluronik aside bağlı bilinen herhangi bir yan etki tanımlanmamıştır.

Araştırma Süresince 24 Saat Ulaşılabilecek Kişi Adı / Soyadı / Telefonu:

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi ve kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası / Tarih *Muhsine EROE* *[Signature]* 24/11/2017

Açıklamaları Yapan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih *Doç. Dr. Klüba* *[Signature]* 24/11/2017
Doç. Dr. Nurhan GÜLER
Yeditepe Ün. Tıp Fak. Fak.
Ağız, Diş, Çene Hast. ve Cerrahisi Anabilim Dalı
Dip.Tes.No: 44650 Tes.Kod: 1134G1

Gerekliyse Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekliyse Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu asgari olarak yukarıda belirtilen başlıkları içermelidir.

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİTESİ KARAR FORMU

KURUL ADI	YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİTESİ
AÇIK ADRES	YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ Devlet Yolu Ankara Cad. No: 102-104, 34752 Kozyatağı, İstanbul
TELEFON	0216 578 47 97
E-POSTA	gulin.demir@yeditepe.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Temporromandibular Eklem İnternal Düzensizliği ve Osteoartrit Tedavisinde Kullanılan Yüksek Molekül Ağırlıklı Hyaluronik Asitin Apoptoza Etkisi.		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU			
	EUDRACT NUMARASI			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Nurhan Güler ve Dt. Ersin Hüseyin Selçuk		
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Ağız Diş Çene Hastalıkları Cerrahisi		
	KOORDİNATÖRÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI	Yok		
	KOORDİNATÖRÜN UZMANLIK ALANI	Yok		
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	T.C YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ		
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ	T.C YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ		
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ			
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ <input checked="" type="checkbox"/>	AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/>	FAZ 2 <input type="checkbox"/>	FAZ 3 <input type="checkbox"/>
		FAZ 4 <input type="checkbox"/>	BE/BY <input type="checkbox"/>	DİĞER <input type="checkbox"/>
	İL AÇ ARAŞTIRMA DİŞİ <input type="checkbox"/>	Diğer ise belirtiniz:		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	
			ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	17/03/2011		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>	
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>	
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>	
	İL AN	<input type="checkbox"/>	
YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		

YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR DEĞERLENDİRME KOMİTESİ KARAR FORMU



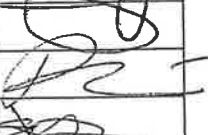

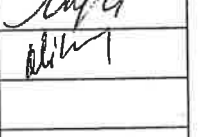
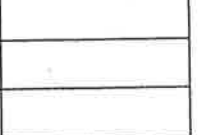
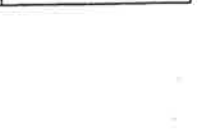
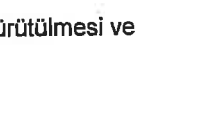
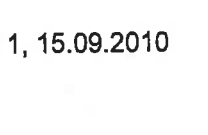

SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>
DiĞER	<input type="checkbox"/>

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 099	Tarih:22/03/2011
	Doç.Dr.Nurhan Güler ve Dt. Ersin Hüseyin Selçuk sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik bir sakınca bulunmadığına toplantıya katılan değerlendirme kurulu üyelerinin oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

DEĞERLENDİRME KOMİTESİ BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komitesi Kuruluş ve Çalışma Esasları.
---------------	---

DEĞERLENDİRME KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. R. Serdar ALPAN
DEĞERLENDİRME KOMİTESİ ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		İlişki *		Katılım **		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. R. Serdar Alpan	Farmakoloji	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. S. Sami Kartı	Hematoloji	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. M. Reha Cengizler	Pediyatri	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Serdar Öztezcan	Biyokimya	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yard. Doç. Dr. Baki Ekçi	Genel Cerrahi	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç Dr. Ferda Özkan	Patoloji	YÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yard. Doç Dr. Elif Vatanoğlu	Deontoloji	YÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Nural Bekiroğlu	Biyostatistik	MÜTF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Esra Can Say	Diş Has. Ted.	YÜDF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Meriç Köksal	Eczacılık	YÜEF	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ali Rıza Okur	Hukuk	YÜHF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Başar Atalay	Beyin Cerrahi	YÜTF	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

* : Araştırma ile ilişki
** : Toplantıda Bulunma

Önemli Not: Çalışmanızın Klinik Araştırmalar Değerlendirme Komitesi tarafından onaylanan protokole göre yürütülmesi ve çalışma protokolündeki değişikliklerin kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.

ÖZGEÇMİŞ

9 Temmuz 1982' de Denizli'de doğdu. İlköğrenimini 100. Yıl Mehmetçik ilkokulu' nda, orta ve lise öğrenimini Denizli Anadolu Lisesi' nde tamamladı. 2001 yılında İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi' ne girdi ve 2006 yılında mezun oldu. Aynı yıl Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalında master eğitime başlamış ve 2008 yılında mezun olmuştur. 2008 yılında başladığı doktora eğitimine devam etmektedir.