

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

YÜKSEK MOLEKÜL AĞIRLIKLIL
HYALÜRONİK ASİTİN (HYLAN G-F 20)
TEMPOROMANDİBULAR EKLEMDE
DENEYSEL OSTEOARTRİT ÜZERİNE
ERKEN VE GEÇ DÖNEMDEKİ ETKİSİNİN
RADYOLOJİK VE HİSTOLOJİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ

DOKTORA TEZİ

DİŞ HEKİMİ

GONCA DUYGU

DANIŞMAN

Doç. Dr. NURHAN GÜLER

İSTANBUL - 2010

ÖZET

Duygu G. Yüksek Molekül Ağırlıklı Hyalüronik Asitin (Hylan G-F 20) Temporomandibular Eklemde Deneysel Osteoartrit Üzerine Erken ve Geç Dönemdeki Etkisinin Radyolojik ve Histolojik Olarak Değerlendirilmesi. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, İstanbul 2010. Bu çalışmanın amacı, deneysel olarak temporomandibular eklemde (TME) oluşturulan osteoartrit üzerinde yüksek molekül ağırlıklı hyalüronik asit (HA) molekülü olan Hylan G-F 20'nin erken ve geç dönem etkisinin radyolojik ve histolojik olarak değerlendirilmesidir. Çalışma 24 adet erkek, 3,5 aylık ergin, 3,5 kg ağırlığında beyaz yeni zellanda tavşanı üzerinde yürütüldü. Tavşanların her iki eklemine 3 mg/ml'lik MIA solüsyonunun 50µl'lik miktarı enjekte edildi. 4 hafta bekleme süresinden sonra tavşanların bir eklemine intraartiküler Hylan G-F 20'nin 4 mg'ının 0,5 ml enjeksiyonu, diğer eklem ise kontrol grubu olarak 5ml % 0,9'luk serum fizyolojik solüsyonu enjekte edildi (3 hafta süre ile haftada bir kez). Her iki eklemde intraartiküler enjeksiyonları öncesi ve sonrası 4., 6. ve 8. haftalarda bilgisayarlı tomografi (BT) alındıktan sonra eklem örneklerindeki değişikliklerin histolojik değerlendirmesi yapıldı. BT üzerinde osteoartritik değişikliklerin radyolojik skorlaması yapıldı. Osteoartritin (OA) radyolojik belirtileri olan erozyon, skleroz, osteofit ve düzleşme mandibular kondilde medial, santral, ve lateral bölgelerde olmak üzere 3 bölgede skorlama yapılarak değerlendirildi. Histolojik değerlendirmede, kartilajda, osteokondral birleşimde, kondrositlerin görünümünde ve subkondral kemikte oluşan değişimler belirlendi. Deneysel OA üzerine yüksek molekül ağırlıklı HA'nın etkisinin 4., 6. ve 8. hafta takibindeki histolojik değerlendirmesinde, kartilajda (%50, %25, %25), osteokondral birleşimde (%62,5, %50, %37,5), kondrositlerin görünümünde (%87,5, %37,5, %12,5) ve subkondral kemikte (%62,5, %50, %50) oluşan değişimler izlendi. Her iki grubun 4. haftada kartilajda izlenen değişimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu

($p<0,05$). Kontrol grubunda 4. ve 6. haftalar arasında kartilajda izlenen değişimlerin anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenirken ($p<0,05$), 8. haftada her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). 4 ile 8. haftalarda her iki gruptaki kondrositlerin görünümündeki değişimler sırasıyla kontrol grubunda 6 (%75) ve 2 (%25), çalışma grubunda ise 7 (%87,5) ve 1 (%12,5) eklemde izlendi. Çalışma grubunda 4., 6. ve 8. haftalarda kondrositlerdeki değişimlerin anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi ($p<0,05$). Kontrol grubunda 4. haftada enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skor ortalaması sırasıyla $1,5\pm1,41$ ve $0,5\pm0,53$ olarak izlenirken, çalışma grubunda ise $3,25\pm2,31$ ve $1,25\pm0,89$ olarak bulundu. 4. hafta takip döneminde kontrol ve çalışma grubunda enjeksiyon öncesi BT değerleri ile kartilajda histolojik olarak izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon belirlenirken ($p<0,05$), 6. ve 8. haftalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Hylan G-F 20'nin OA'lı TME'de erken dönemde kartilajdaki değişimleri azalttığı ve kondrositlerdeki kümeleşme eklemde Hylan G-F 20'nin kondroprotektif özelliği ile hipertrofik bir cevap geliştirdiğı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Temporomandibular eklem, osteoartrit, viskosuplementasyon, Hylan G-F 20.

ABSTRACT

DUYGU G. The Short and Long-term Effects of high molecular weight hyaluronic acid (Hylan G-F 20) on Experimentally Temporomandibular Joint Osteoarthritis: A Radiologic and Histologic study. Yeditepe University Health Sciences Institute PHD Thesis in Oral Surgery, İstanbul, 2010. The aim of this study is to determine the radiologic, and histologic findings of short and long-term efficacy of high molecular weight HA (Hylan G-F 20) on experimental TMJ osteoarthritis. This study was performed on 24 male, 3.5 months old, 3.5 kg weight, and white New Zealand rabbits. Each rabbits received a bilateral intraarticular injection of 50 µl of a 3 mg/ml solution of sodium mono-iodoacetate (MIA). 4 weeks after MIA injection, 0,5ml of 4mg Hylan G-F 20 was injected into one joint and 5ml of 0,9% saline solution into the contralateral joints served as control. (once a week for 3 weeks). After computed tomography (CT) was obtained pre-injection and post-injection at the 4., 6., and 8. weeks. Radiologic scores of osteoarthritic changes were performed on CT. The radiographic signs of osteoarthritis (OA) (erosions, sclerosis, osteophytes, and flattening of the condyle) were localized and registered in 3 parts of the mandibular condyle; the medial, the central, and the lateral part. The histological changes of the cartilage, osteochondral junction, chondrocytes and subchondral bone were determined. Histological findings were obtained at 4., 6., and 8. weeks in cartilage (50%, 25%, 25%), osteochondral junction (62,5%, 50%, 37,5%), chondrocytes apperance (87,5%, 37,5%, 12,5%), and subchondral bony changes (62,5%, 50%, 50%), respectively. In the cartilage changes on condyle, there was a statistically significant difference between two groups at 4 weeks ($p<0,05$). A significant decrease of cartilage changes was found in controls between 4 and 6 weeks follow-up ($p<0,05$). The changes of chondrocytes apperance at 4 and 8 weeks were observed 6 (75%) and 2 (25%) joints in controls, 7 (87,5%) and 1 (12,5%) in experimental joints, respectively. The changes of chondrocyte apperance were significantly decreased in

experimental group at all follow-ups ($p < 0,05$). Cartilage changes were observed in 6 (75%) controls and 4 (50%) experimental joints at 4 weeks follow-up. The mean pre and post-injection BT scores in both groups at 4 weeks were $1,5 \pm 1,41$, $0,5 \pm 0,53$ and $3,25 \pm 2,31$, $1,25 \pm 0,89$, respectively. A positive correlation between pre-injection BT values and histologically cartilage changes was found at 4 weeks follow-up ($p < 0,05$). We concluded that intraarticular injection of Hylan G-F 20 decreased the cartilage changes in early stage of TMJ OA and the clustering of chondrocytes demonstrated that chondroprotective effects of Hylan G-F 20 caused by the hypertrophic responses.

Keywords: Temporomandibular Joint, osteoarthritis, viscosupplementation, Hylan G-F 20.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca disiplinli tavrı, güler yüzü ve desteği ile bölümümüzde uyum içerisinde çalışmamızı sağlayan, ilk günden itibaren bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, mükemmeliyetçilik ilkesi ile hatalı olduğum anlarda otoriter tavrıyla bana doğruları gösteren ve desteğini hep hissettiğim değerli hocam, Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. M. Kemal Şençift'e**,

Doktora eğitimim sırasında mesleki tecrübelerini, cerrahi konusundaki engin bilgilerini bizlerle paylaşmaktan çekinmeyen, zorlandığım anlarda verdiği destek ve güven ile her şeyi mümkün kılan ve bu çalışmanın fikir aşamasından bugüne kadar her aşamasında bulunan, desteğini ve özel zamanını esirgemeyen, fikir ve görüşlerine çok değer verdiğim, hem bir eğitimci olarak hem de hayata bakışını örnek aldığım değerli tez danışmanım Sayın **Doç. Dr. Nurhan Güler'e**,

Bu çalışmanın histolojik incelemesinin değerlendirilmesinde değerli zamanını ayıran Çukurova Üniversitesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın **Doç. Dr. Mehmet Kürkcü'ye** ve histolojik verilerin değerlendirilmesinde yardımını esirgemeyen ve büyük fedakarlıklarla çalışan Sayın **Dt. Burcu Çam'a**,

Bu çalışmanın deneysel kısmının her aşamasında en az benim kadar emeği olan **Dt. Can Alanoğlu'na**,

Bu çalışmanın deneysel kısmının gerçekleşmesinde yardımlarını esirgemeyen Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi çalışanlarına,

Beş yıllık eğitimim sırasında arkadaşlığını her zaman hissettiğim, karşılaştığım sorunlarda akılcı yaklaşımı ile bulduğu pratik çözümlerle beni

şşırtan ve her zaman olduğu gibi tez çalışmamda da beni yalnız bırakmayan sevgili dostum **Dr. Fatih Cabbar'a**,

Doktora eğitimim sırasında birlikte çalıştığım ve bana destek olan Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim görevlilerine, çalışma arkadaşlarıma ve hemşire arkadaşlarıma,

Yaşamımın her döneminde desteklerini ve sevgilerini hep hissettiğim, aldığım kararlarda her zaman yanımda olan, bana verdikleri yaşam anlayışı ile karşıma çıkan tüm zorlukları aşmamda büyük payı olan, iyi bir eğitim alabilmem için verdikleri maddi ve manevi destekleri ile büyük emekler veren ve benim için büyük önemi olan bu günde de yanımda olan babam **Emin Duygu'ya**, annem **Altun Duygu'ya**, ablam **Emel Duygu Ünal'a** ve eşi **Tuncay Ünal'a**,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma proje numarası 107S269 olan, bilimsel ve teknolojik araştırma projeleri destekleme programı dahilinde "Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu" tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	x
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
ŞEKİLLER	xiv
RESİMLER	xv
TABLolar	xix
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Temporomandibular Eklem Rahatsızlıklarının Sınıflandırılması	8
2.2. Osteoartrit	11
2.3. Osteoartritin Patogenezi	14
2.4. Deneysel Osteoartrit Mekanizması	20
2.5. Osteoartritin Teşhisinde Kullanılan Görüntüleme Teknikleri	24
2.6. Osteoartritin Tedavisi	25
MATERYAL VE METOD	32
3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	32
3.2. Radyolojik Görüntüleme	34
3.3. Unkalsifiye Boyama Tekniği	37

	Sayfa
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	42
BULGULAR	43
TARTIŞMA	69
SONUÇLAR	88
KAYNAKLAR	90
EK-1: Etik Kurul Onay Belgesi	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

ark.	Arkadaşları
TME	Temporomandibular eklem
HA	Hyalüronik asit
PG	Proteoglikan
GAG	Glikozaminoglikan
AAOP	Amerikan orofasiyal ağrı akademisi
IHS	Uluslar arası baş ağrısı birliği
RDC/TMD	Araştırma amaçlı tanı ölçütleri
OA	Osteoartrit
ID	İnternal düzensizlik
VEGF	Vascular endothelial growth factor
MMP	Matrix metalloproteinase
TIMP	Tissue inhibitor of metalloproteinase
IL	İnterlökin
TNF	Tumor necrosis factor
INF	Interferon
TGF	Transforming growth factor
mRNA	Messenger ribonucleic acid
MIA	Sodium mono iodo acetate
BT	Bilgisayarlı tomografi
°C	Santigrat derece
μ	Mikron

μl	Mikronlitre
α	Alfa
β	Beta
l	Litre
mg	Miligram

ŞEKİLLER

		Sayfa
Şekil 2.1.	RDC/TMD sınıflamasındaki Eksen I	10
Şekil 2.2.	OA patogenezinde kartilaj ve kemikte yıkımın başlaması	18
Şekil 2.3.	Kondrosit görünümünde izlenen değişimlerin 4., 6. ve 8. haftalarda kontrol ve çalışma grubundaki dağılımı	55

RESİMLER

	sayfa
Resim 3.1. Tavşanların barındırılması	33
Resim 3.2. MIA'ın intraartiküler enjeksiyonu	33
Resim 3.3. İntraartiküler enjeksiyonda kullanılan Hylan G-F 20	34
Resim 3.4. Glenoid fossa ile beraber kondil örnekleri	34
Resim 3.5. Tavşanlardan BT alınması	35
Resim 3.6. TME kartilaj tabakalarının şematik görüntüsü	39
Resim 3.7. Tavşan kondilinin normal histolojik görüntüsü	39
Resim 3.8. Kondiller kartilajda izlenen hiposellüleritenin histopatolojik görüntüsü	40
Resim 3.9. Kondiller kartilajda izlenen hiposellüleritenin histopatolojik Görüntüsü	40
Resim 3.10. Kondiller kartilajda izlenen kümeleşmenin histopatolojik görüntüsü	41
Resim 3.11. Kondiller kartilajda izlenen kalınlaşmanın histopatolojik görüntüsü	41
Resim 3.12. Kondiller kartilajda izlenen derin invajinasyon	42
Resim 4.1. Kartilajda kalınlaşma, normal osteokondral birleşim ve kondrositlerde kümeleşme (Kontrol grubu, 4. hafta)	45

Resim 4.2.	Kartilajda incelme, zayıf osteokondral birleşim, subkondral kemikte trabeküler yapıda artış ve kondrositlede kümeleşme (Çalışma grubu, 4. hafta)	45
Resim 4.3.	Kartilajda incelme (Çalışma grubu, 4. hafta)	46
Resim 4.4.	Kartilajda kalınlaşma, subkondral kemikte trabeküler yapıda artış ve kondrositlerde kümeleşme (Çalışma grubu, 4. hafta)	46
Resim 4.5.	Kartilajda kalınlaşma, derin invajinasyon ve kondrositlerde kümeleşme (Çalışma grubu, 4. hafta)	47
Resim 4.6.	Kartilajda kalınlaşma, osteokondral birleşimde zayıf birleşim, subkondral kemikte trabeküler yapıda artış (Kontrol grubu, 6. hafta)	48
Resim 4.7.	Kartilaj, osteokondral birleşimde ve kondrositlerde normal görünüm (Kontrol grubu, 6. hafta)	49
Resim 4.8.	Derin invajinasyon, subkondral kemikte trabeküler yapıda artış ve kondrositlerde kümeleşme (Çalışma grubu, 6. hafta)	49
Resim 4.9.	Kartilajda incelme, osteokondral birleşimde invajinasyon, trabeküler yapıda artış ve kondrositlerde kümeleşme (Çalışma grubu, 6. hafta)	50
Resim 4.10.	Kartilaj normal görünümde, osteokondral birleşimde invajinasyon, trabeküler yapıda artış ve kondrositlerde kümeleşme (Kontrol grubu, 8. hafta)	51
Resim 4.11.	Derin invajinasyon ve kondrositlerde kümeleşme (Kontrol grubu, 8. hafta)	52

- Resim 4.12.** Derin invajinasyon ve kondrositlerde kümeleşme
(Kontrol grubu, 8 hafta) 52
- Resim 4.13.** Kartilajda kalınlaşma, trabeküler yapıda azalma ve
kondrositlerde normal görünüm (Çalışma grubu, 8. hafta) 53
- Resim 4.14.** Kartilajda kalınlaşma, trabeküler yapıda azalma ve
kondrositlerde normal görünüm (Çalışma grubu, 8. hafta) 53
- Resim 4.15.** Enjeksiyon öncesi kontrol ve çalışma grubunun BT
görüntüsünde 4. hafta kontrol grubunda kondilin lateralinde,
çalışma grubunda ise santral ve lateralde orta dereceli erozyon
(Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu) 64
- Resim 4.16.** Enjeksiyondan 4 hafta sonra kontrol ve çalışma grubunun BT
görüntüsünde kontrol grubunda kondilin lateralinde, çalışma
grubunda ise santral ve lateralde minör erozyon
(Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu) 64
- Resim 4.17.** Enjeksiyondan öncesi BT görüntüsünde 6. hafta kontrol grubunda
kondilin lateralinde, çalışma grubunda ise santral ve lateralde
orta dereceli erozyon (Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu) 66
- Resim 4.18.** Enjeksiyondan 6 hafta sonra BT görüntüsünde kontrol grubunda
kondilin santral ve lateralinde minör erozyon çalışma grubunda
ise herhangi bir değişim izlenmedi
(Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu) 66
- Resim 4.19.** Enjeksiyondan öncesi BT görüntüsünde 8. hafta kontrol grubunda
kondilin lateralde hafif erozyon, çalışma grubunda ise santral ve
lateralinde orta dereceli erozyon ve düzleşme
(Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu) 68

Resim 4.20. Enjeksiyondan 8 hafta sonra BT görüntüsünde kontrol grubunda kondilin lateralinde ve çalışma grubunda lateralde hafif erozyon (Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu) 68

TABLolar

	Sayfa
Tablo 4.1. Kontrol ve çalışma grubunda kondil tabakalarındaki değişimlerin 4., 6., ve 8. haftalara göre dağılımı	44
Tablo 4.2. Kontrol ve çalışma grubundaki kartilaj tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 4. haftadaki dağılımı	56
Tablo 4.3. Kontrol ve çalışma grubundaki kartilaj tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 6. haftadaki dağılımı	57
Tablo 4.4. Kontrol ve çalışma grubundaki kartilaj tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 8. haftadaki dağılımı	58
Tablo 4.5. Kontrol ve çalışma grubundaki osteokondral birleşim tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 4. haftadaki dağılımı	59
Tablo 4.6. Kontrol ve çalışma grubundaki osteokondral birleşim tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 6. haftadaki dağılımı	60
Tablo 4.7. Kontrol ve çalışma grubundaki osteokondral birleşim tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 8. haftadaki dağılımı	61
Tablo 4.8. Kontrol ve çalışma grubundaki eklemlerin enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skorları ortalama değerleri	62
Tablo 4.9. Kontrol ve çalışma grubunda 4. hafta BT skorlarının dağılımı	63
Tablo 4.10. Kontrol ve çalışma grubunda 6. hafta BT skorlarının dağılımı	65

Tablo 4.11. Kontrol ve çalışma grubunda 8. hafta BT skorlarının dağılımı 67

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Osteoartritin (OA) patogenezi, biyomekanik, biyokimyasal, enflamatuvar ve immünolojik reaksiyonların etkisiyle, artiküler kartilajda fokal ve progresif yıkım ile başlayan, subkondral kemikte ve eklem yapılarının tamamında patolojik değişikliklere neden olabilen bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Temporomandibular eklemde (TME) kondil kartilajının diğer sinoviyal eklemlerden farkı; kondilin kartilaj yüzeyi kalın, çok tabakalı kollejen içeren fibrokartilajdan oluşmasıdır.

Artiküler yüzeylerin altında oluşan herhangi bir değişiklik, tamir için bir girişim olarak kabul edilse de, bu girişimin belli bir noktası kemik, kartilaj veya yumuşak dokuların kırılmasına yol açan kuvvetlere karşı koyamaz. Artiküler disk dokusunda olduğu gibi mandibular kondil ve artiküler eminensi kaplayan artiküler kartilaj dejeneratif değişikliklerden etkilenebilmektedir. Kartilajın dejeneratif değişikliği fiziksel özelliklerini değiştirip, sıkıştırma ve makaslama streslerine karşı koyma yeteneğini etkilemektedir. Artiküler yüzeyler arasında sürtünmenin artması ile eklem hareketleri bozulabilmekte ve kartilaj, kapsül, ligamentler, sinoviyal membran, subkondral kemik ve kaslar gibi komşu dokularda patolojik cevapların oluşmasına yol açmaktadır.

Kartilaj yıkımının sürekli stimuluslarla ekleme aşırı yüklenmeden kaynaklanabileceğini ve mekanik strese intraartiküler dokuların moleküler patolojik cevap verebileceği bildirilmektedir. Mekanik stres etkenleri; hipoksi-reperfüzyon, nörolojik inflamasyon, serbest radikaller ve matrixi yıkan enzimlerin aktivasyonuna yol açan direkt mekanik hasarlar olarak tanımlanmaktadır.

OA tedavisinde intraartiküler kortikosteroid enjeksiyonunun yaygın kullanım alanı bulunmasına rağmen, tek intraartiküler enjeksiyonunun

semptomların giderilmesinde başarılı sonuçlar verdiği ancak ilave enjeksiyonların, kartilaj hasarı, kemik nekrozu, yumuşak doku atrofisi gibi komplikasyonlarıyla varolan eklem hastalığının ilerlemesine neden olduğu bildirilmektedir. Kortikosteroidlerin ileri sürülen zararlı yan etkileri, yeni terapötik ajanların arayışını gündeme getirmiştir. Eklemün lubrikasyonunda ve eklem kırırdağının korunmasında önemli rol oynayan ve terapötik bir ajan olan hyalüronik asitin (HA) kronik TME OA'lı hastalara uygulandığında kortikosteroidlerle aynı terapötik etkiyi gösterdiği ve yan etki oluşturma riskinin oldukça düşük olduğu bildirilmektedir.

Sinoviyal membran tarafından üretilen ve sinoviyal sıvının ana maddesinin büyük bir kısmını oluşturan HA, eklemün lubrikasyonunda, artiküler kartilajın korunmasında, diskin ve kartilajın avasküler bölümlerinin beslenmesinde ve glikozaminoglikanlara (GAG) bağlanarak kartilajın oluşumunda yapısal olarak rol oynamaktadır. HA eklem içinde homojen olarak dağılmayıp, eklem yüzeyleri üzerinde yoğunlaşmaktadır, böylece eklem yüzeyinin kayganlığını sağlamaktadır. TME'de enflamasyon sinoviyal sıvı içindeki HA'nın moleküler ağırlığını ve konsantrasyonunu azalttığı, bu değişimin sinoviyal sıvının şok abzorbsiyonu ve kayganlaştırma gibi koruyucu fizyolojik etkilerini azalttığı bilinmektedir. Diz eklemünde yapılan hayvan çalışmalarında, HA'nın azalmasına bağlı olarak, kartilajın biyomekanik özelliklerinin ve metabolizmasının da değiştiği gösterilmektedir. Viskozite ve moleküler bariyer fonksiyonunun zayıflamasıyla, kartilaj matrikste bulunan proteoglikanların (PG) korunması ve enflamatuar cevabın sınırlandırılması güçleşmektedir. Bu nedenle, eksojen yolla uygulanan HA'nın eklem lubrikasyonunun düzenlenmesinde, endojen yüksek molekül ağırlıklı HA sentezinin uyarılmasında ve sinoviyal sıvının normal reolojik özelliklerinin sağlanmasında etkili olabileceği düşünülmektedir. Eksojen HA'nın kondrosit metabolizmasını etkileyerek, endojen HA, PG, GAG ve kollajen sentezini ve apoptozu düzenlenlediği, proteolitik enzimleri ve enflamatuar cevabı

önleyerek, artiküler kartilajda tamir cevabının gelişmesinde de etkili olduğu ileri sürülmektedir.

Düşük molekül ağırlıklı HA'nın intraartiküler enjeksiyonu ile OA'nın tedavisi, TME ve vücudun diğer eklemlerindeki etkileri tanımlanmış ve rutin klinik uygulamada kullanılmaktadır. Farklı molekül ağırlıkta HA'nın OA'ya etkisinin değerlendirildiği birçok çalışma bulunmasına rağmen, molekül ağırlık kavramı konusunda bir görüş birliğine varılamamıştır. Hayvan ve insanlar üzerinde yüksek molekül ağırlıklı HA enjeksiyonu sonuçlarının vücudun diğer eklemlerinde oldukça başarılı olması; reolojik özelliğinin ve retansiyon süresinin düşük moleküllüye oranla uzun olması, HA ile çapraz bağı nedeniyle serbest radikal yıkımına dirençli olması ve enjeksiyon sıklığının az olmasıyla açıklanmaktadır. Tüm bilinen bu özellikleriyle diz, kalça, omuz eklemindeki OA'da yüksek molekül ağırlıklı HA ile yapılan çalışmalarda, hafif ve orta dereceli OA'da yararlı olduğu bildirilmesine rağmen, TME'deki etkileri tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı; deneysel olarak TME'de oluşturulan osteoartrit üzerinde Hylan G-F 20'nin erken ve geç dönemde etkisinin radyolojik ve histolojik olarak belirlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

Temporomandibular eklem (TME); dış kulak yolunun anteriorunda, temporal kemiğin glenoid fossası ile mandibula kondili tarafından oluşturulan diartrodial bir eklem olup, morfolojisi bireyler arasında ve aynı bireyin sağ ve sol eklemleri arasında farklılık gösterebilmektedir (1). Menteşe ve kayma hareketi yapan her iki eklem birlikte fonksiyon görür. TME'nin vücudun diğer sinoviyal eklemlerinden farkı, kraniyum ile bilateral artikülasyon yapması, oklüzyonun eklem hareketini ve kondil pozisyonunu etkilemesi ve artiküler yüzeylerin hyalin kartilaj yerine fibrokartilaj yapıda olması olarak tanımlanmaktadır. TME'nin sert dokuları; glenoid fossa, artiküler eminens ve kondil iken, yumuşak dokularını eklem diski, retrodiskal dokular, eklem kapsülü ve eklem ligamanları oluşturur (1).

Sinoviyal membran artiküler yüzeyleri çevreleyen ve diski saran fibröz kapsülün en iç tabakasını oluşturur. TME'de bulunan sinoviyal membranın fonksiyonel, biyokimyasal ve metabolik özelliklerinin, diğer eklemlerdeki sinoviyal membranlara benzediği ileri sürülmektedir. Sinoviyal membran yeni doğanda disk ve eklemün tüm iç yüzeyini kaplarken, fonksiyonun başlaması ile sadece kapsülün iç yüzeyinde kalarak artiküler yüzeylerden kaybolur. Ancak, disk, temporal bölge ve kondil yüzeyini kaplayan fibröz doku ile süreklilik göstermektedir (2). Hareket esnasında, medialde ve lateralde mandibulayı sıkıca sararak stabilize eder, ancak anteriorda ve posteriorda mandibular harekete izin verecek kadar gevşektir. Sinoviyal membran 2 tabakadan oluşur. Eklem boşluğuna bakan hücre tabakası "sinoviyal intima" ve destekleyici tabaka olan subintimal (subsinoviyal) tabakadır (2). Sinoviyal intima tabakası ekstrasellüler matriks ve hücrelerden oluşmaktadır. Sinoviyal intima hücreleri birbirine ve ekstrasellüler matrikse sıkı bir şekilde bağlı olup, kuvvetli eklem hareketleri sırasında sinoviyal sıvının yüzeyden hızlı çıkışını önlemektedir. Sinoviyal intimadaki ekstrasellüler matriks, hyalüronik asit (HA), proteoglikan

(PG), kollajen, ince mikrofibriller, uzun aralıklı lifler, yapısal glikoproteinler, su ve elektron yoğunluğu orta derecede olan amorf bileşenlerden oluşmaktadır (3). Elektron mikroskopunda, sinoviyal intimada Tip A ve Tip B olmak üzere iki farklı tipte hücrelerin bulunduğu gösterilmektedir (2). Tip B hücreleri tarafından üretilen HA molekülünün, eklemde mekanik ve metabolik olarak etkili olduğu bildirilmektedir (4). HA'nın mekanik etkisi eklem boşluğu içerisinde lubrikasyon sağlayarak, eklem yüzeylerinde oluşan sürtünmeyi azaltması ile açıklanırken, metabolik etkisi ise, kartilaj ve diskin avasküler bölgelerini beslemesi, HA'nın fosfolipid ve metabolitleri ile kompleks oluşturup, sinovial sıvıda enflamatuvar sitokinlerin seviyesini azaltarak kartilaj yıkımının önlemesi olarak ileri sürülmektedir (5,6). Bununla birlikte, HA'nın PG ve glikozaminoglikan (GAG) molekülüne bağlanmasıyla PG agregatı oluşturarak, kartilajda yapısal rol oynadığı bildirilmektedir (4). PG agregatı kollajen ağ tarafından sarılarak kartilaj matriksinin esas içeriğini oluşturur ve su infiltrasyonuna izin vermesiyle; kartilaj normal eklem yüklenmelerine karşı daha esnek bir doku haline getirir (4). Sinoviyal membranın diğer tabakası olan subintimal tabakada, fibroblast, makrofaj ve mast hücreleri bulunur ve kan damarlar ile lenfatiklerden zengindir. Normal eklem fizyolojisi ve fonksiyonunun korunmasında, sinoviyal membranın önemli fonksiyonları vardır;

1. Sinoviyal sıvıdaki besinler, elektrolitler ve diğer maddelerin girişinin sağlanması
2. İntimal hücrelerin, sinoviyal sıvıda bulunan bazı maddeleri salgılanması
3. Tip A hücrelerinin, küçük molekülleri ve sıvı içeren artık ürünleri ekstrasellüler matriks ve eklem boşluğundan elimine etmesi
4. Artiküler kartilajdaki kondrositlerin beslenmesi

Sinoviyal membran hücreleri her iki eklem aralığını dolduran sinoviyal sıvıyı da üretirler. Sinoviyal sıvı kan plazmasının dialisatıdır ve ultrafiltresidir (4). Plazmadan daha yüksek HA konsantrasyonuna ve daha düşük protein konsantrasyonuna sahiptir. Sağlıklı bir bireyde bulunan sinoviyal sıvı miktarı yaklaşık 2ml'dir. Sinoviyal sıvıda meydana gelen enflamasyon kapiller geçirgenliği arttırarak plazma proteinlerinin geçişini kolaylaştırır (7).

TME'nin artiküler yüzeylerinin vücudun diğer sinoviyal eklemlerinden farklı olarak fibrokartilajdan oluştuğu ve bu özelliğinin de biyomekanik ve yapısal olarak farklılıklara neden olduğu bilinmektedir. Artiküler kartilajın, fonksiyonel adaptasyonun düzenlenmesinin ve subkondral kemiğe gelen yüklerin absorpsiyonunun sağlaması gibi özellikleri nedeniyle TME fonksiyonlarında önemli rolü olduğu bildirilmektedir (8,9). Artiküler kartilaj yapısal olarak su, çözünmüş elektrolitler ve ekstrasellüler matriksten oluşmaktadır. Kartilajın toplam doku ağırlığının %65 ile %85'i su molekülü olup, fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rolü bulunmaktadır. Ekstrasellüler matriks kollajen, PG ve kondrosit hücrelerinden oluşur. Ekstrasellüler matriksin yaklaşık olarak %75'ini kollajen molekülü oluştururken, %25'ini PG molekülü oluşturmaktadır. PG molekülü ile fibröz kollajen fibrilleri arasında yoğun bir ağ tabakası oluşmaktadır. Kondrositler aktif hücreler olup, ekstrasellüler matriksin temel molekülleri olan kollajen fibril, PG, glikoprotein ve enzimlerin yapımından sorumludur. PG molekülü bir glikoprotein olup, en az bir GAG zinciri ile HA molekülüne bağlı bir çekirdek proteinden oluşmaktadır (8,10). Bu molekülün hidrofilik özellikte olduğu ve ortamda su varlığında hacminin genişlemesiyle, kartilaja gelen yüklerin absorpsiyonunda etkili olduğu bildirilmektedir (11). Bununla birlikte, artiküler kartilaj artiküler yüzeyden subkondral kemiğe doğru sırasıyla; fibröz, proliferatif, matür ve hipertrofik tabaka olmak üzere 4 tabakadan oluşmaktadır.

Artiküler kartilajın tabakalarının biyomekanik ve yapısal özellikleri kendi içerisinde farklılık göstermektedir. Mandibular hareket sırasında oluşan gerilim ve sıkışma yüklerinin absorpsiyonu gibi kartilajın biyomekanik özellikleri, bu tabakalardaki ekstrasellüler matriks komponentlerinin organizasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Özellikle artiküler yüzeylerde oluşan makaslama ve sürtünme nedeniyle artiküler kartilajda gerilim yüklerinin oluştuğu bildirilmektedir (8,12). Gerilim yüklerinin absorpsiyonunda kartilajın viskoelastik özelliğinin etkili olduğu ve kollajen ile PG moleküllerinin organizasyonunun ve oryantasyonunun önemli rolü olduğu ileri sürülmektedir (10,13). Hayvan çalışmalarında, kollajen liflerin oryantasyonunun ve organizasyonunun kartilajda fibröz, proliferatif, matür ve hipertrofik tabakaları arasında değişkenlik gösterdiği gösterilmektedir (14). Artiküler kartilajda kollajenin üç boyutlu ağ formunda bulunması, stabilitenin, gerilme ve makaslama kuvvetlerine karşı direncin sağlanmasında etkili olmaktadır (15,16). Kollajen liflerin subkondral kemikte ışınsal olarak, artiküler yüzeyde ise farklı yönlere dağılarak oryante olduğu ve anterio-posterior olarak paralel seyreden kollajen liflerin, anterio-posterior yönde oluşan kayma kuvvetlerine karşı direncin sağlanmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (8,12). Bununla birlikte, artiküler kartilajda tip I kollajenin bulunması diğer eklemlerden farklılık gösterir. Tip I ve tip II kollajenin kartilajda, eklem biyomekanik özelliklerine uyumlu olarak dağıldığı, sıkışma ve gerilim yüklerinin absorpsiyonunda etkili olduğu ileri sürülmektedir (17,18). Gerilim yükleri, fibröz ve proliferatif tabakalarda yüksek konsantrasyonda bulunan tip I ve tip III kollajenin, sıkışma yükleri ise, matür ve hipertrofik tabakalarda yoğunlaşan tip II, tip X kollajenin ve PG üretiminin artmasına neden olmaktadır (19,20). Bu nedenle, fibröz tabakada gerilim yüklerinin, matür ve hipertrofik tabakalarda ise sıkışma yüklerinin daha fazla olduğu ileri sürülmektedir. Eklem gelen gerilme yüklerinin absorpsiyonunda kollajen molekülü etkiliyken, sıkışma yüklerinin absorpsiyonu ise PG'lerin kartilaj tabakalarındaki dağılımı ile ilişkilendirilmektedir. İmmünohistokimyasal çalışmalarda, PG'lerin çoğunlukla

matür ve hipertrofik tabakalarda lokalize olduğu gösterilmektedir (20,21). Yapısal olarak PG'lerin daha çok matür ve hipertrofik tabakalarda bulunması, subkondral kemiğe yakın alanlarda sıkışma yüklerinin daha fazla olduğu ve bu kuvvetlerin absorpsiyonunda PG molekülün önemli rol oynadığı görüşünü desteklemektedir. Bununla birlikte, kartilajın viskoelastik özelliğinin oluşmasında, PG'lerin kollajen liflerin arasında lokalize olmasının etkili olduğu bildirilmektedir (22).

2.1. Temporomandibular Eklem Rahatsızlıklarının Sınıflandırılması

Literatürde, TME rahatsızlıklarını inceleyen birçok sınıflandırma bulunmaktadır. Bu sınıflandırmalar çeşitli kriterler dikkate alınarak geliştirilmiştir ancak belirli bir standardizasyonu sağlamamıştır.

1972 yılında Farrar, TME rahatsızlıklarını disfonksiyonu esas alarak; çiğneme kaslarının hiperaktivitesi, kapsülit ve sinovit, kapsüler ligamanların kopması ve gerilmesi, redüksiyonlu disk deplasmanı, kas hareketlerinde düzensizlik ve dejeneratif eklem hastalığı sonucu alt çene hareketlerinde kısıtlılık olarak sınıflandırmıştır (23).

1980 yılında Block, ağrı ile disfonksiyonun nörolojik ve ortopedik yaklaşımını değerlendirerek önerdiği sınıflandırmada, miyofasiyal ağrı disfonksiyonu ile vücudun diğer bölgelerindeki kas hastalıkları arasında bir ilişkinin olduğunu belirtmiştir (24).

1986 yılında Bell, TME rahatsızlıklarını çiğneme kaslarında ağrı, mandibular hareketlerde kısıtlılık ve akut maloklüzyon olarak sınıflandırmış ve bu sınıflandırmada miyozit, kas spazmı, miyofasiyal ağrı, gecikmiş kas irritasyonu ve koruyucu kas kasılmasını tanımlamıştır (25).

1990 yılında Amerikan Orofasial Ağrı Akademisi'nin (American Academy of Orofacial Pain (AAOP)) TME rahatsızlıkları sınıflandırması, Uluslararası Baş Ağrısı Birliği'nin (International Headache Society (IHS)) "Baş

ağrısı rahatsızlıkları, kraniyal nevralji ve yüz ağrılarının sınıflandırılması” içinde yer almış olup, TME rahatsızlıkları, TME ve çiğneme kası hastalıkları olarak 2 ana başlık altında değerlendirilmiştir (26).

Literatürde TME rahatsızlıklarını inceleyen çeşitli sınıflandırmalar bulunmasına rağmen (24,25,26), klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda standardizasyonun sağlanabilmesi amacıyla, 1992 yılında Dworkin ve Leresche tarafından “Araştırma Amaçlı Tanı Ölçütleri” (The Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders (RDC/TMD)) olarak tanımlanan sınıflandırma yaygın olarak kullanılmaktadır. RDC/TMD’ de, TME rahatsızlıklarında klinik bulgular ve psikososyal etkenler değerlendirilirken, bilimsel olarak güvenilirliği kanıtlanmış ve standardize edilmiş anamnez ve klinik muayene yöntemleri kullanılmaktadır. RDC/TMD iki eksenli bir sınıflandırmadır. Eksen I’de TME rahatsızlığı teşhis edilirken (şekil 2.1), eksen II’de ise ağrının şiddeti ve buna bağlı gelişen disfonksiyon ve psikososyal bozukluklar değerlendirilir (27).

EKSEN I

GRUP I:

Çiğneme kasları hastalıkları

- a. Miyofasiyal ağrı
- b. Miyofasiyal ağrı ile birlikte mandibular hareket kısıtlılığı

GRUP II:

Disk deplasmanı

- a. Redüksiyonlu disk deplasmanı
- b. Mandibular hareket kısıtlılığı olmayan redüksiyonsuz disk deplasmanı
- c. Mandibular hareket kısıtlılığı olan redüksiyonsuz disk deplasmanı

GRUP III:

Artralji, artrit, artroz

- a. Artralji
- b. Osteoartrit
- c. Osteoartroz

Şekil 2.1. RDC/TMD sınıflamasındaki Eksen I

2.2. Osteoartrit

OA'nın patogenezi, biyomekanik, biyokimyasal, enflamatuar ve immünolojik reaksiyonların etkisiyle, artiküler kartilajda fokal ve progresif yıkım ile başlayan, subkondral kemikte ve eklem yapılarının tamamında patolojik değişikliklere neden olabilen bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (3,28,29). Literatürde TME rahatsızlığı olan bireylerde OA insidansının, kullanılan tanı yöntemlerine göre değişiklik gösterebileceği savunulmaktadır. OA'nın klinik belirtileri ile eklemde oluşan yapısal değişiklikler arasında herhangi bir ilişkinin bulunmaması nedeniyle, OA insidansının belirlenmesinin de güç olduğu ileri sürülmektedir. OA insidansı; klinik kriterler dikkate alınarak yapılan çalışmalarda %8 ile %18 (30,31), radyolojik olarak değerlendirilen çalışmalarda %14 ile %44 (32), mikroskobik ve makroskobik olarak incelenen çalışmalarda ise %22 ile %84 arasında bildirilmektedir (33,34). Asemptomatik bireylerde ise OA insidansı %50 ile %90 arasında bildirilmektedir (35,36,37,38).

TME'nin adaptif kapasitesi; eklem formu, fonksiyon ve okluzal ilişkilerde hemostazın sağlanmasında önemli bir biyolojik cevaptır ve fizyolojik sınırlar içerisinde fonksiyonel yüklenme ile arasında bir denge bulunmaktadır (3,39). Literatürde çeşitli sistemik ve lokal faktörlerin artiküler yapılarda adaptif kapasitenin bozulmasına neden olarak, OA'nın patogenezinde etkili olabileceği bildirilmektedir (39,40,41). Araştırmacılar TME'nin adaptif kapasitesini etkileyebilecek sistemik faktörlerin ilerleyen yaş, cinsiyet ve bazı sistemik hastalıklar olarak tanımlamaktadırlar (39,42,43).

Vücudun iskelet-kas yapılarında olduğu gibi TME'deki OA insidansının yaşla birlikte arttığı bildirilmektedir (42). TME'de yaşla birlikte, diskin kalsiyum içeriğinin artması ve artiküler kartilajdaki HA'nın molekül ağırlığının azalması sonucunda, eklem yapısal ve reolojik özelliğinin değiştiği gösterilmiştir (44,45,46). Nakayama ve ark (2002) yaşları 20 ile 79 arasında

değişen hastaların sağlıklı eklemlerindeki sinoviyal sıvıyı incelediği çalışmasında, yaş ile birlikte PG ve HA miktarının azaldığını bildirmektedir (46). Eklem yüzeylerinin koruyucu ve kayganlaştırıcı özelliğini sağlayan sinoviyal sıvı içeriğinin ve miktarının değişmesi nedeniyle yaşlı bireylerde OA insidansının daha yüksek olduğu rapor edilmektedir (39,45,47). Bu nedenle artiküler yüzeylerde görülen dejenerasyon gibi osteoartritik değişiklikler yaşlı bireylerde normal olarak kabul edilse de, gençlerde görüldüğünde eklemdaki patolojinin bir belirtisi olabileceği düşünülmektedir (48). Güler ve ark (2004) yaşları 13 ile 63 arasında değişen 133 hastanın 266 eklemine manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile değerlendirdiği çalışmasında, OA insidansının 10 ile 30'lu yaşlarda daha sık olduğunu bildirmektedir (49).

Epidemiyolojik çalışmalarda OA'nın erkeklere oranla kadınlarda daha sık görüldüğü gösterilmektedir (43,50,51). Cinsiyete göre OA dağılımını inceleyen çalışmalarda, kadın:erkek oranı 3,3:1 ile 6,8:1 arasında rapor edilmektedir (49,52). OA'nın kadınlarda daha sık görülmesi östrojen hormonu reseptörleri ve seksüel dimorfizm ile ilişkilendirilmektedir (51,53). TME'de östrojen hormonu reseptörlerinin varlığının tanımlanmasıyla, östrojenin yapısal olarak artiküler kartilajda katabolik enzimlerin oluşumunda ve biyomekanik olarak da eklem hipermobilitesinde etkili olabileceği bildirilmektedir (53). Bununla birlikte, otoimmün hastalıklar, endokrin sistem hastalıkları ve metabolizma ile beslenme bozukluklarını içeren bazı sistemik hastalıkların da kartilaj metabolizmasını etkileyerek, TME'nin fizyolojik adaptasyonunu azaltabileceği ileri sürülmektedir (39).

OA gelişiminde etkili olan mekanik etkenler lokal faktörler olarak tanımlanmaktadır. Travma (makro veya mikrotravma), internal düzensizlik (İD), fonksiyonel aşırı yüklenme, eklem yüzeylerindeki sürtünmenin artması, parafonksiyon gibi lokal faktörlerin TME'nin artiküler kartilajında yapım ve yıkım arasındaki dengeyi bozarak, fizyolojik adaptasyonu etkilediği ve artiküler yapıda OA gelişiminde etkili olabildiği bildirilmektedir. (3,39,40,54).

TME'ye gelen direk ya da indirek makrotravmanın artiküler kartilajda ve diskte biyomekanik ve yapısal değişikliklere neden olabildiği gösterilmektedir (55). Makrotravmaya sebep olan faktörler ise spor yaralanmaları, trafik kazası, endotrakeal entübasyon, whiplash yaralanmaları, esneme ve gülme gibi aşırı mandibular hareketler, uzun süren dental tedaviler olarak rapor edilmektedir (56). Ayrıca, TME'de OA görülen bireylerin üçte birinin etiolojisinde baş ve boyun bölgesinde travma hikayesinin olduğu bildirilmektedir (57).

OA genellikle eklem İD'si ile birlikte gelişen bir hastalık olarak tanımlanmakta ve kemikteki değişikliklerin etkeninin disk deplasmanı ve kapsüldeki fibrozis olabileceği düşünülmektedir (33,58). Disk deplasmanının ise travma veya aşırı fonksiyonel yüklenmeye bağlı gelişebileceği ve eklemden sekonder olarak disk deplasmanı ile birlikte OA'nın da izlenebileceği bildirilmektedir (3,28,48). Bazı araştırmacılar OA'nın İD'nin son aşamalarında daha sık izlenebileceğini savunurken, diğerleri ise OA'nın İD'nin gelişmesinde primer bir etken olabileceğini ileri sürmektedir (32,39,59,60,61). Artiküler yüzeylerde gelişen dejenerasyon, kayma hareketini engelleyerek, sağlıklı eklemden ağız açılırken posteriora rotasyon yapan diskin, anteriora yer değiştirmesine yol açabilmektedir (3,28,32,48,59). İD ile birlikte OA gelişimini inceleyen çalışmalarda izlenen OA insidansı %11,4 ile %73 arasında bildirilmektedir (35,36,37,38). Yaşlı bireylerde yapılan kadavra çalışmasında, OA ile İD'nin birlikte görülme sıklığının %80 olduğu ve OA'nın tek başına görülme sıklığının ise %50 olduğu rapor edilmektedir (28).

OA gelişiminde etkili lokal faktörlerden biri olan fonksiyonel aşırı yüklenme; artiküler kartilajda bulunan HA, kollajen, PG gibi önemli moleküllerin yıkımına neden olarak, kartilaj metabolizmasının bozulmasında etkili olabilmektedir (57,58). Stegenga ve ark. (1989) kartilaj yıkımının; sürekli uyaranlar ile ekleme aşırı yüklenmeden kaynaklanabileceğini ileri sürmektedir. (3,58) Milam ve Schmit, mekanik strese intraartiküler dokuların moleküler patolojik cevabını, hipoksi-reperfüzyon, nörolojik enflamasyon, serbest

radikallerin ve matriksi yıkan enzimlerin aktivasyonu olarak tanımlamaktadır (62,63). Bununla birlikte, aşırı fonksiyonel yüklenmenin, artiküler kartilajda HA'nın yapım ve yıkımının inhibisyonuna neden olup, sinoviyal sıvı viskozitesinin azalmasında ve sinoviyal yüzeyde sürtünme katsayısının artmasında da etkili olduğu rapor edilmektedir (64). Sağlıklı TME'de kartilaj yüzeyindeki sürtünme katsayısının 0,0145 ile 0,0239 arasında olduğu rapor edilmektedir (55,65,66). Ancak artiküler kartilajda deneysel olarak oluşturulan abrazyon varlığında, sürtünme katsayısının sağlıklı eklemden 3,5 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (67). Sürtünmedeki bu artışın, artiküler yüzeyler, disk ve artiküler kartilajdaki makaslama geriliminin artmasına ve TME'de aşırı yorgunluk, hasar ve geri dönüşümsüz deformeiteye neden olup, İD ve OA patogenezinde etkili olabileceği ileri sürülmektedir (39,44). Artiküler yüzeyler arasında sürtünmenin artması ile eklem hareketleri bozulabilmekte ve kartilaj, kapsül, ligamentler, sinoviyal membran, subkondral kemik ve kaslar gibi komşu dokular patolojik cevaplar verebilmektedir (58).

Parafonksiyonun TME'de anormal kayma ve sıkışma kuvvetlerinin oluşmasına, eklemin kayganlık özelliğini değiştirerek, disk ile kondil arasında sürtünmenin artmasına ve çiğneme kaslarında parafonksiyonel hiperaktivite ile lateral pterigoid kas disfonksiyonuna neden olup, İD'nin ve sekonder olarak OA'nın gelişmesinde etkili olabileceği ileri sürülmektedir (68,69).

2.3. Osteoartrit Patogenezi

Normal artiküler kartilajda ekstrasellüler matriks yapımı ve yıkımı arasında bir denge varken; ekleme gelen yük miktarının fizyolojik adaptasyon sınırını aşması ile ekstrasellüler matrikste yıkım daha fazla olabilmektedir (70) (şekil 2.2). Histolojik ve biyokimyasal çalışmalarda; OA'nın erken döneminde oluşan vasküler endotelial büyüme faktörü (vascular endothelial growth factor (VEGF)) ekspresyonu, serbest radikallerin salınımı, nörolojik ve enflamatuar reaksiyonlar gibi moleküler değişikliklerin artiküler kartilaj yüzeyinde kollajen,

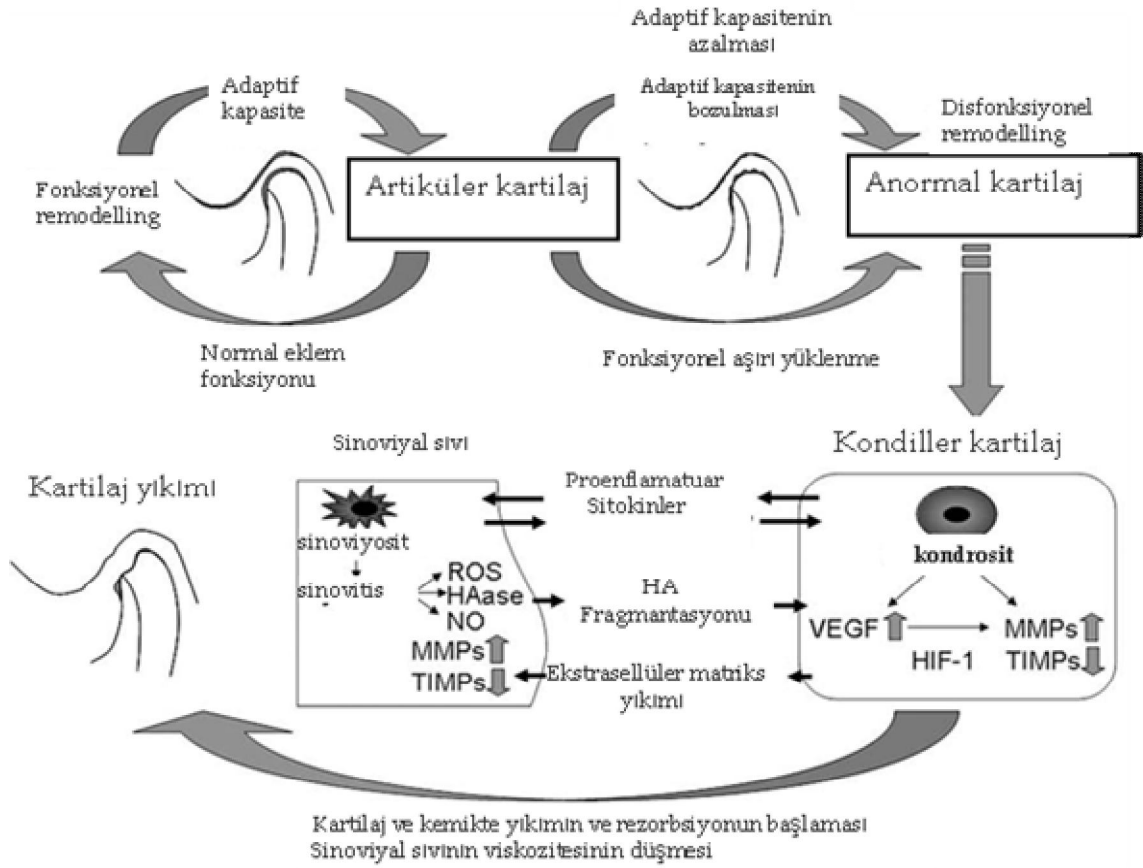
PG ve GAG yıkımına neden olduğu bildirilmektedir (3,28,58,71). VEGF'nin ekstrasellüler matrikste yapım ve yıkımdan sorumlu olan matriks metalloproteinaz (Matrix metalloproteinases (MMP)) ve matriks metalloproteinaz doku inhibitörü-1 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP-1)) üretimini ve osteoklastik aktivite stimülasyonunu düzenlediği rapor edilmektedir (39,72). Tanaka ve ark. (2005) TME'de OA'yı deneysel olarak oluşturdukları çalışmasında, eklem gelen devamlı aşırı yüklerin VEGF ekspresyonunu arttırdığını bildirmektedir (72). Artiküler kartilajda VEGF ekspresyonunda ki bu artışa TME'ye gelen mekanik yüklerin neden olabileceği düşünülmektedir. Bu mekanik yüklerin artiküler kartilajda VEGF ekspresyonunu arttırarak, TIMP-1 ekspresyonunun azalmasında ve MMP ekspresyonunun artmasında etkili olabileceği ve bunun sonucunda, ekstrasellüler matrikste yıkımın artmasına ve kartilajda dejenerasyonun başlamasına neden olabileceği de bildirilmektedir (57,73). Wang ve ark. (2008) keçilerin TME'sinde MMP ve TIMP-1'in OA'ya etkisini incelediği hayvan çalışmasında, normal eklemden MMP ile TIMP-1 arasında bir denge olduğunu ve bu dengenin bozulması ile kartilajda dejenerasyonun oluşabileceğini bildirmektedir (74). İD ve OA'lı TME'lerin sinoviyal sıvı analizlerinde MMP'lerin, özellikle MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-13'ün eklemden ekstrasellüler matriks yıkımında etkili olduğu rapor edilmektedir (75,76).

Artiküler kartilajda OA gelişiminde etkili olan diğer moleküler olaylar ise serbest radikallerin salınımı ve sinirden zengin olan bölgelerdeki (retrodiskal doku ve kapsüler ligament) sinir hücrelerinin uyarılması olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikallerin salınımı, artiküler yüzeyde ve sinoviyal sıvıdaki önemli moleküllerde hasara, sinirsel uyarı ise proenflamatuar nöropeptidlerin ve nitrik oksit gibi nörojenik enflamasyonda etkili moleküllerin oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir (62,77,78). Artiküler kartilajda bulunan fibronektin, HA gibi bazı moleküllerin serbest radikallere daha duyarlı

olduğu, tip I kollajen, albümin ve MMP gibi diğer moleküllerin ise daha dayanıklı olduğu rapor edilmektedir (79). Serbest radikallerin eklem lubrikasyonunda önemli bir molekül olan HA'nın yıkımına neden olmasıyla, artiküler yüzeyler arasında sürtünmenin arttığı ve artiküler diskin normal pozisyonundan daha önde konumlandığı ileri sürülmektedir (54,80). Sinoviyal membran tarafından üretilen ve sinoviyal sıvının büyük bir kısmını oluşturan HA'nın eklemde lubrikasyonunda ve artiküler kartilajın korunmasında önemli rol oynamaktadır. HA eklem içinde homojen olarak dağılmayıp, eklem yüzeyleri üzerinde yoğunlaşmakta ve böylece eklem yüzeyinin kayganlığını sağladığı ileri sürülmektedir (81). TME'deki enflamasyonun sinoviyal sıvı içindeki HA'nın molekül ağırlığını ve konsantrasyonunu azalttığı, bu değişimin de sinoviyal sıvının şok abzorbsiyonu ve kayganlaştırma gibi koruyucu fizyolojik etkilerini azalttığı bildirilmektedir (82). Hayvan çalışmalarında, HA'nın azalmasına bağlı olarak, kartilajın biyomekanik özelliklerinin ve metabolizmasının değiştii gösterilmiştir (83,84). Sinoviyal sıvının viskozite ve moleküler bariyer fonksiyonunun zayıflamasıyla, ekstrasellüler matrikste bulunan PG'lerin korunmasının ve enflamatuar cevabın sınırlandırılmasının güçleşebileceği bildirilmektedir (81). Bununla birlikte, HA'nın üretilmesinde interlökin (interleukin (IL)) -1 β , tümör nekroz faktör (interleukin (TNF))- α , Interferon (INF)- γ ve transforme edici büyüme faktörü (transforming growth factor (TGF))- β gibi çeşitli sitokinlerin etkili olduğu bildirilmektedir (39,85). Tanimoto ve ark (2004) tavşanların TME'sinde sinoviyal membran hücreleri ile yaptıkları çalışmada, TGF- β_1 'in sinoviyal membranda HA sentaz-2 mRNA ekspresyonunu arttırdığını ve bununda sinoviyal sıvıda yüksek molekül ağırlıklı HA'nın üretimini stimule edebileceğini ileri sürmektedir (85). Artiküler kartilajda proteolitik enzimlerin etkisiyle ekstrasellüler matriks komponentlerinin yıkımının artması, sinoviyal sıvıda sekonder olarak enflamatuar olayların başlamasına neden olmaktadır. TNF- α , IL-1 β , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17 ve INF- γ gibi proenflamatuar sitokinler, İD ve OA'lı hastaların sinoviyal sıvı ve sinoviyal dokularında saptanmakta ve osteoklastik aktiviteyi

hızlandırarak, kartilaj yıkımının ilerlemesinde etkili olabilmektedir (86,87,88). IL-1 β ile IL-6'nın asemptomatik TME'de varlığı tanımlanmasına rağmen, IL-6 konsantrasyonundaki belirgin artış sinovitis ile ilişkilendirilmektedir (89). IL-1 β kondrositleri uyarak MMP ve nitrit oksit sekresyonuna neden olup, kartilajda PG ile kollajen sentezini inhibe ettiği bildirilmektedir (90,91). Sandler ve ark (1998) sinoviyal sıvıdaki IL-6 konsantrasyonu ile akut sinovitis arasında ilişki olduğunu ve IL-6 konsantrasyonunun İD ve OA olan TME'de sinovitis göstergesi olarak kullanılabileceğini rapor etmektedir (92). Bu bulgular ile sinoviyal sıvıdaki sitokinlerin TME dejeneratif değişikliklerinin başlangıcı ve ilerleyişinden sorumlu olabileceği belirtilmektedir. IL-1 reseptör antagonisti, TGF- β ve IL-10 gibi anti-enflamatuar sitokinlerin TME İD'si ve OA'sında enflamasyonun ve kartilaj yıkımının sınırlandırılmasındaki etkileri bildirilmektedir. (93,94).

Gülen ve Ataoğlu (2007) 35 hastanın 40 İD'li TME'sinde artrosentez öncesi ve sonrası proenflamatuar sitokinlerin (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-11 ve TNF- α) seviyesini değerlendirdiği çalışmasında, artrosentez öncesi sitokin seviyeleri 7 eklemde (%17) IL-6, 27 eklemde (%67) IL-8, 26 eklemde (%65) TNF- α , 12 eklemde (%30) IL-1 β ve 22 eklemde (%55) IL-11 iken, artrosentez sonrası 12 eklemde (%30) IL-8, 10 eklemde (%25) TNF- α , 1 eklemde (%2) IL-1 β ve 10 eklemde (%25) IL-11 oranında belirlediğini ve artrosentez sonrası sitokin seviyelerinin anlamlı derecede azaldığını bildirmektedir. TME İD'si patogeneğinde proenflamatuar sitokinlerin önem rol oynadığı ve artrosentez tedavi yöntemi ile TME sinoviyal sıvısındaki proenflamatuar sitokin konsantrasyonlarının önemli derecede azaldığı rapor edilmektedir (95).



Şekil 2.2. OA patogenezinde kartilaj ve kemikte yıkımın başlaması

Dijkgraaf ve ark (1995) TME’de OA patogenezinde 4 evre tanımlamaktadır; (61).

Başlangıç ve tamir evresi; Biyomekanik, biyokimyasal, enflamatuar ve immünolojik reaksiyonlar, kondrosit kontrollü ekstrasellüler matriks yapımı ve yıkımı arasında dengesizliğin oluşmasına ve artiküler kartilajda yıkımın başlamasına neden olur. Kartilajda ekstrasellüler matriks yıkımının artması, büyüme faktörlerinin aktivasyonuna yol açarak, ekstrasellüler matrikste yapım ve yıkım arasında yeni bir dengenin oluşmasıyla sonuçlanır. Bu safhada, histolojik, mikroskopik ve biyokimyasal olarak, kondrositlerde metabolik aktivitede ve proliferasyonda artış, ekstrasellüler matriks ve DNA sentezinde artış gibi değişiklikler izlenir (61,96).

Erken evre; Ekstrasellüler matriks sentezindeki artış, proteolitik enzimlerin salınımına ve kartilajda yıkımın başlamasına neden olur (39,73). Ekstrasellüler matriks komponentlerinin sentezi artmasına rağmen, bu moleküllerin içeriği, kompozisyonu ve dağılımı değişmektedir. Bu değişim, kartilajda yıkım aktivitesinin artması ve kondrosit kontrollü proteolitik enzimlerin miktarının artması ile ilişkilendirilmektedir. Erken dönem osteoartritlik kartilajda, proteolitik enzimlerin aktivasyonunun osteoartritlik değişimlerin şiddeti ile orantılı olarak arttığı bildirilmektedir. Proteolitik enzimlerin etkisiyle PG yıkımı meydana gelmekte ve PG kaybı kartilajda sıvı içeriğinin azalmasına ve kartilajın biyomekanik özelliklerinin değişmesine neden olur (97). Ekstrasellüler matriks komponentlerinin yıkım ürünleri, kondrositler ya da sinoviyal sıvı hücreleri tarafından metabolize edilmektedir. Bununla birlikte, sinoviyal membranın osteoartritlik süreçte dahil olması, sekonder enflamatuar olayların gelişmesine neden olmaktadır. Bu safhada, histolojik, mikroskobik ve biyokimyasal olarak, kondrositlerde metabolik aktivite ve proliferasyonda artış, kollajen liflerde düzensizlik, proteolitik enzim sentezinde artış, ekstrasellüler matriks komponentleri içeriğinde azalma ile dağılımında ve kompozisyonunda değişim, sinoviyal sıvıda sekonder enflamatuar olayların başlaması gibi değişiklikler izlenir. Artroskobik olarak, kartilajda yüzeysel fibrilasyon izlenebilmektedir (61).

Ara evre; Ekstrasellüler matrikste yıkımın ve proteolitik enzimlerin aktivasyonundaki artışın devam etmesi, artiküler kartilajda dejenerasyonun ilerlemesine neden olur. Bu safhada, histolojik, mikroskobik ve biyokimyasal olarak, fibrilasyon, vertikal ve horizontal çatlaklar, kartilaj tabakasında incelme, kondrositlerde kümeleşme, dejenerasyon ve nekroz, kollajen fibrillerde düzensizlik, PG kaybı gibi değişiklikler izlenmektedir. Artroskobik olarak, kartilajda kalınlığında azalma ve disk deplasmanı izlenebilmektedir (28,98).

Geç evre; Artiküler kartilajda yıkım olayı devam ederken, histolojik, mikroskobik ve biyokimyasal olarak, aşırı fibrilasyon, kondrosit nekrozu,

kollajen fibrillerde aşırı düzensizlik, kemikte erozyon ve PG kaybı izlenir. Artroskopik olarak, aşırı derecede fibrilasyon, kemik yüzeyinin açığa çıkması ve anjiogenezis izlenebilmektedir (61).

OA'lı eklemlerde geç dönemde izlenen yapısal değişiklikler, artiküler kortikal tabakanın erozyonu, osteofit oluşumu, subkondral kemiğin sklerozu, artiküler yüzeydeki kavisin düzleşmesi ve subkondral kistin oluşması olarak tanımlanmaktadır (48).

2.4. Deneysel Osteoartrit Mekanizması

OA'nın patogenezi kadavra ve klinik çalışmalar ile belirlenmeye çalışılmaktadır. Histopatolojik bulguların değerlendirildiği kadavra çalışmalarında, klinik verilerin ve kontrol grubunun olmaması, klinik çalışmalarda ise, patolojik değişikliklerin standardizasyonu ve derecelendirilmesi için, gerekli doku örneğinin alınmasındaki etik nedenler bu çalışmaları kısıtlı kılmaktadır. Bu nedenle, OA patogenezinin belirlenmesinde insanlardaki mekanizmaya benzer deneysel osteoartrit modeller kullanılmaktadır (99,100). Eklemi oluşturan dokulardaki yapısal değişiklikleri ve bu değişiklikleri etkileyen risk faktörlerini belirlemede ve tedavi yaklaşımlarının etkinliğini değerlendirmede deneysel modellerin faydalı olduğu bildirilmektedir (74).

Deneysel OA modelleri etiyojilerine göre; cerrahi, biyomekanik, yapısal teknikler olarak sınıflandırılmaktadır (101,102). TME'de deneysel OA modellerinde disk perforasyonu, disk deplasmanı, diskektomi gibi cerrahi teknikler kullanılmaktadır. (100,103,104). Bu teknikler OA ile İD arasındaki neden sonuç ilişkisi düşünülerek geliştirilmektedir. (3,28,105,106). Cerrahi tekniklerin diğer yöntemlere göre daha uzun sürede deneysel osteoartrit değişikliklerine neden olmasının ve çevre dokulara verdiği hasarın daha büyük olmasının, OA patogenezinin ve tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde sınırlayıcı faktörler olabileceği düşünülmektedir (102,107,108). Disk deplasmanı

oluşturularak yapılan hayvan çalışmalarında, diskin anteriora deplasmanı eklem içi yapılara ve eklem fonksiyonuna zarar verdiği ve diskin cerrahi olarak deplasmanının insanlarda oluşan ID'den farklı bir mekanizma ile oluşmasına neden olduğu bildirilmektedir (109,110).

İnsanlarda gelişen OA patogenezi benzer özellikte, eklemi yapıları ve çevre dokulara hasar vermeden, eklemde dejeneratif değişikliklerin oluşturulabilmesi için biyomekanik ve yapısal modeller geliştirilmektedir. İndirek travma ile oluşturulan biyomekanik OA modellerinde, eklem gelen yük miktarının artmasıyla, artiküler kartilajda hasar oluşabileceği ileri sürülmektedir. Bazı hayvan çalışmalarında, periyodik aşırı yüklenmeye neden olan indirek travmanın artiküler kartilajda dejeneratif değişikliklerin gelişmesinde etkisinin olmadığı ve eklem bu değişimlere tamir mekanizması ile yanıt verebileceği de bildirilirken, in vivo ve in vitro çalışmalarda, artiküler kartilaja gelen periyodik aşırı yüklenmenin, tekrarlayan ve sabit aşırı yüklenmeye oranla eklemde daha az hasara neden olabileceği bildirilmektedir (43,111,112,113,114,115). Fujisawa ve ark (2003) tekrarlayan ve sabit aşırı yüklenme ile oluşturulan indirekt travmanın deneysel OA'da etkisini incelediği çalışmada, 7. günde osteoartritik değişimlerin oluştuğunu göstermiştir (111).

Yapısal tekniklerdeki deneysel OA modelinde ekstrasellüler matriksi ve artiküler hücreleri etkileyen çeşitli maddeler intraartiküler olarak uygulanmaktadır. Sodyum mono iodo asetat (sodium mono-iodoacetate(MIA)), IL-1 ve TNF- α gibi maddeler artiküler hücrelerde, kollejenaz, papain ve fibronektin ise ekstrasellüler matrikste hasara neden olup, vitamin A enjeksiyonu, enzimatik (MMP) ve steroid indüksiyonunun eklemde dejenerasyon oluşturduğu bildirilmektedir (116,117,118,119,120). Eklem içerisine kimyasal ajanların intraartiküler enjeksiyonu kolay bir metod olmasının yanında, oluşturulacak dejeneratif değişikliklerin ilerlemesinin ve şiddetinin uygulanacak ajanın konsantrasyonunun değiştirilerek belirlenmesi de büyük bir avantaj sağlamaktadır. Bal ve Oral (2008) 11 adet tavşan

TME'sinde intraartiküler 50µl %5'lik formalin solüsyonu ile oluşturduğu deneysel enflamasyon modelini enjeksiyon öncesi ve sonrası alınan sintigrafi görüntüleme tekniği ile kıyasladığı çalışmasında, formalin enjeksiyonunda 24 saat sonra, sintigrafi değerlerinin enjeksiyon öncesine göre anlamlı bir şekilde arttığını ve intraartiküler formalin enjeksiyonunun TME'de deneysel enflamasyon modeli olarak kullanabileceğini bildirmektedir (121).

Ekstrasellüler matrikse etkili ajanların, eklemden fibrokartilaj tabakanın hızlı bir şekilde hasar görmesine neden olup, dejenerasyonun safhalarının ve başlangıç nedeninin belirlenmesinde yanlış fikir verebileceği de bildirilmektedir (108). Bu nedenle, TME'nin yapısal özelliği nedeniyle, intraartiküler enjeksiyonda kullanılan ajanın artiküler hücreleri etkileyici özellikte olması gerekmektedir (108).

Deneysel OA oluşturulmasında MIA'nın intraartiküler enjeksiyonu ilk kez Kalbhen (1987) tarafından tanımlanmıştır (122). İntraartiküler MIA enjeksiyonu, kondrositlerde glikolitik metabolizmayı inhibe ederek, hücrelerin ölümüne neden olup, kartilajda hasar oluşturmaktadır (102,120,122). MIA'nın deneysel OA mekanizmasında; kartilaj hasarına, subkondral kemikte düzensizliğe, kronik dejenerasyona ve ağrıya neden olması, konsantrasyonunun değiştirilmesi ile dejenerasyon şiddetinin ayarlanabilmesi ve kısa sürede OA oluşumunu sağlayabilmesi gibi avantajları bulunmaktadır (102,120,123). Birçok hayvan çalışmasında, bu ajanın intraartiküler enjeksiyonu ile diz ekleminde osteoartritik lezyon olduğu gösterilmiştir (102,120). Histolojik çalışmalarda, 3. günde akut enflamasyonun, 7. günde artiküler kartilajda hasarın ve 14. günde ise subkondral kemik hasarının izlenebileceği bildirilmektedir (102,120,122). Yüksek dozda (0,3 ve 3 mg) MIA enjeksiyonunun kartilaj ve subkondral kemikte patolojik değişikliklere, düşük dozda MIA'nın (0,03 mg) ise sadece kartilajda fokal erozyona ve kondrositlerde geçici hasara neden olduğu rapor edilmiştir (120). Kondrositlerde kümeleşmenin ve osteofit formasyonunun insanlarda gelişen OA'nın karakteristik bulguları olduğu ve geç dönemde,

subkondral kemiğin açığa çıkması ve kondrosit kaybıyla ilişkilendirilmektedir. (107). Subkondral kemikte meydana gelen hemoraji ve fibrozis, subkondral kemikte esneklik kaybına ve kartilaja gelen mekanik yüklerin artmasına neden olarak, osteokondral birleşimin ayrılmasında etkili olabileceği bildirilmektedir (58).

İntraartiküler olarak uygulanan MIA solüsyonunun vücudun diğer eklemlerinde OA oluşumuna etkisinin araştırıldığı birçok çalışma bulunmasına rağmen, TME’de bu ajan ile ilgili sadece tek bir çalışma bulunmaktadır (108). Vücudun diğer eklemleri ve TME arasındaki anatomik ve histolojik yapı farklılıklarının olması, bu ajanın TME’ye etkisinin diğer eklemlerden farklı olacağı görüşünü desteklemektedir.

Cledes ve ark (2006) tavşanların TME’sine intraartiküler enjeksiyonla uyguladıkları MIA solüsyonunun (1,5 mg) farklı zaman aralıklarında (10, 20, 30, 40. gün) osteoartritik etkisini incelediği çalışmasında, 40 günde; başlangıç ve tamir, erken, ara ve geç dönem olmak üzere osteoartritik 4 safhanın da oluştuğunu, 30. günde eklemden ileri derecede OA’nın histopatolojik olarak izlendiğini ve diğer OA modellerine göre daha kısa sürede bu ajanın OA oluşumuna neden olduğunu bildirmiştir. Erken dönemde (10 gün), kondrositlerde kümeleşmenin, kartilajda fibröz tabakada kalınlaşmanın, ve subkondral kemikte bağ dokusu invazyonunun oluştuğu, geç dönemde ise (30. ve 40. gün), kartilajın fibröz doku ile yer değiştirdiği, kartilajda gelişen erozyona bağlı subkondral kemiğin açığa çıktığı ve nekrozun izlendiği bildirilmiştir. İntraartiküler MIA enjeksiyonunun TME’de hem dejenerasyona hem de tamir cevabına neden olduğu ve bu tamir cevabı da kartilajda gelişen lezyonların etrafını çevreleyen hipertrofik kartilaj reaksiyonu ve kondrosit migrasyonu olarak tanımlanmıştır. TME’nin yapısal özelliği nedeniyle, intraartiküler MIA enjeksiyonu sonrasında, TME’de diğer eklemlerden farklı olarak tamir cevabının daha fazla geliştiği belirtilmiştir (108).

2.5. Osteoartritin Teşhisinde Kullanılan Görüntüleme Teknikleri

TME OA'sında klinik ve radyolojik bulgularının değerlendirildiği birçok çalışma olmasına rağmen, OA'nın erken döneminde kartilaj değişikliklerinin radyolojik olarak belirlenememesi ve dejeneratif değişikliklerinin geç dönemde izlenebilmesi nedeniyle, klinik ve radyolojik bulgular arasında bir ilişkinin kurulmasının güç olduğu savunulmaktadır (124,125,126).

Günümüzde TME'nin sert veya yumuşak dokularının görüntülenmesinde; lateral transkranyal ve panoramik radyografi eklem hakkında iki boyutlu bilgi verirken, manyetik rezonans görüntüleme (MRG), bilgisayarlı tomografi (BT) ve kemik sintigrafisi üç boyutta görüntü vermektedir. MRG'nin diagnostik doğruluğu %36 ile %90 arasında olup, kemik yapının manyetik duyarlılığının ve çözünürlüğünün az olması nedeniyle, MRG'nin daha sıklıkla yumuşak dokuların görüntülenmesinde altın standart olduğu ve eklemdaki kemik değişikliklerinin belirlenmesinde BT'nin daha güvenilir olduğu bildirilmektedir (34,127,128,129,130). OA'da kemik değişikliklerinin belirlenmesinde BT'nin güvenilirliği % 80 ile % 87 arasında olup, hastalığın final döneminde radyografik bulgular daha net bir şekilde gözlenebilmektedir (131). Bu aşamada osteoartritik eklemda tipik olarak kortikal tabakada erozyon, osteofit, subkortikal kist, skleroz, rezorpsiyon, eklem boşluğunda daralma ve disk perforasyonu gibi değişimler gözlenebilmektedir (132,133,134). Bununla birlikte, OA'lı eklemlerde en sık izlenen dejeneratif değişiklikler kondilde erozyon, düzleşme ve osteofit formasyonu iken, skleroz ve rezorpsiyonun hastalığın daha geç döneminde ve daha az izlendiği bildirilmektedir (134,135).

2.6. Osteoartrit Tedavisi

TME hastalıkları tedavisinde artroskopik cerrahi ve artrosentez yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır. Artroskopik cerrahide temel amaç, ağrı ve enflamasyona neden olan kimyasal mediatörleri bölgeden uzaklaştırmak ve diskin yeniden pozisyonlandırılmasının sağlanması olarak tanımlanmaktadır (136). İD'de artroskopinin başarılı olduğunu rapor eden çalışmalarda, diskin yeniden pozisyonlandırılmadığı ve artroskopinin başarısının süperior eklem boşluğunun lizis ve lavajına dayandığı düşünülmektedir (137). Bu nedenle, daha az invaziv ve daha basit bir yöntem olan artrosentezin kullanımı önerilmektedir (138,139). Artrosentez çeşitli TME hastalıklarının tedavisinde kullanılmasına rağmen, OA'nın tedavisindeki etkinliği tartışmalıdır (140). OA patogenezinde artiküler yüzeyde gelişen lubrikasyon sisteminde izlenen anormalliğin öneminin anlaşılmasıyla, viskosuplementasyon tekniğinin kullanımı gündeme gelmektedir (141,142). OA'lı eklemden HA'nın moleküler ağırlığı ve konsantrasyonunun azalmasıyla reolojik özelliği değişen sinoviyal sıvının lubrikasyon sistemindeki anormalliğini düzeltmek amacıyla, intraartiküler HA enjeksiyonu olarak tanımlanan viskosuplementasyon tekniği ilk kez 1971 yılında Reydell ve Balazs tarafından diz ekleminde tanımlanmıştır (143).

Sinoviyal membran tarafından üretilen ve sinoviyal sıvının büyük bir kısmını oluşturan HA'nın, eklemde lubrikasyonda ve artiküler kartilajın korunmasında önemli rolü olduğu bilinmektedir. HA sinoviyal sıvı ve kartilajın önemli moleküllerinden biri olup, sinoviyal membranda bulunan B hücreleri tarafından üretilmektedir. HA molekülünün eklemde mekanik ve metabolik olarak etkili olduğu bildirilmektedir (4). HA'nın mekanik etkisi eklem boşluğu içerisinde lubrikasyon sağlayarak, eklem yüzeylerinde oluşan sürtünmeyi azaltması ile açıklanmaktadır. Sağlıklı TME'de kartilaj yüzeyindeki sürtünme katsayısının 0,0145 ile 0,0239 arasında olduğu rapor edilmektedir (65). Kawai ve ark (2004) domuzlarda intraartiküler olarak uygulanan HA enjeksiyonunun

eklemin lubrikasyonuna etkisini incelediği çalışmasında, HA molekülünün yüzey sürtünme katsayısını 1,2 ile 1,7 oranında azalttığını ve bu etkisinin sadece artiküler yüzeylerin üzerini örtmesiyle açıklanabileceğini ileri sürmektedir (144). HA'nın metabolik etkisi ise, kartilaj ve diskin avasküler bölgelerini beslemesi, HA'nın fosfolipid ve metabolitleri ile kompleks oluşturup, sinoviyal sıvıda enflamatuar sitokinlerin seviyesini azaltarak kartilaj yıkımının önlemesi olarak ileri sürülmektedir (5,6). Takahashi ve ark (1998) tavşanların diz ekleminde deneysel olarak oluşturulan OA'ya intraartiküler HA enjeksiyonunun etkisini incelediği çalışmasında, OA'nın erken döneminde HA'nın MMP-3 ve IL-1 β ekspresyonunu engelleyerek etkili olduğunu, geç dönemde ise aynı etkinin elde edilemediğini bildirmektedir (145). Bununla birlikte, HA molekülü, PG ve GAG molekülüne bağlanmasıyla PG agregatını oluşturarak kartilajda yapısal rol oynamaktadır. PG agregatı kollajen ağ tarafından sarılarak kartilaj matriksinin esas içeriğini oluşturur ve su infiltrasyonuna izin vermesiyle; kartilaj normal eklem yüklenmelerine karşı daha esnek bir doku haline gelir (4). Patolojik durumda kartilajda PG molekülünün yıkımının olduğu bilinmektedir ve bu nedenle intraartiküler HA enjeksiyonunun hasarlı kartilaj yüzeylerini örterek, kartilaj yıkımının önlenmesinde etkili olabileceği ileri sürülmektedir. TME'deki enflamasyonun; sinoviyal sıvı içindeki HA'nın molekül ağırlığını ve konsantrasyonunu düşürdüğü, bu değişimin sinoviyal sıvının şok absorpsiyonu ve kayganlaştırma gibi koruyucu fizyolojik etkilerini azalttığı bildirilmektedir (146,147). Sağlıklı sinoviyal sıvıda HA'nın molekül ağırlığının 2 ile 3×10^6 dalton arasında olduğu ve osteoartritik eklemlerde ise bu değer 6×10^5 dalton'a kadar düştüğü rapor edilmektedir (148). Takahashi ve ark (2004) 5 sağlıklı TME ve 21 TME hastalığı olan 26 hastanın sinoviyal sıvısında HA'nın molekül ağırlığını değerlendirdiği çalışmasında, sağlıklı eklemlerde HA'nın molekül ağırlığının ortalama değerinin 3×10^6 dalton'dan yüksek olduğunu ve özellikle OA'lı eklemlerde HA'nın molekül ağırlığının daha fazla azaldığını ve ortalama değerinin ise $1,57 \times 10^6$ dalton olarak izlendiğini rapor etmektedir (149). OA'lı eklemlerde HA'nın

molekül ağırlığında ve konsantrasyonundaki bu değişim, serbest radikallerin etkisiyle HA'nın depolimerizasyonu ve anormal biyosentezi ile ilişkilendirilmektedir (148). Hayvan çalışmalarında, kartilaj ve sinoviyal sıvıda HA'nın azalması, viskozitenin ve moleküler bariyer fonksiyonunun zayıflamasına neden olup, ekstrasellüler matrikste bulunan PG'lerin korunmasını ve enflamatuar cevabın sınırlandırılmasını güçleştirdiği ve bununda kartilajın biyomekanik özelliklerinin ve metabolizmasının değişmesine neden olabileceği ileri sürülmektedir (83,84).

Osteoartritik eklemden sinoviyal sıvının viskozitesinin normale göre azaldığı bilinmekte ve bu durum HA'nın molekül ağırlığının ve konsantrasyonunun azalması ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, intraartiküler HA enjeksiyonunun eklem lubrikasyonunun düzenlenmesinde, endojen yüksek molekül ağırlıklı HA sentezinin uyarılmasında ve sinoviyal sıvının normal reolojik özelliklerinin sağlanmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (150,151). Eksojen yolla uygulanan HA'nın eklem boşluğunda 6 ay boyunca etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmasına rağmen, hayvan çalışmalarında HA'nın eklem boşluğundaki yarılanma ömrünün 13,2 saat olduğu gösterilmiştir (83,152). Eksojen yolla uygulanan HA'nın yarılanma ömrü çok kısa olmasına rağmen, eklemden uzun süre fizyolojik etki göstermesindeki yararlı etki mekanizması henüz tam olarak açıklanamamaktadır (81). Eksojen HA'nın sinoviyal sıvının bozulan viskozitesini ve lubrikatif özelliğini düzenlemesi, sinoviyal membran ve eklem yüzeyinde koruyucu bir bariyer oluşturması, eklem efüzyonunu azaltması, sinoviyal permeabilite üzerine etki ederek serbest radikalleri ve MMP'leri inhibe etmesi ve eklemden endojen HA ile PG sentezini stimüle ederek ve sinoviyal hücre ile kondrosit metabolizmasını düzenleyerek kartilaj yıkımını önlemesi ileri sürülen mekanizmalardır (153,154,155). İn vitro yapılan çalışmalarda, eksojen HA'nın kondrositler ve sinoviyal hücreleri uyarak, PG'lerin sentezini stimüle ettiği gösterilmektedir (156,157). İntraartiküler HA

enjeksiyonunun normal viskoziteyi ve eklem sıvısının elastikiyetini düzenleyerek mekanik yüklerin absorpsiyonunu geliştirmektedir (6). Ayrıca, eksojen HA'nın eklemde antienflamatuar ve analjezik etkisinin de olduğu ve bu antienflamatuar etkiyi serbest radikalleri inhibe etmesi, enflamatuar mediatörlerin seviyesini azaltması, lökositlerin ve makrofajların aktivasyonunu engellemesi ile açıklanmaktadır (158,159). Ağrı reseptörleri ve endojen ağrı maddelerini bloke ederek analjezik etki gösterebildiği ve intraartiküler adezyonu önleyerek, eklem mobilizasyonunda etkili olduğu rapor edilmektedir (160,161).

Ortopedik tedavide intraartiküler HA enjeksiyonu oldukça fazla kullanılmaktadır. Omuz ve diz eklemine yapılan tekrarlayan enjeksiyonlarda iyi sonuçlar elde edilmektedir (162,163). İntraartiküler HA enjeksiyonunun diz eklemine deneysel OA'ya etkisinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığı hayvan çalışmasında, HA grubunda kartilaj yüzeyinin daha düzgün olduğu, kartilajda daha az erozyon ve fissürlerin geliştiği ve osteoartritik lezyonların şiddetinin daha az izlendiği gösterilmiştir (81). Yoshioka ve ark (1997) tavşan diz eklemi OA'sında intraartiküler HA enjeksiyonu, serum fizyolojik enjeksiyonu ve herhangi bir tedavi uygulanmayan 3 grubu karşılaştırdığı çalışmada, 9. haftada 3 grupta da kartilaj yüzeyinde erozyonun geliştiğini, ancak HA grubunda diğer gruplara göre daha az erozyonun izlendiğini göstermiştir. HA grubunda kartilaj kalınlığının değişmediği, diğer gruplarda ise anlamlı olarak azaldığı ve intraartiküler HA'nın kartilaj ve sinoviyal dokuların korunmasında pozitif etkisinin olduğu belirtilmektedir (164). Kobayashi ve ark (2000) tavşan diz eklemine intraartiküler HA'nın OA'ya etkisini kontrol grubu ile değerlendirdiği çalışmasında, eksojen HA'nın diskin remodelling ile total GAG miktarını arttırdığını ve kontrol grubuna göre morfolojik dejenerasyonun daha az izlendiğini bildirmektedir. Kontrol grubunda, 6. ayda artiküler yüzeyde şiddetli derecede fibrilasyonun ve vertikal çatlakların izlendiği, HA grubunda ise artiküler yüzey devamlılığının olduğu gösterilmektedir. Eksojen HA'nın

uzun dönem kondroprotektif etkisi, endojen HA sentezi stimülasyonu ile ilişkilendirilmektedir (165).

TME hastalıklarında düşük molekül ağırlıklı HA'nın etkinliğinin değerlendirildiği birçok klinik çalışmada, ağrı ve fonksiyon bozukluğunun giderilmesinde etkili olduğu bildirilmektedir (166,167,168,169). Düşük molekül ağırlıklı HA'nın osteoartritik TME'de tedavi etkinliğinin değerlendirildiği sınırlı sayıda hayvan çalışması bulunmaktadır.

Neo ve ark (1997) koyunların TME'sinde intraartiküler düşük molekül ağırlıklı HA enjeksiyonunun deneysel OA'ya etkisini kontrol grubu ile kıyasladığı çalışmada, HA grubunda izlenen osteoartritik değişimlerin 1. ve 3. aylarda anlamlı derecede azaldığını ve TME OA'sında eksojen HA'nın hastalığın ilerlemesini engelleyebileceğini bildirmektedir (4).

Kim ve ark (2001) koyunların TME'sinde intraartiküler HA'nın deneysel OA'ya etkisini kontrol grubu ile karşılaştırdığı ve kartilajda gelişen değişimleri histopatolojik ve radyolojik olarak değerlendirdiği çalışmada, 1. ayda kontrol grubunda izlenen dejeneratif değişimlerin şiddetinin çalışma grubuna göre daha fazla olduğunu, 3. ayda kontrol grubunda 1. ayda izlenen patolojik değişimlerin şiddetinin arttığını ve çalışma grubunda ise kartilajda tamir cevabının geliştiğini rapor etmektedir. Çalışma grubunda dejeneratif değişimleri gösteren radyolojik skor 15,3 iken, kontrol grubunda ise 25,3 olarak bildirilmektedir ve tekrarlayan HA enjeksiyonunun OA gelişimini önleyebileceğini ileri sürmektedir (148).

Xinmin ve ark (2005) tavşanlarda TME OA'sında artrosentez, viskosuplementasyon ve artrosentez ardından viskosuplementasyon uygulanan, sağ eklemi kontrol ve sol eklemi çalışma grubu olarak oluşturulan 3 grubu karşılaştırdığı çalışmada, artrosentez grubunda her iki eklem yüzeyinde histopatolojik olarak herhangi bir değişimin izlenmediğini,

viskosuplementasyon grubunda dejenerasyonu gösteren histopatolojik skorun sol eklemdede 3,75, sağ eklemde 7,75 olduğunu, viskosuplementasyon ve artrosentez grubunda ise, bu değererin sol eklemde 2,5 ve sağ eklemde ise 6,5 olarak izlendiğini rapor etmektedir. OA'da artrosentezi takiben uygulanan HA enjeksiyonu OA ilerleyişini önlemede; sadece HA enjeksiyonundan daha başarılı olduğu ve tek başına HA enjeksiyonu patolojik değişikliklerin gelişimini azaltırken; tek başına artrosentezin eklem yüzeyi değişikliklerini yavaşlatmada etkisiz olduğu rapor edilmektedir (146).

Düşük moleköl ağırlıklı HA'nın intraartiküler enjeksiyonu ile OA'nın tedavisi, TME ve vücudun diğer eklemlerindeki etkileri tanımlanmış ve rutin klinik uygulamada kullanılmaktadır. OA'lı eklemlerde farklı moleköl ağırlıklı HA'ların etkinliğinin karşılaştırıldığı hayvan çalışmalarında yüksek moleköl ağırlıklı HA'nın biyolojik aktivitesinin, düşük moleköl ağırlıklı HA'ya göre daha fazla olduğu ileri sürülmektedir (170). Eksojen HA'nın, endojen HA sentezini stimüle ettiği ve bu etkisinin moleköl ağırlığı ile ilişkili olduğu ilk kez 1987 yılında Smith ve Ghosh tarafından ileri sürülmüştür. Moleköl ağırlığı $5,4 \times 10^5$ dalton'dan büyük olan eksojen HA moleküllerinin endojen HA sentezini stimüle ettiği ancak en güçlü stimülasyonun moleköl ağırlığı $6,2 \times 10^5$ ile $3,8 \times 10^6$ dalton arasındaki eksojen HA moleküllerinde izlendiği bildirilmektedir (171,172). Bununla birlikte, in vitro çalışmalarda, moleköl ağırlığı 5 ile 6×10^6 dalton arasında olan HA'nın, endojen HA sentezini arttırdığı ancak moleköl ağırlığı 5 ile 7×10^5 dalton arasındaki HA'nın benzer etkiyi göstermediği bildirilmektedir (171,173). Düşük moleköl ağırlıklı HA'nın tedavi etkinliği 5 enjeksiyon sonucunda sağlanırken, yüksek moleköl ağırlıklı HA'nın daha az sayıda intraartiküler enjeksiyon ile etkili olduğu bildirilmektedir. Hayvan ve insanlar üzerinde yüksek moleköl ağırlıklı HA enjeksiyonu sonuçlarının vücudun diğer eklemlerinde oldukça başarılı olması; reolojik özelliğinin ve retansiyon süresinin düşük moleküllüye oranla uzun olması, HA ile çapraz bağı nedeniyle serbest radikal yıkımına dirençli olması ve enjeksiyon

sıklığının az olmasıyla açıklanmaktadır (147,174,175,176). Mikrotravmaya bağlı gelişebilecek dejenerasyon olasılığının az olması enjeksiyon sayısının az olması ile ilişkilendirilmektedir (177). Tüm bilinen bu özellikleriyle diz, kalça, omuz eklemindeki OA'da yüksek molekül ağırlıklı HA ile yapılan çalışmalarda, hafif ve orta dereceli OA'da yararlı olduğu bildirilmesine rağmen, TME'deki etkileri tam olarak bilinmemektedir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Çalışma Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde, 24 adet erkek, 3,5 aylık ergin, 3,5 kg ağırlığında olan beyaz yeni zellanda tavşanı üzerinde yürütüldü. Tavşanların her biri ayrı kafeste, 21 °C'de, %50 nem oranında, sürekli ılık ve temiz hava olan, 12 saat gündüz 12 saat gece olacak şekilde yapay aydınlatılan bir ortamda barındırıldı (resim 3.1). Tavşanların beslenmesi; sürekli ve sınırsız su olacak şekilde ve herhangi bir gıda kısıtlaması yapılmadan uygulandı. 2 haftalık ortama alışma süresi ve stres düzeyinin en aza inmesi beklendikten sonra çalışmaya başlandı. Tavşanlara hem uygulanacak işlemler hem de görüntüleme sırasında xylazin hidroklorür 10 mg/kg (Rompun, 23,32 mg/ml, Bayer, İstanbul, Türkiye) ve ketamin hidroklorür 25 mg/kg (Ketalar, 50 mg/ml, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) kombinasyonunun intramüsküler yolla enjeksiyonu ile gerekli sedasyon işlemi sağlandı. İşlem uygulanacak olan TME traş edilip, povidin iyodin antiseptik solüsyonu ile dezenfekte edildi. Artrosentez tekniği ile intraartiküler enjeksiyonlarda 29 gauge'lık insülin enjektörü kullanıldı. İntraartiküler enjeksiyon tekniğinde iğnenin ucu, orbitanın inferior duvarının arkasından, temporal kemiğin zigomatik proçesinin altından ve kondilin arkasından girilerek, medioanterior yönde hareket ettirilerek eklem boşluğuna girildi (resim 3.2). Pilot çalışmadan (178) elde edilen uygun dozdaki MIA ile oluşan osteoartrit sonuçları dikkate alınarak, tavşanların her iki eklemine 3 mg/ml'lik MIA solüsyonunun 50µl'lik miktarı enjekte edildi ve 4 hafta bekleme süresinden sonra tavşanların bir eklemine intraartiküler Hylan G-F 20 (2 mL, Synvisc, Wyeth, Genzyme, Biosurgery Ridgefield, NJ, ABD)'nin 4 mg'ı 0,5 ml enjeksiyonu, diğer eklem ise kontrol grubu olarak 5ml % 0,9'luk serum fizyolojik solüsyonu enjekte edildi. (3 hafta süre ile haftada bir kez) (resim 3.3). Çalışmanın sonunda tüm tavşanlara yüksek dozda 0,5 gr thiopental sodyum (Pental, 1gr, I.E. Ulugay, İstanbul, Türkiye) intravenöz yolla verilerek sakrifiye

edildi. Her bir tavşanın bilateral TME' si diseke edilip, alınan doku örnekleri kemik yapıdaki değişikliklerin histolojik olarak değerlendirilmesi amacıyla Çukurova Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Sert Doku Laboratuvarına gönderildi (resim 3.4).



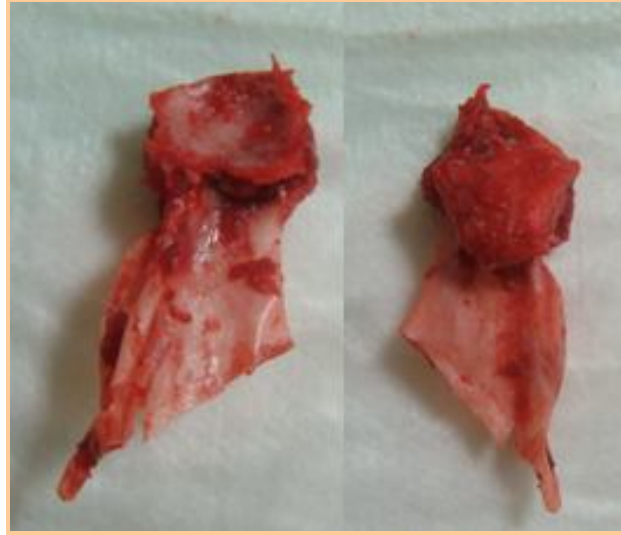
Resim 3.1. Tavşanların barındırılması



Resim 3.2. MIA'ın intraartiküler enjeksiyonu



Resim 3.3. İntraartiküler enjeksiyonda kullanılan Hylan G-F 20



Resim 3.4. Glenoid fossa ile beraber kondil örnekleri

3.2. Radyolojik Görüntüleme

Eklemde oluşan osteoartritik değişiklikler üzerinde Hylan G-F 20'nin ve % 0,9'luk serum fizyolojik solüsyonunun etkilerinin radyolojik olarak belirlenmesi BT üzerinde yapıldı. Her iki eklemde intraartiküler enjeksiyonları öncesi ve sonrası 4., 6. ve 8. haftalarda BT alındı (resim 3.5).



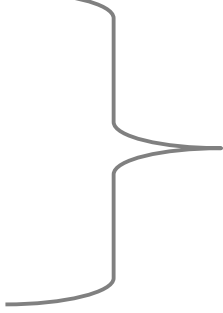
Resim 3.5. Tavşanlardan BT alınması

BT üzerinde osteoartritik değişikliklerin radyolojik skorlaması yapıldı (179). OA belirtileri olan erozyon, skleroz, osteofit ve düzleşme mandibular kondilde medial, santral, ve lateral bölgelerde olmak üzere 3 bölgede skorlama yapılarak değerlendirildi. Skorlama sisteminde; kondilin üst yarısının 1/3 kısmında tanımlanmış alanda bulunan erozyon ve/veya skleroz minör değişim, 2/3 kısmında bulunan erozyon ve/veya skleroz orta dereceli değişim, kondilin tamamını etkileyen alanda bulunan erozyon ve/veya skleroz ise şiddetli dereceli değişim olarak değerlendirildi ve toplam skorlar aşağıdaki değerlere göre yapıldı:

1. Normal: 0
2. Minör değişiklik: 1 ile 5 arasında
3. Orta dereceli değişiklik: 6 ile 17 arasında
4. Şiddetli dereceli değişiklik: 18 ile 29 arasında

BT üzerinde osteoartritik değişikliklerin radyolojik skorlaması:

Osteoartrit Belirtileri:

1. Erozyon
 2. Skleroz
 3. Osteofit
 4. Düzleşme
- 
- mandibular kondilde 3 bölgede**
(medial-santral-lateral bölgede)

Erozyon ve skleroz için skor:

1. Minör: Mandibular kondilin üst yarısının 1/3 kısmında tanımlanmış alanda bulunan
2. Orta dereceli: Mandibular kondilin üst yarısının 2/3 kısmında tanımlanmış alanda bulunan
3. Şiddetli dereceli: Mandibular kondilin tamamını etkileyen alanda bulunan

Mandibular Kondil:

Erozyon ve skleroz:

0. Yok
1. Minör
2. Orta
3. Şiddetli

EROZYON: 0-9

SKLEROZ: 0-9

Osteofit:

0. Yok
1. Minör
2. Şiddetli

OSTEOFİT:0-9

Düzleşme:

0. Yok
1. Var

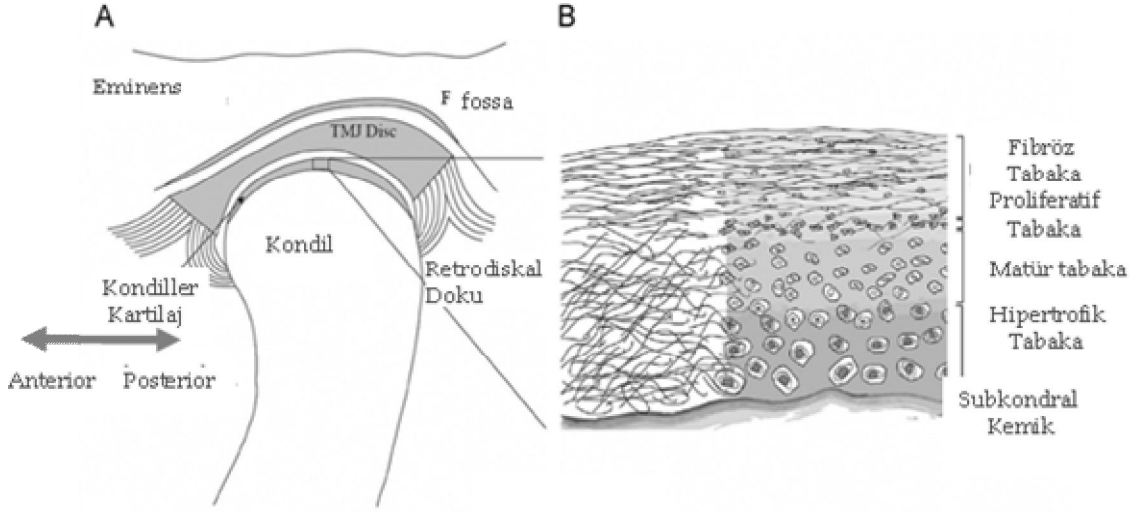
DÜZLEŞME: 0-3

3.3. Unkalsifiye Boyama Tekniği

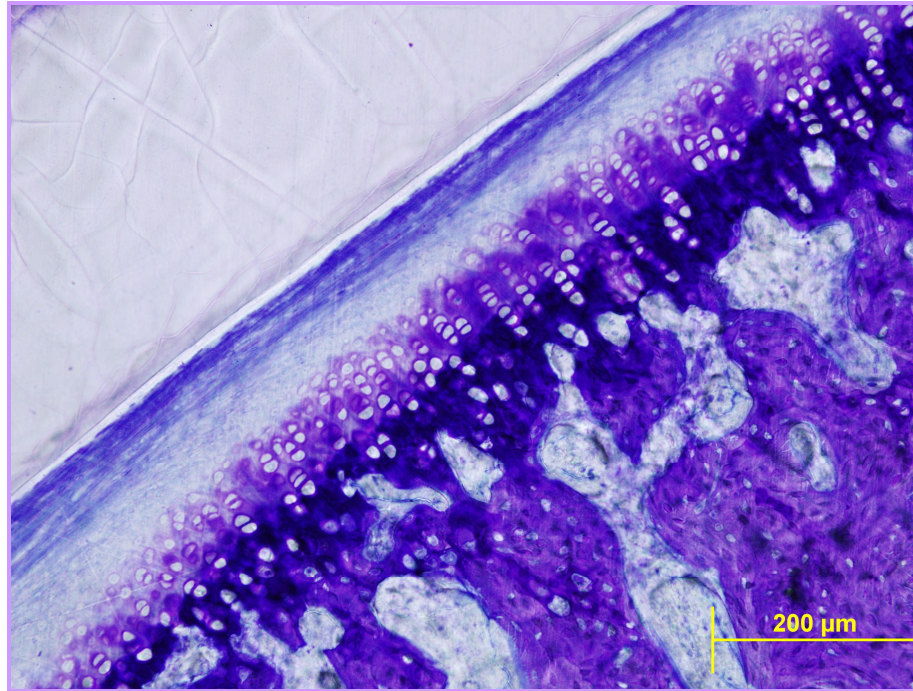
Deney hayvanından alınan eklem örnekleri 15 ile 30 dk süre ile 4°C de formalin ile ön fiksasyona tabi tutuldu. Örneklerin daldırma ile tam olarak fikse edilebilmesi için 2 ile 4 mm den kalın olmadan mevcut hazırlanan örnekler 6 ile 12 saat süreyle fiksasyona tabi tutuldu. Artan oranlarda alkol ile dehidratasyon işlemi yapıldı. Doku kalınlığına bağlı olan dehidratasyon zamanı otomatik cihazla vakum altında 12 saatte gerçekleştirildi. Örnekler 1:1 oranında karıştırılan saf glikolmetakrilat (glycolmethacrylate) ve embedding medium (Technovit 7200 VLC) içerisinde, vakum altında 8 ile 12 saat süreyle tutuldu. Örneklerin gömülmesi (embedding) ve polimerizasyonda özel şeffaf kutucuklar (molds) içerisine embedding medium (Technovit 7200 VLC ve 4000) kullanılarak hava kabarcığı olmaması için vakum altında gömüldü. Bu kutucuklar sabit 40°C altında, düşük intensitede (sarı) ışık altında 4 saat polimerize edildi. Doku

içine işlemiş olan embedding medium ancak yüksek intensitede (mavi ışık, 450nm) tam olarak polimerize edildi. Tamamen sertleşmiş olan bloklar şeffaf kutucuklar kırılarak çıkarıldı ve düz olan alt yüzey bir slide üzerine Technovit 7210 (Kulzer& Co, Wehrheim, Germany) kullanılarak vakum altında yapıştırıldı. Bir örnekten alınan çok sayıdaki kesitlerin her biri için paralel yüzey hazırlığı yapıldı. Bu işlem "Exact micro-grinding system" kullanılarak yapıldı. 1200 grit zımpara kullanılarak yüzey paralelliği sağlandıktan sonra, 4000 grit zımpara ile polisaj yapıldı. Örneklerden "Exact cutting system" ile 100µm kalınlıkta kesitler elde edildi. "Exact micro-grinding system" e bağlanan slide önceden hesaplanmış olan kalınlığa kadar inceltildi. İnceltmede değişik kalınlıkta zımpara kağıtları kullanıldı. Ancak metal içeren örneklerde elmas kaplı aşındırma diskleri daha iyi sonuç vermektedir. Toluidin mavisi, hematoksilin-eozin, astra blue, Masson-Trichrom-Goldner boyama yöntemlerinden biri uygulanıldı. Technovit 7200 (parafinde olabilir) ile preparat kaplanarak bitirildi. Preparatlar Olympus Bx50 mikroskopta, polarize ışık altında incelendi. Bu sistemden dijital kamera ile alınan görüntülerin analizleri bilgisayar programı kullanılarak yapıldı.

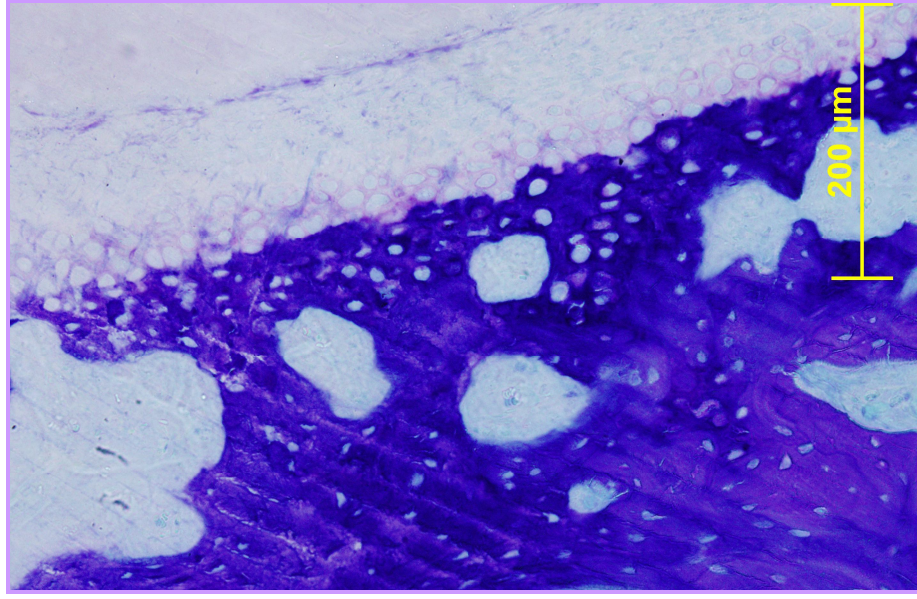
Çalışmada histolojik değerlendirmede, kondil kartilajında fibröz, prekondroblastik, fibrokartilaj ve mineralize tabakanın varlığı incelendi. 4 tabakadan oluşan kondil bölgesi şematik olarak belirtilen bölge üzerinden değerlendirildi (resim 3.6, 3.7). Kondrositlerin görünümü normal, hiposellüerite ve kümeleşme göstermesine göre değerlendirildi (resim 3.8, 3.9, 3.10). Kartilajın kalınlığında artış veya incelmeye, osteokondral birleşimin görünümü normal, invajinasyon ve zayıf birleşim göstermesine göre değerlendirildi (resim 3.11, 3.12).



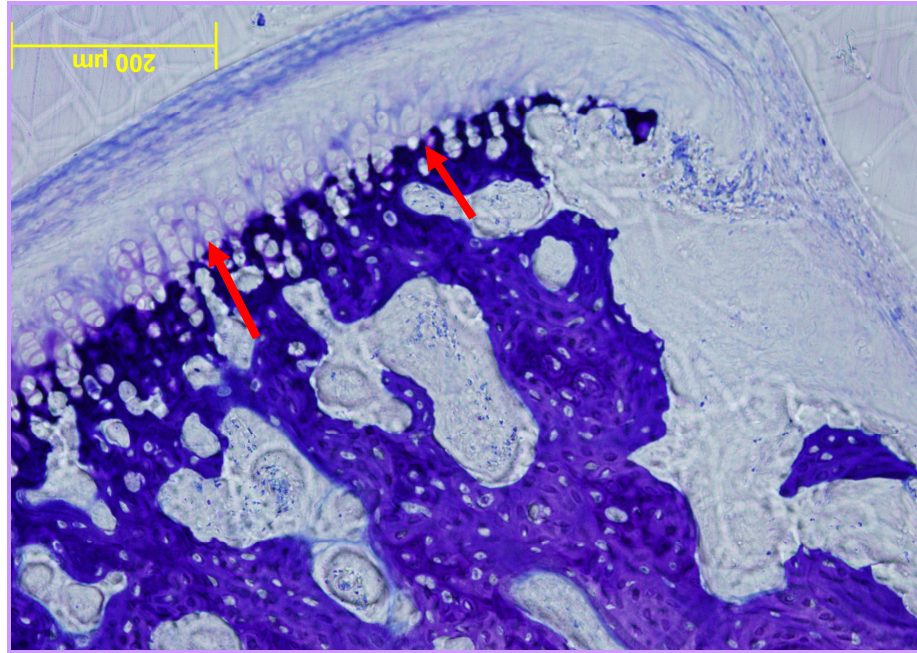
Resim 3.6. TME kartilaj tabakalarının şematik görüntüsü



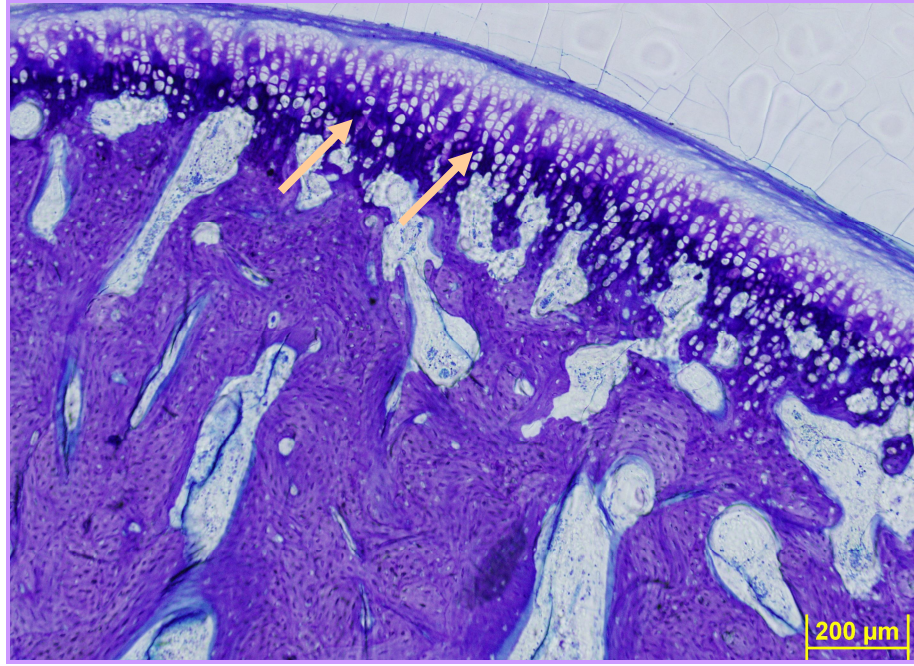
Resim 3.7. Tavşan kondilinin normal histolojik görüntüsü (toluidin mavisi x40)



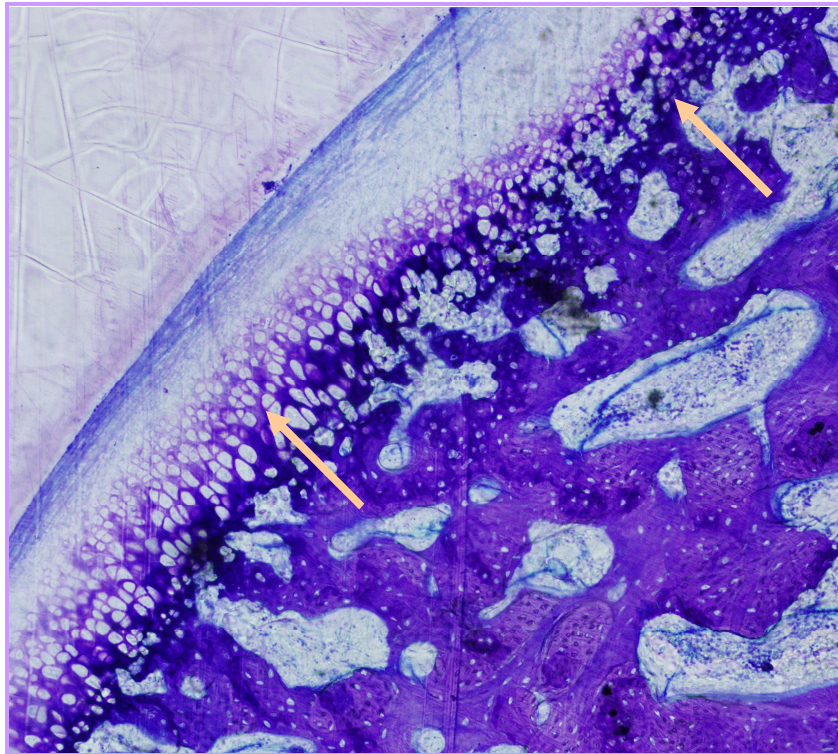
Resim 3.8. Kondiller kartilajda izlenen hiposellüleritenin histopatolojik görüntüsü
(toluidin mavisi x40)



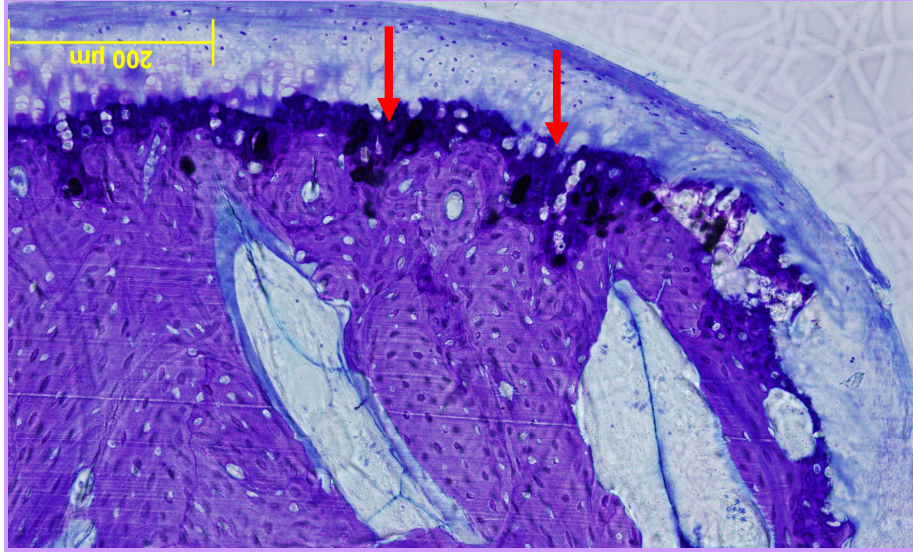
Resim 3.9. Kondiller kartilajda izlenen hiposellüleritenin histopatolojik görüntüsü
(toluidin mavisi x40)



Resim 3.10. Kondiller kartilajda izlenen kümeleşmenin histopatolojik görüntüsü
(toluidin mavisi x40)



Resim 3.11. Kondiller kartilajda izlenen kalınlaşmanın histopatolojik görüntüsü
(toluidin mavisi x40)



Resim 3.12. Kondiller kartilajda izlenen derin invajinasyon (toluidin mavisi x40)

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

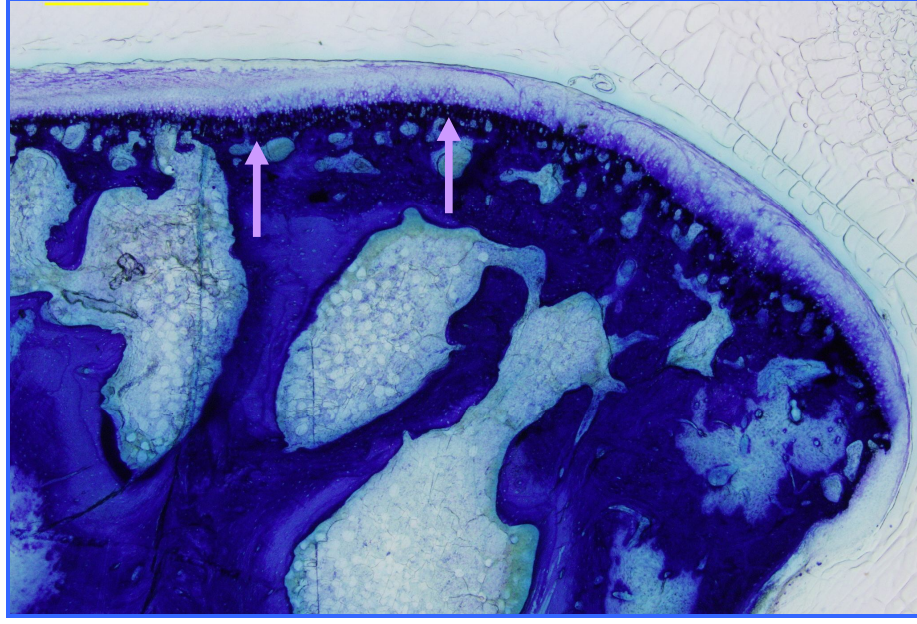
Tüm parametrelerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS/PC 17.0'da yapıldı. Tedavi sonrasındaki parametrelerin gruplar arasındaki farklılığı Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi ile analiz edildi. Histopatolojik ve radyolojik bulguların hem tek bir grubun farklı zaman aralıkları arasındaki farkın hem de aynı zaman periyodunda farklı gruplar arasındaki farkın belirlenmesi χ^2 testi ile analiz edildi. Hem histopatolojik hem de radyolojik parametreler arasındaki ilişkinin derecesi ve yönü Spearman's korelasyon ile analiz edildi.

4. BULGULAR

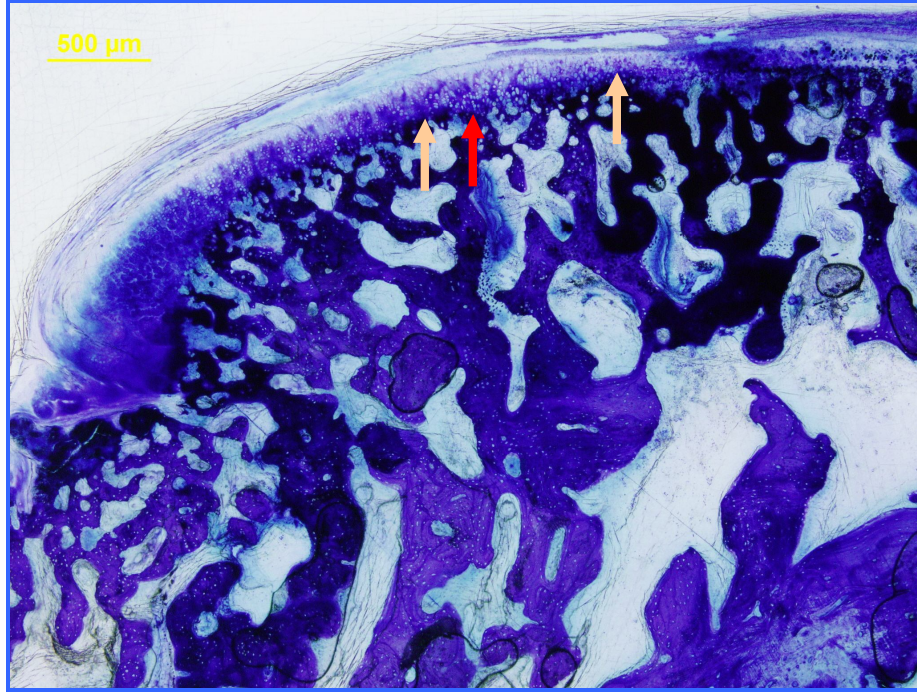
24 adet tavşanın her iki eklemünde takip dönemlerinde kondil tabakalarındaki değişimler tablo 4.1'de gösterilmektedir. Kontrol grubunda 4. haftada 6 (%75) eklem kartilajında, 7 (%87,5)'sinin subkondral kemiğinde değişim belirlenirken, çalışma grubunda ise, 4 (%50) eklem kartilajında, 5 (%62,5)'inin subkondral kemiğinde değişim izlendi. 4. hafta kontrol ve çalışma grubunda osteokondral birleşimde invajinasyon sırasıyla 3 (%37,5) ve 1 (%12,5) iken zayıf birleşim 2 (%25) ve 4 (%50) olarak izlendi (resim 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5). 4. haftada kontrol grubunda kartilaj, osteokondral birleşim ve subkondral kemikte izlenen değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0,05$), subkondral kemikte izlenen dejeneratif değişimler anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p=0,034$). Çalışma grubunda ise, kartilaj ile osteokondral birleşim ($p=0,000$, $r=0,956$) ve subkondral kemikte ($p=0,024$, $r=0,775$) izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon belirlendi.

Tablo 4.1. Kontrol ve çalışma grubunda kondil tabakalarındaki değişimlerin 4., 6., ve 8. haftalara göre dağılımı

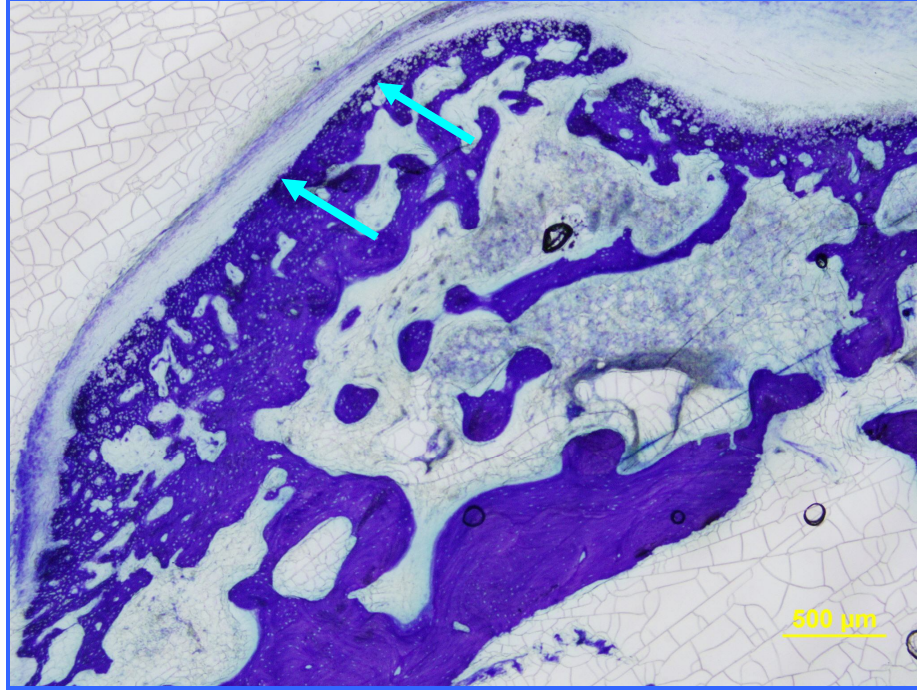
Kondil tabakalarındaki değişimler		N=24	4. hafta	6.hafta	8. hafta
KONTROL GRUBU (N=24)	Kartilaj	Normal	2(%25)	5(%62,5)	6(%75)
		İncelme	3(%37,5)	1(%12,5)	1(%12,5)
		Kalınlaşma	3(%37,5)	2(%25)	1(%12,5)
	Osteokondral birleşim	Normal	3(%37,5)	4(%50)	4(%50)
		İnvajinasyon	3(%37,5)	2(%25)	4(%50)
		Zayıf	2(%25)	2(%25)	0(%0)
	Subkondral kemik	Normal	1(%12,5)	4(%50)	3(%37,5)
		Trabeküler kemik artışı	7(%87,5)	4(%50)	5(%62,5)
	Kondrosit	Normal	2(%25)	3(%37,5)	6(%75)
		Hiposelüerite	2(%25)	3(%37,5)	0(%0)
Kümeleşme		4(%50)	2(%25)	2(%25)	
Kartilaj	Normal	4(%50)	6(%75)	6(%75)	
	İncelme	4(%50)	1(%12,5)	0(%0)	
	Kalınlaşma	0(%0)	1(%12,5)	2(%25)	
Osteokondral birleşim	Normal	3(%37,5)	4(%50)	5(%62,5)	
	İnvajinasyon	1(%12,5)	3(%37,5)	2(%25)	
	Zayıf	4(%50)	1(%12,5)	1(%12,5)	
Subkondral kemik	Normal	3(%37,5)	4(%50)	4(%50)	
	Trabeküler kemik artışı	5(%62,5)	4(%50)	4(%50)	
Kondrosit	Normal	1(%12,5)	5(%62,5)	7(%87,5)	
	Hiposelüerite	3(%37,5)	1(%12,5)	0(%0)	
	Kümeleşme	4(%50)	2(%25)	1(%12,5)	



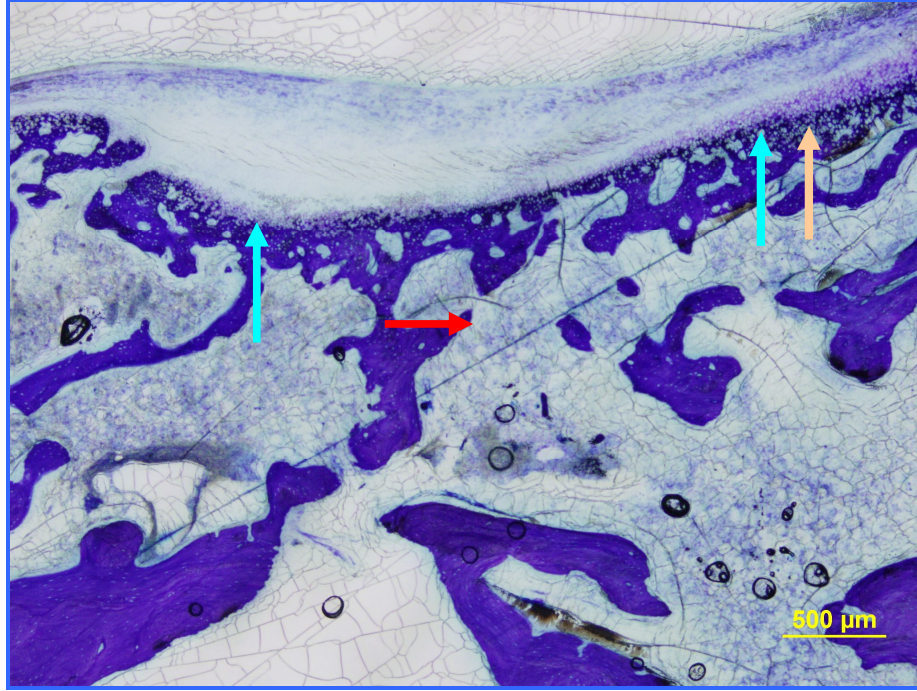
Resim 4.1. Kartilajda kalınlaşma, normal osteokondral birleşim ve kondrositlerde kümeleşme (Kontrol grubu, 4. hafta)(toluidin mavisi x40)



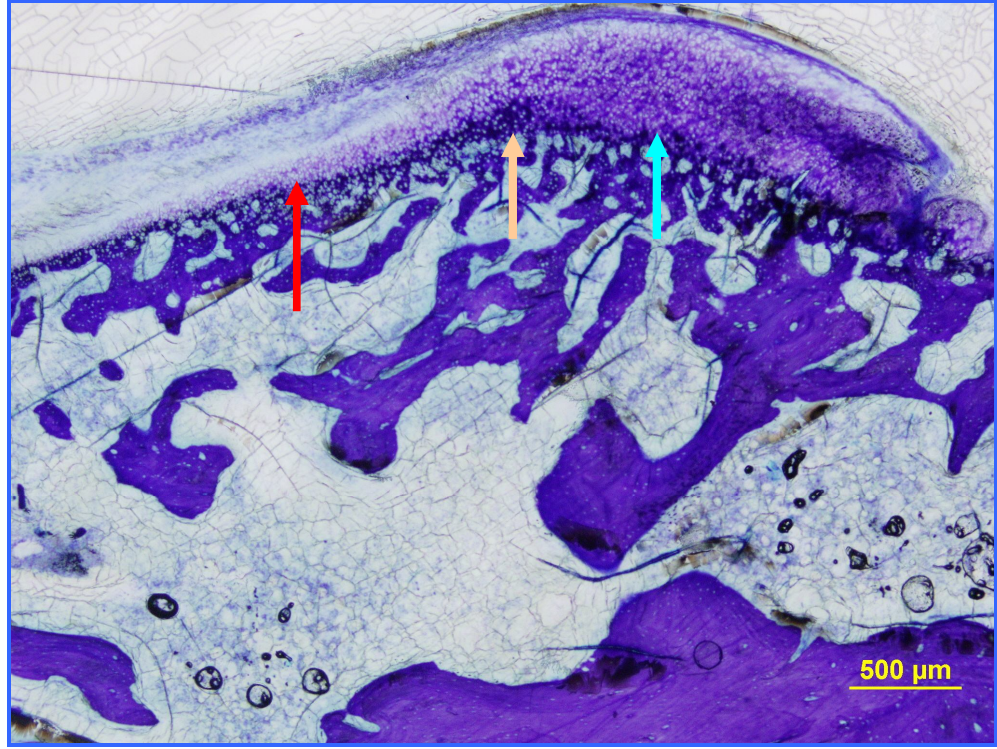
Resim 4.2. Kartilajda incelme, zayıf osteokondral birleşim, subkondral kemikte trabeküler yapıda artış ve kondrositlerde kümeleşme (Çalışma grubu, 4. hafta) (toluidin mavisi x40)



Resim 4.3. Kartilajda incelme (Çalışma grubu, 4. hafta) (toluidine mavisi x40)



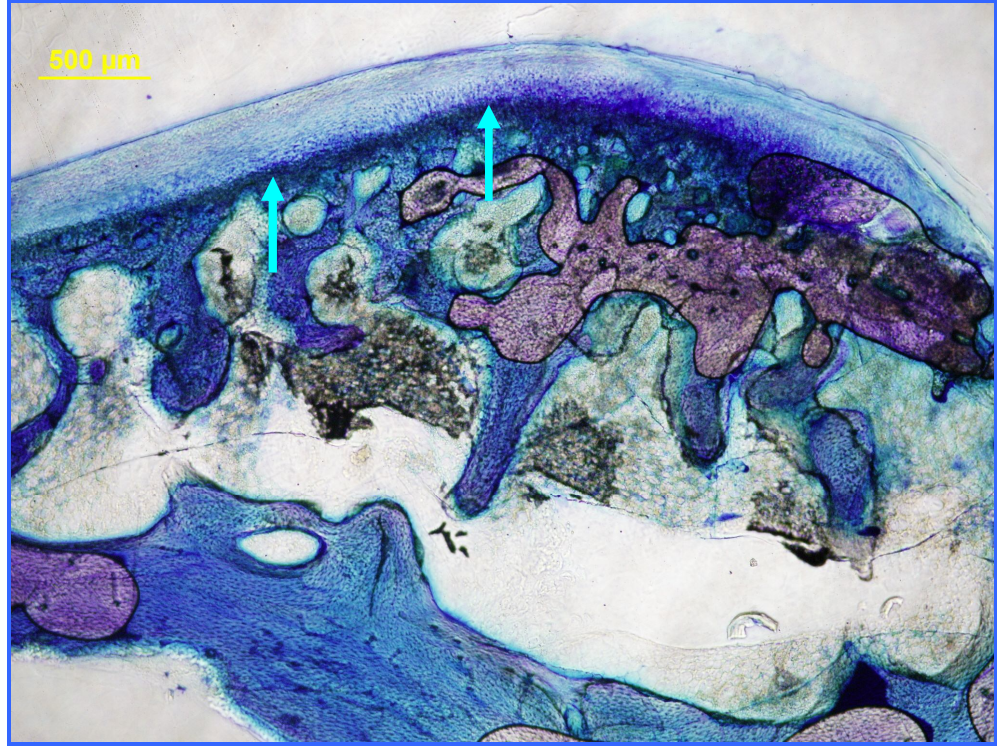
Resim 4.4. Kartilajda kalınlaşma, subkondral kemikte trabeküler yapıda artış ve kondrositlerde kümeleşme (Çalışma grubu, 4. hafta)
(toluidin mavisix 40)



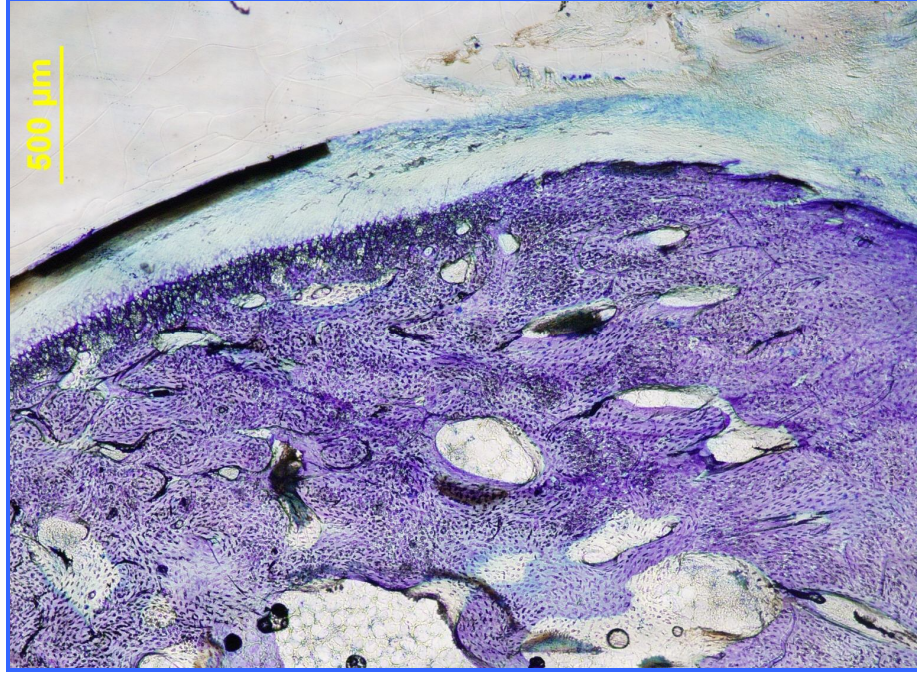
Resim 4.5. Kartilajda kalınlaşma, derin invajinasyon ve kondrositlerde kümeleşme (Çalışma grubu, 4. hafta) (toluidin mavisi x40)

6. haftada kontrol grubunda, 3 (%37,5) eklem kartilajında, 4 (%50)'ünün subkondral kemiğinde değişim izlenirken, çalışma grubunda ise, 2 (%25) eklemden kartilajda, 4 (%50)'ünde subkondral kemikte değişim bulundu. 6. hafta kontrol ve çalışma grubunda osteokondral birleşimde invajinasyon sırasıyla 2 (%25) ve 3 (%37,5) iken zayıf birleşim 2 (%25) ve 1 (%12,5) olarak izlendi (resim 4.6, 4.7, 4.8, 4.9). Kontrol grubunda kartilaj ile osteokondral birleşimde ($p=0,044$, $r=0,720$) ve subkondral kemikte ($p=0,017$, $r=0,802$) izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon izlendi. Çalışma grubunda ise, kartilaj, osteokondral birleşim ve subkondral kemikte izlenen değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Kontrol grubunda osteokondral birleşim ($p=0,002$, $r=-0,901$) ve subkondral kemik ($p=0,000$, $r=-0,956$) ile çalışma grubu osteokondral birleşimde izlenen değişimler arasında negatif yönde bir korelasyon belirlendi. Kontrol grubunda kartilaj ile

Çalışma grubunda subkondral kemikte izlenen değişimler arasında negatif yönde bir korelasyon belirlendi. ($p=0,030$, $r=-0,756$).



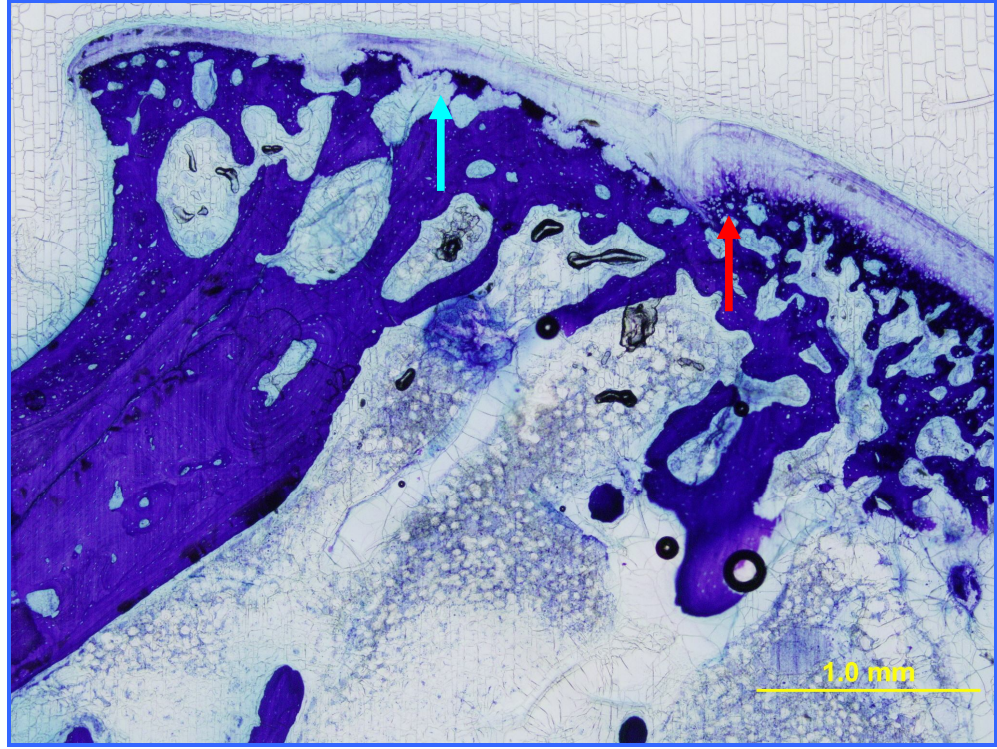
Resim 4.6. Kartilajda kalınlaşma, osteokondral birleşimde zayıf birleşim, subkondral kemikte trabeküler yapıda artış (Kontrol grubu, 6. hafta)
(toluidin mavisi x40)



Resim 4.7. Kartilaj, osteokondral birleşimde ve kondrositlerde normal görünüm (Kontrol grubu, 6. hafta) (toluidin mavisi x40)



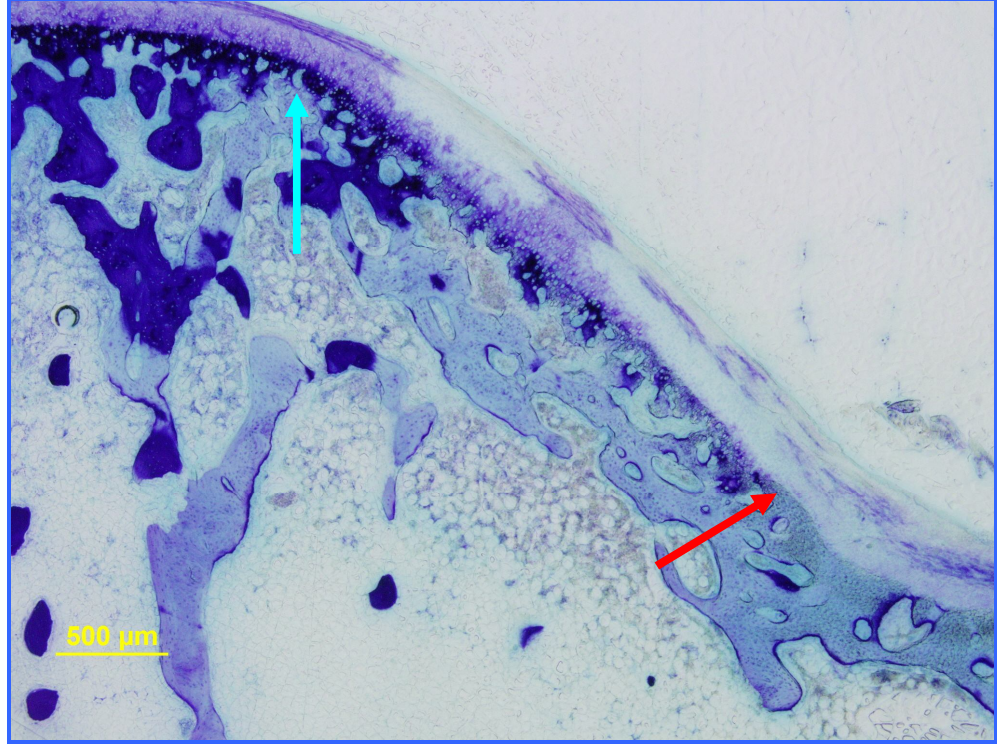
Resim 4.8. Derin invajinasyon, subkondral kemikte trabeküler yapıda artış ve kondrositlerde kümeleşme (Çalışma grubu, 6. hafta) (toluidin mavisi x40)



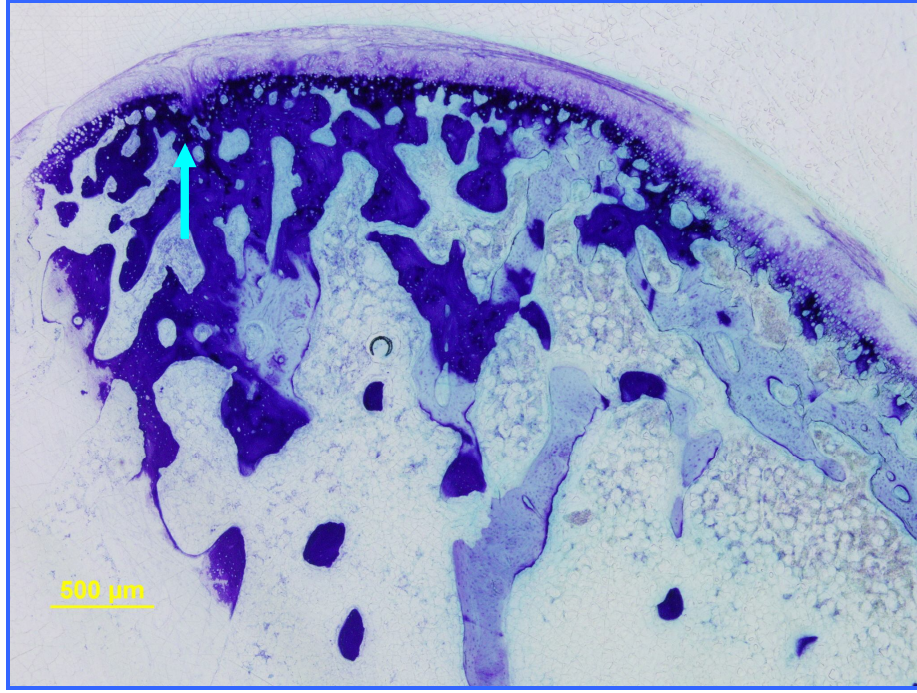
Resim 4.9. Kartilajda incelmeye, osteokondral birleşimde invajinasyon, trabeküler yapıda artış ve kondrositlerde kümeleşme (Çalışma grubu, 6. hafta)
(toluidin mavisi x40)

8. haftada kontrol grubunda 2 (%25) eklemin kartilajında, 4 (%50)'ünün subkondral kemiğinde, çalışma grubunda ise, 2 (%25) eklemin kartilajında, 3 (%37,5)'ünün osteokondral birleşimde değişim izlendi. 8. haftada; kontrol grubunda kartilajda izlenen değişimlerin anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu ($p=0,006$, $r=0,864$). 8. hafta kontrol ve çalışma grubunda osteokondral birleşimde invajinasyon sırasıyla 4 (%50) ve 2 (%25) iken zayıf birleşim 0 (%0) ve 1 (%12,5) olarak izlendi (resim resim 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14). Kontrol grubunda kartilaj, osteokondral birleşim ve subkondral kemik izlenen değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Çalışma grubunda osteokondral birleşim ile subkondral kemikte izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon belirlendi ($p=0,030$, $r=0,756$).

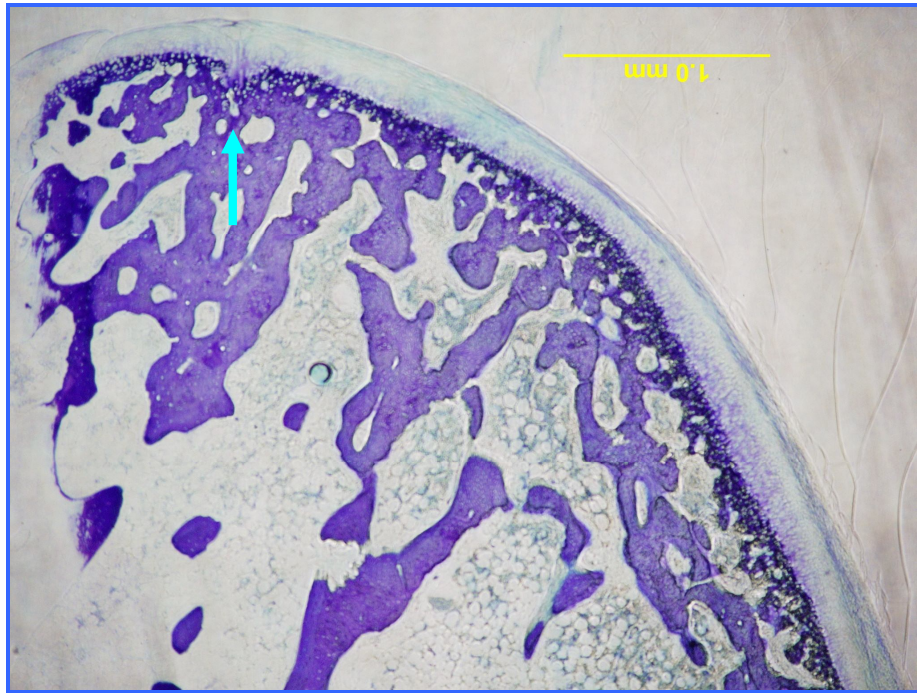
Kontrol grubunda subkondral kemik ile çalışma grubunda kartilajda izlenen değişimler arasında negatif yönde bir korelasyon izlendi ($p=0,034$, $r=-0,745$).



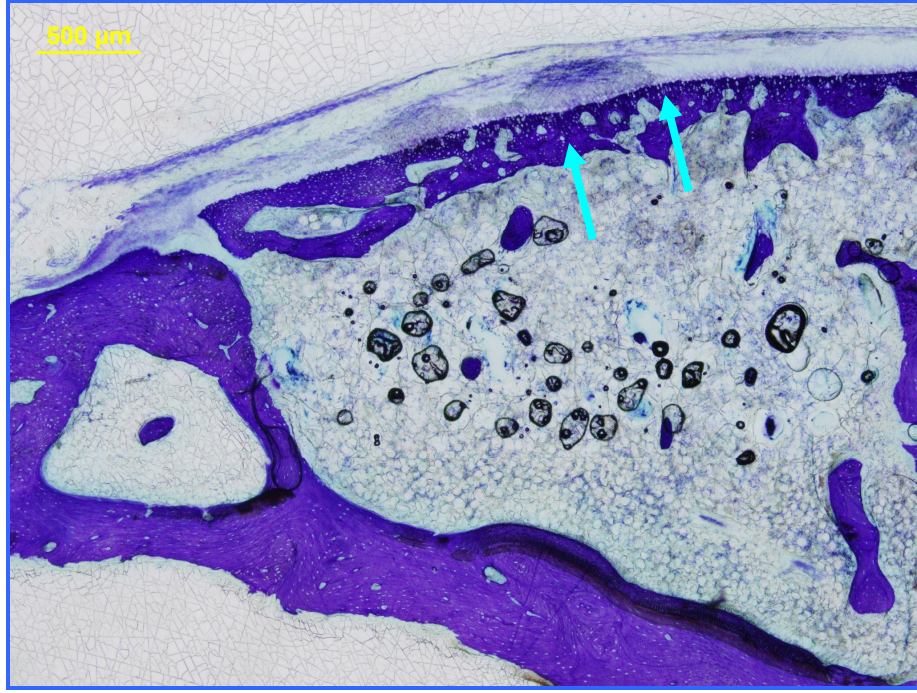
Resim 4.10. Kartilaj normal görünümde, osteokondral birleşimde invajinasyon, trabeküler yapıda artış ve kondrositlerde kümeleşme (Kontrol grubu, 8. hafta) (toluidin mavisi x40)



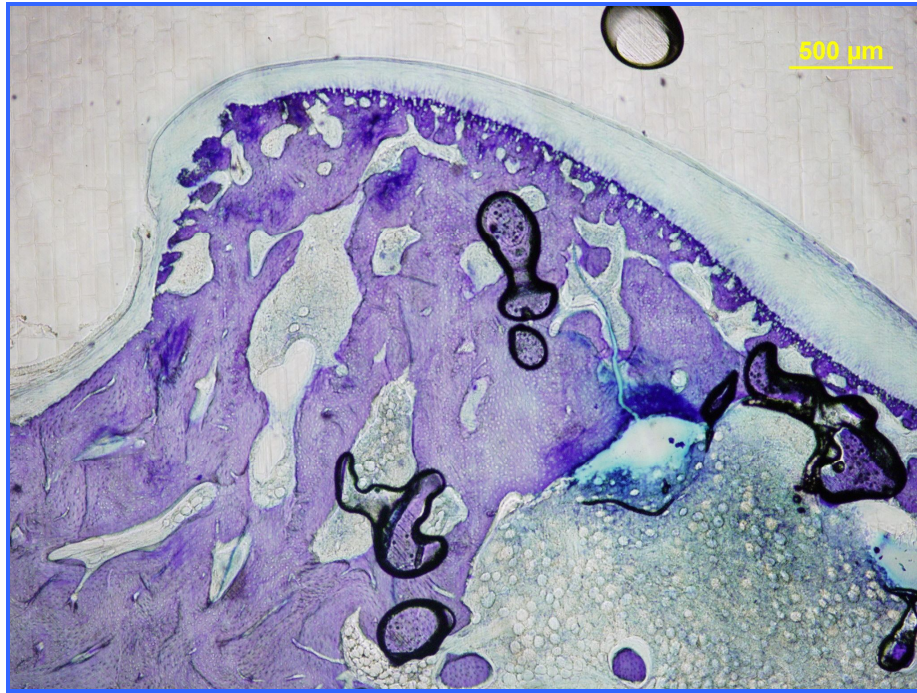
Resim 4.11. Derin invajinasyon ve kondrositlerde kümeleşme
(Kontrol grubu, 8. hafta) (toluidin mavisi x40)



Resim 4.12. Derin invajinasyon ve kondrositlerde kümeleşme
(Kontrol grubu, 8 hafta) (toluidin mavisi x40)



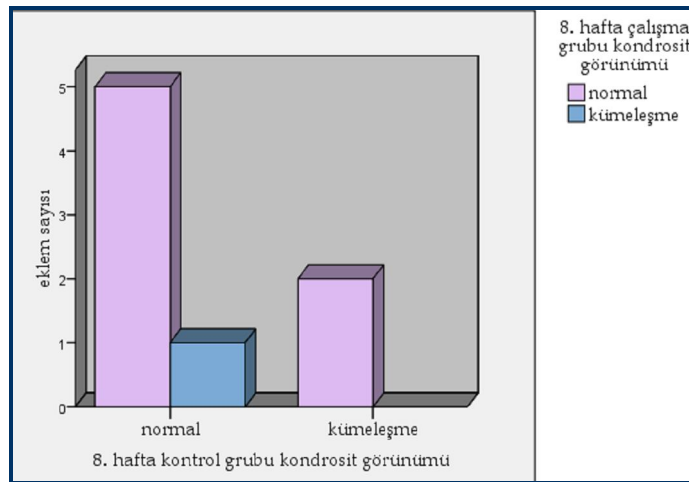
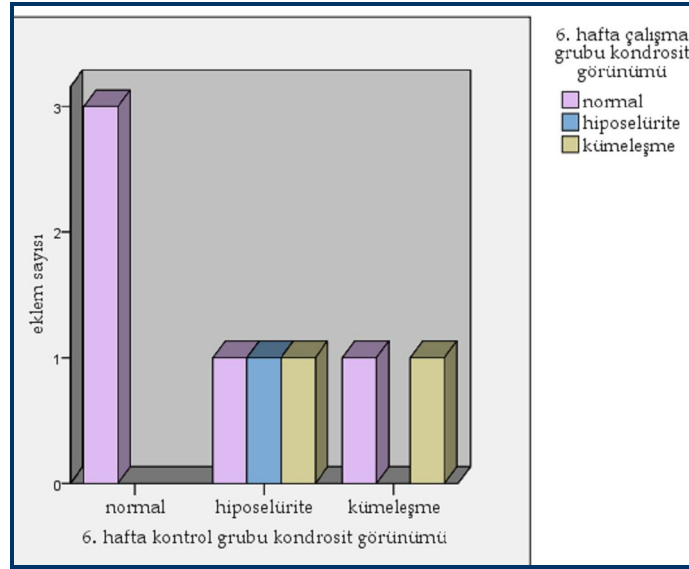
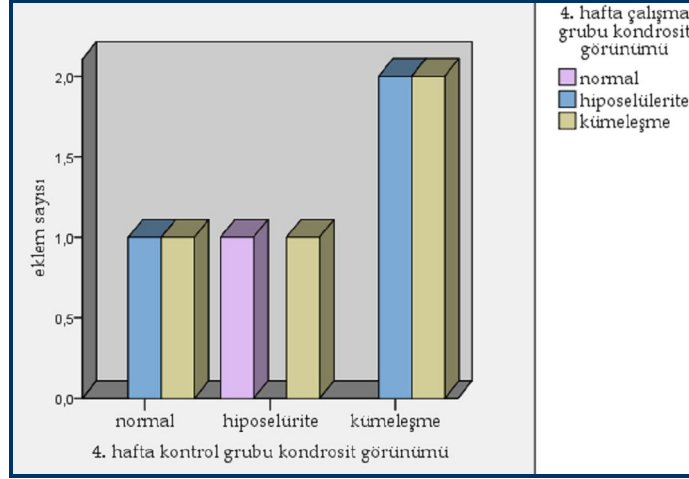
Resim 4.13. Kartilajda kalınlaşma, trabeküler yapıda artış ve kondrositlerde normal görünüm (Çalışma grubu, 8. hafta) (toluidin mavisi x40)



Resim 4.14. Kartilajda kalınlaşma, trabeküler yapıda azalma ve kondrositlerde normal görünüm (Çalışma grubu, 8. hafta) (toluidin mavisi x40)

Her iki grubun 4. haftada kartilajda izlenen değişimleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,034$, $r=0,745$). Kontrol grubunda 4. ve 6. haftalar arasında kartilajda izlenen değişimlerin anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu ($p=0,024$, $r=0,775$). Kontrol grubunda 4. haftada kartilajda izlenen değişimlerin, 8. haftada çalışma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bulundu ($p=0,017$, $r=-0,800$). Kontrol grubunda 4. haftada kartilaj ile 8. haftada subkondral kemikte izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon belirlendi ($p=0,024$, $r=0,775$). Kontrol grubunda 4. haftada osteokondral birleşim ile çalışma grubunda 8. haftada subkondral kemikte izlenen değişimler arasında negatif yönde bir korelasyon belirlendi ($p=0,015$, $r=-0,808$). Çalışma grubunda 6. haftada kartilaj ile 8. haftada osteokondral birleşimde izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon belirlendi ($p=0,013$, $r=0,819$).

Kondrositlerin görünümünde izlenen değişimlerin 4., 6. ve 8. haftalarda kontrol ve çalışma grubundaki dağılımı şekil 4.1’de gösterilmektedir. 4 ile 8. haftalarda her iki gruptaki kondrositlerin görünümündeki değişimler sırasıyla kontrol grubunda 6 (%75) ve 2 (%25), çalışma grubunda ise 7 (%87,5) ve 1 (%12,5) eklemden izlendi. Tüm takip dönemlerinde kondrositlerin görünümündeki değişimlerin kontrol grubunda hiposellülerite 5 eklemden, kümeleşme ise 8 eklemden izlenirken, çalışma grubunda ise sırasıyla 4 ve 7 eklemden izlendi. Kontrol grubunda 6. hafta ile çalışma grubunda 4. haftada kondrositlerin görünümünde izlenen değişimler arasında negatif yönde bir korelasyon izlendi ($p=0,009$, $r=-0,842$). Çalışma grubunda 4., 6. ve 8. haftalarda kondrositlerdeki değişimlerin anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi ($p=0,034$) (şekil 4.1).



Şekil 4.1. Kondrosit görünümünde izlenen değişimlerin 4., 6. ve 8. haftalarda kontrol ve çalışma grubundaki dağılımı

Kontrol ve çalışma grubunun 4., 6. ve 8. haftalarda eklem kartilaj tabakasındaki değişiklik ile kondrositlerin görünümüne göre dağılımı tablo 4.2, 4.3 ve 4.4’de gösterilmektedir. 4. haftada kontrol grubunda kartilajda kalınlaşma izlenen 3 eklem 2’sinde kondrositlerde kümeleşme izlenirken, çalışma grubunda kartilajda incelme izlenen eklemlerde hiposelülerite ve kümeleşme izlendi (tablo 4.2).

Tablo 4.2. Kontrol ve çalışma grubundaki kartilaj tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 4. haftadaki dağılımı

	Kartilaj	Kondrosit görünümü		
		Normal	Hiposelülerite	Kümeleşme
Kontrol grubu (N=8)	Normal	1	-	1
	İncelme	1	1	1
	Kalınlaşma	-	1	2
Çalışma grubu (N=8)	Normal	1	1	2
	İncelme	-	2	2
	Kalınlaşma	-	-	-

6. haftada kontrol grubunda kartilajda kalınlaşma izlenen eklemlerde kondrositlerde kümeleşme ve hiposellülerite izlenirken, çalışma grubunda kartilajda kalınlaşma izlenen bir eklemden kondrositlerin normal görünümde olduğu belirlendi (tablo 4.3).

Tablo 4.3. Kontrol ve çalışma grubundaki kartilaj tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 6. haftadaki dağılımı

	Kartilaj	Kondrosit görünümü		
		Normal	Hiposelülerite	Kümeleşme
Kontrol grubu (N=8)	Normal	3	2	-
	İncelme	-	-	1
	Kalınlaşma	-	1	1
Çalışma grubu (N=8)	Normal	4	1	1
	İncelme	-	-	1
	Kalınlaşma	1	-	-

8. haftada kontrol grubunda kartilajda değişimin izlenmediği 5 eklemde kondrositler normal görünümde iken, çalışma grubunda 6 eklemde kartilaj ve kondrositler normal görünümde idi (tablo 4.4). Tüm takip dönemlerinde her iki grubun kartilaj ile kondrosit görünümünde izlenen değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.4. Kontrol ve çalışma grubundaki kartilaj tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 8. haftadaki dağılımı

	Kartilaj	Kondrosit görünümü		
		Normal	Hiposelüerite	Kümeleşme
Kontrol grubu (N=8)	Normal	5	-	1
	İncelme	-	-	1
	Kalınlaşma	1	-	-
Çalışma grubu (N=8)	Normal	6	-	-
	İncelme	-	-	-
	Kalınlaşma	1	-	1

Kontrol ve çalışma grubundaki osteokondral birleşim tabakasındaki değişim ile kondrositlerin görünümünün 4., 6. ve 8. haftalardaki dağılımı tablo 4.5, 4.6 ve 4.7' de gösterilmektedir. 4. haftada kontrol grubunda 3 ekleme izlenen invajinasyonda kondrositlerin kümeleştiği ve hiposellüleritenin izlendiği, zayıf birleşimi olan 2 eklemde birinde hiposellülerite izlenirken, çalışma grubunda invajinasyon izlenen 1 ekleme kondrositlerin kümeleştiği, zayıf birleşim izlenen 4 ekleme hiposellülerite ve kümeleşme izlendi (tablo 4.5).

Tablo 4.5. Kontrol ve çalışma grubundaki osteokondral birleşim tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 4. haftadaki dağılımı

	Osteokondral Birleşim	Kondrosit görünümü		
		Normal	Hiposellülerite	Kümeleşme
Kontrol grubu (N=8)	Normal	1	-	2
	İnvajinasyon	-	1	2
	Zayıf	1	1	-
Çalışma grubu (N=8)	Normal	1	1	1
	İnvajinasyon	-	-	1
	Zayıf	-	2	2

6. haftada kontrol grubunda 2 eklemden izlenen invajinasyonda sadece 1 eklemden hiposellülerite izlendi ve zayıf birleşimin olduğu 2 eklemden kondrositlerde kümeleşmeler izlenirken, çalışma grubunda invajinasyon izlenen 3 eklemde 2'sinde kondrositlerde hiposellülerite ve kümeleşme, zayıf birleşim izlenen 1 eklemden ise normal görünümde kondrositler izlendi (tablo 4.6).

Tablo 4.6. Kontrol ve çalışma grubundaki osteokondral birleşim tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 6. haftadaki dağılımı

	Osteokondral	Kondrosit görünümü		
	Birleşim	Normal	Hiposellülerite	Kümeleşme
Kontrol grubu				
(N=8)	Normal	2	2	-
	İnvajinasyon	1	1	-
	Zayıf	-	-	2
Çalışma grubu				
(N=8)	Normal	3	-	1
	İnvajinasyon	1	1	1
	Zayıf	1	-	-

8. haftada kontrol grubunda 4 eklemden izlenen invajinasyonda sadece 1 eklemden kondrositlerde kümeleşme izlenirken, çalışma grubunda invajinasyon izlenen 2 eklemde 1'inde kondrositlerde kümeleşme, zayıf birleşim izlenen 1 eklemden ise normal görünümde kondrositler görüldü (tablo 4.7). 8. haftada kontrol grubunda osteokondral birleşim ile 6. haftada çalışma grubunda kondrositlerin görünümünde izlenen değişimler arasında negatif yönde bir korelasyon belirlendi ($p=0,030$, $r=-0,756$).

Tablo 4.7. Kontrol ve çalışma grubundaki osteokondral birleşim tabakalarındaki değişim ile kondrosit görünümünün 8. haftadaki dağılımı

	Osteokondral birleşim	Kondrosit görünümü		
		Normal	Hiposelüerite	Kümeleşme
Kontrol grubu (N=8)	Normal	3	-	1
	İnvajinasyon	3	-	1
	Zayıf	-	-	-
Çalışma grubu (N=8)	Normal	5	-	-
	İnvajinasyon	1	-	1
	Zayıf	1	-	-

Kontrol ve çalışma grubundaki eklemlerin enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skorları ortalama değerleri tablo 4.8’de gösterilmektedir. Kontrol grubunda 4. haftada enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skorları sırasıyla $1,5\pm1,41$ ve $0,5\pm0,53$ olarak izlenirken, çalışma grubunda ise $3,25\pm2,31$ ve $1,25\pm0,89$ olarak bulundu. Tüm takip dönemlerinde her iki grupta BT skorlarının enjeksiyon öncesi ve sonrası değerlerinde belirgin bir azalma izlendi. Kontrol grubundaki bu azalma istatistiksel olarak 4. haftada anlamlı iken, çalışma grubunda 4. ve 6. haftalarda anlamlı bulundu ($p=0,007$, $p=0,008$). Kontrol grubunda 8. haftada izlenen hafif artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

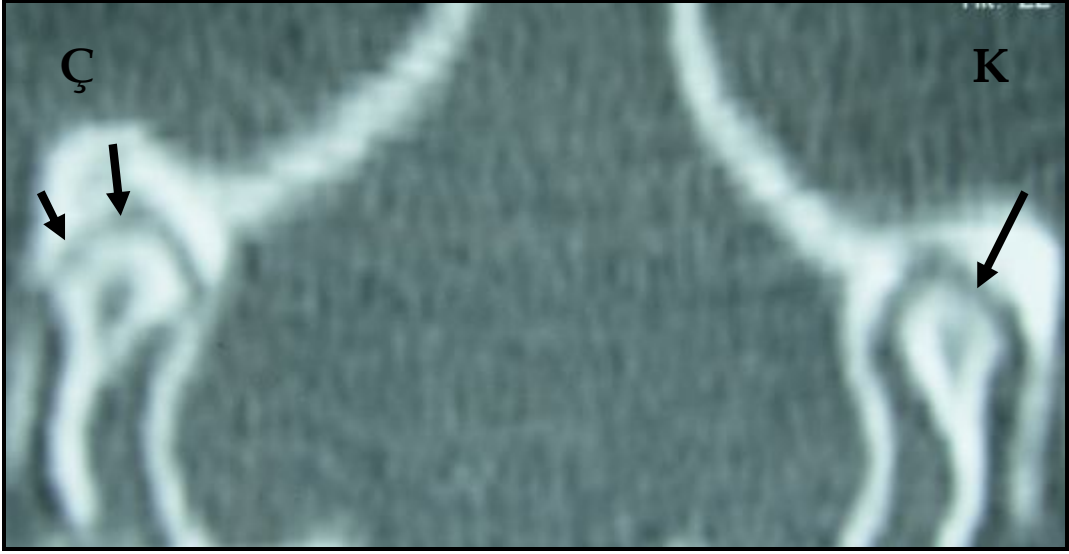
Tablo 4.8. Kontrol ve çalışma grubundaki eklemlerin enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skorları ortalama değerleri

BT skorları ortalama değerleri (öncesi/sonrası)	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu
4. hafta	$1,5\pm1,41$ / $0,5\pm0,53$	$3,25\pm2,31$ / $1,25\pm0,89$
6.hafta	$0,25\pm0,46$ / $0,0$	$2,12\pm0,99$ / $0,12\pm0,35$
8. hafta	$0,50\pm0,75$ / $0,62\pm0,74$	$3,87\pm2,95$ / $2,25\pm2,12$

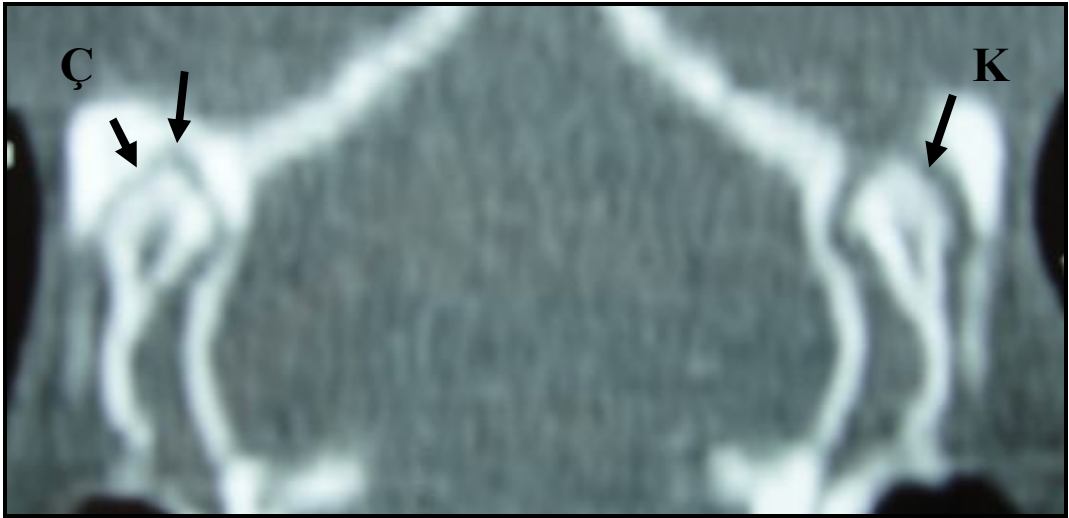
Enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skorlarının kontrol ve çalışma grubundaki eklemlere göre dağılımları tablo 4.9, 4.10, 4.11’de gösterilmektedir. Kontrol grubunda enjeksiyon öncesi toplam skor 12 iken, 4. haftada 4 olarak kaydedildi. Çalışma grubunda ise sırasıyla 26 ve 10 olarak bulundu (tablo 4.9). 4. haftada enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skorlarının her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi (p=0,016, p=0,007) Kontrol grubunda 4. haftada alınan BT skorları histolojik bulgularla karşılaştırıldığında, hafif değişiklik izlenen 4 eklemde 2’ sinde kartilajda incelme ve 2’ sinde kalınlaşma izlendi. Çalışma grubunda 6 eklemdeki hafif değişimlerin histolojik bulgusunda, 4 eklemde kartilajın normal görünümde olduğu bulundu (resim 4.15, 4.16).

Tablo 4.9. Kontrol ve çalışma grubunda 4. hafta BT skorlarının dağılımı

	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu
Toplam skor (öncesi/sonrası)	12/4	26/10
	0/0	1/1
	1/1	8/2
	3/1	4/2
	1/1	2/0
4. hafta (N=8)	1/0	4/2
	2/1	2/1
	4/0	4/2
	0/0	1/0



Resim 4.15. Enjeksiyon öncesi kontrol ve çalışma grubunun BT görüntüsünde 4. hafta kontrol grubunda kondilin lateralinde, çalışma grubunda ise santral ve lateralde orta dereceli erozyon (Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu)

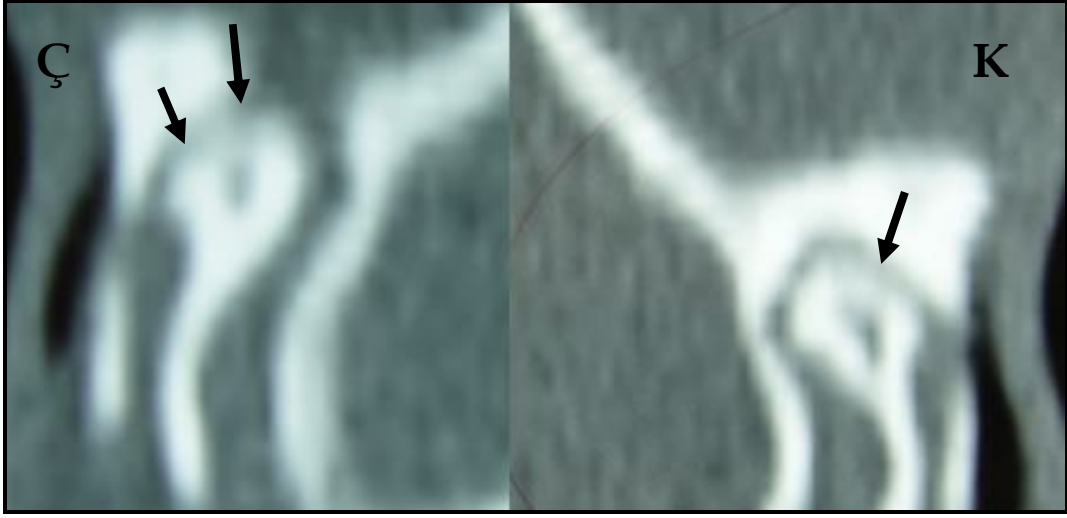


Resim 4.16. Enjeksiyondan 4 hafta sonra kontrol ve çalışma grubunun BT görüntüsünde kontrol grubunda kondilin lateralinde, çalışma grubunda ise santral ve lateralde minör erozyon (Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu)

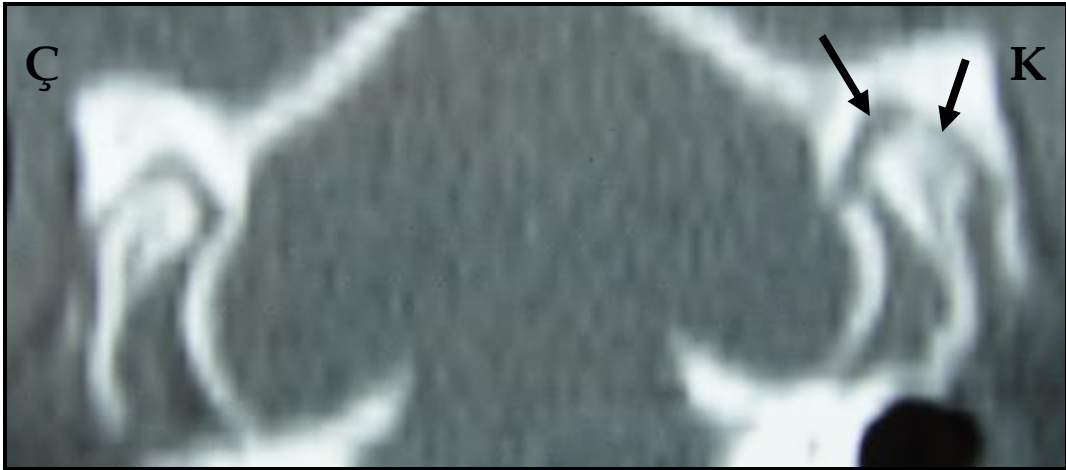
6. haftada BT skorları enjeksiyon öncesi ve sonrası toplam skor kontrol grubunda 2 ve 0 iken, çalışma grubunda ise sırasıyla 17 ve 1 olarak bulundu (tablo 4.10). Kontrol grubunda enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skorlarında anlamlı bir fark izlenmezken, çalışma grubunda anlamlı olarak azaldığı belirlendi (p=0,011). Kontrol grubunda 6. haftada alınan BT skorları histolojik bulgularla karşılaştırıldığında, hafif değişiklik izlenen 2 eklemde 2'sinde kartilajın normal olduğu izlendi. Çalışma grubunda hafif değişim izlenen 8 eklemde histolojik bulgusunda, 1 eklemde kartilajın incelendiği bulundu (resim 4.17, 4.18).

Tablo 4.10. Kontrol ve çalışma grubunda 6. hafta BT skorlarının dağılımı

	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu
Toplam skor (öncesi/sonrası)	2/0	17/1
	1/0	3/0
	0/0	2/0
	0/0	2/0
	0/0	1/0
6. hafta (N=8)	0/0	2/0
	0/0	1/0
	0/0	4/0
	1/0	2/1



Resim 4.17. Enjeksiyon öncesi BT görüntüsünde 6. hafta kontrol grubunda kondilin lateralinde, çalışma grubunda ise santral ve lateralde orta dereceli erozyon (Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu)

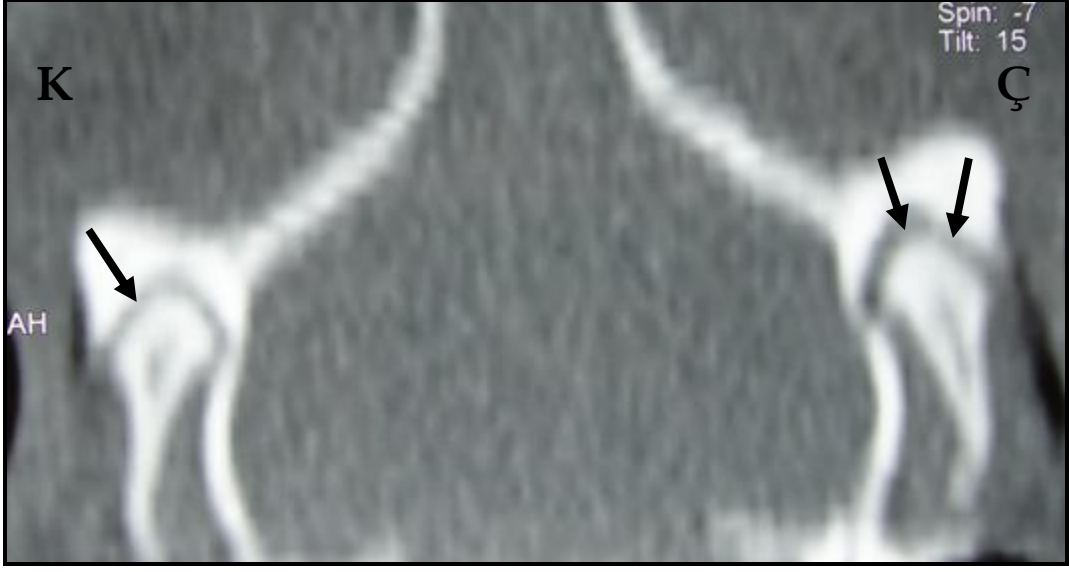


Resim 4.18. Enjeksiyondan 6 hafta sonra BT görüntüsünde kontrol grubunda kondilin santral ve lateralinde minör erozyon, çalışma grubunda ise herhangi bir değişim izlenmedi (Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu)

8. haftada enjeksiyon öncesi ve sonrası toplam BT skorları kontrol grubunda 4 ve 5 iken, çalışma grubunda ise sırasıyla 31 ve 18 olarak bulundu (tablo 4.11). Kontrol grubunda 8. haftada alınan BT skorları ile histolojik bulgular karşılaştırıldığında, skorlanamayan 1 eklemde kartilajın incelendiği diğerlerinde ise kalınlaştığı bulundu. Çalışma grubunda izlenen 7 eklemdeki hafif değişimlerin histolojik bulgusunda, 2 eklemde kartilajın kalınlaştığı diğerlerinde normal görünümde olduğu bulundu (resim 4.19, 4.20). 4. hafta takip döneminde kontrol ve çalışma grubunda enjeksiyon öncesi BT değerleri ile kartilajda histolojik olarak izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon belirlendi ($p=0,015$, $r=0,808$, $p=0,039$, $r=0,731$).

Tablo 4.11. Kontrol ve çalışma grubunda 8. hafta BT skorlarının dağılımı

	Kontrol Grubu	Çalışma Grubu
Toplam skor (öncesi/sonrası)	4/5	31/18
	0/1	0/1
	2/1	8/1
	0/0	6/2
	0/0	2/1
8. hafta (N=8)	1/1	6/2
	½	1/0
	0/0	2/6
	0/0	5/5



Resim 4.19. Enjeksiyon öncesi BT görüntüsünde 8. hafta kontrol grubunda kondilin lateralde hafif erozyon, çalışma grubunda ise santral ve lateralinde orta dereceli erozyon ve düzleşme (Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu)



Resim 4.20. Enjeksiyondan 8 hafta sonra BT görüntüsünde kontrol grubunda kondilin lateralinde ve santralinde, çalışma grubunda ise, lateralde hafif erozyon (Ç: çalışma grubu, K: kontrol grubu)

5. TARTIŞMA

OA'nın patogenezi, biyomekanik, biyokimyasal, enflamatuvar ve immünolojik reaksiyonların etkisiyle, artiküler kartilajda fokal ve progresif yıkım ile başlayan, subkondral kemikte ve eklem yapılarının tamamında patolojik değişikliklere neden olabilen bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. TME'de deneysel OA'nın oluşum mekanizması ile teşhis ve tedavi metotlarının araştırıldığı çalışmalarda; tavşan, koyun, maymun, sıçan gibi birçok deney hayvanları kullanılmaktadır (100,180). Tavşan TME anatomisinin, morfolojisinin, lateral ve ön ile arka hareketlerinin insan TME'sine benzemesi, kartilajda izlenen yapısal değişimlerin morfolojisinin ve gelişiminin insanlardaki OA ile uyum göstermesi, diskin histopatolojik olarak insan TME diskine benzer olması, fare, sıçan gibi küçük hayvanlara göre manipülasyonun kolay olması gibi nedenlerle birçok araştırmada deneysel TME OA modelinde deney hayvanı olarak tercih edilmektedir (100,103,105,181,182,183). Tavşan TME'sinde kondil fibröz, hücresel tabaka, kartilaj ve subkondral tabaka olmak üzere 4 tabakadan oluşmaktadır. İnsan TME'sinde bulunan farklılaşmamış mezenkimal hücrelerden oluşan proliferatif tabaka ile hücresel tabakanın benzerlik gösterdiği ve remodeling potansiyelinin yüksek olduğu bildirilmektedir (59). Kartilaj ve kemik metabolizmasına hormonal etkilerin önlenmesi amacıyla erkek tavşan kullanımı da önerilmektedir (100,103). Bu çalışma literatürle uyumlu olarak ve intraartiküler enjeksiyonun rahat uygulanabilmesi için deney hayvanı olarak 24 adet erkek tavşan üzerinde yürütüldü.

Histolojik bulgularla değerlendirilen kadavra çalışmalarında, klinik verilerin ve kontrol grubunun olmaması, klinik çalışmalarda ise, patolojik değişikliklerin standardizasyonu ve derecelendirilmesi için, gerekli doku örneğinin alınmasındaki etik nedenler bu çalışmaları kısıtlı kılmaktadır (99,100). Eklemi oluşturan dokulardaki yapısal değişiklikleri ve bu değişiklikleri etkileyen risk faktörlerini belirlemede ve tedavi yaklaşımlarının etkinliğini

değerlendirmede deneysel modellerin faydalı olduğu bildirilmektedir (74). Deneysel OA modelleri; cerrahi, biyomekanik ve yapısal teknikler olarak sınıflandırılmaktadır (101,102). Yapısal teknikler; insanlarda gelişen OA mekanizmasına benzer özellikte ve diğer tekniklere göre daha kısa sürede dejenerasyon oluşturması, eklemiçi ve çevre dokulara hasar vermemesi, uygulanmasının kolay olması ve oluşturulacak dejeneratif değişikliklerin doz ile ayarlanabilmesi gibi nedenlerle sıklıkla tercih edilmektedir (107,108,120). OA'lı eklem kartilajı erken dönemde kondrositlerde kümeleşme, kartilajda fibröz tabakada kalınlaşma, ve subkondral kemikte bağ dokusu invazyonu ile karakterize olup, geç dönemde ise, apoptotik hücre ölümüne bağlı hiposellüleritenin izlendiği, kartilajın fibröz doku ile yer değiştirdiği, gelişen erozyona bağlı subkondral kemiğin açığa çıktığı ve nekrozun izlendiği bildirilmektedir (48,108). Wang ve ark (2008) keçilerin TME'sinde OA'yı deneysel olarak oluşturdukları hayvan çalışmasında, erken dönemde fibröz tabaka yüzeyinde düzensizliğin, perforasyonun ve hematoma oluştuğunu, hipertrofik ve proliferatif tabaka arasında hipertrofinin izlendiğini, geç dönemde ise, fibröz tabakada fibrilasyonun, artmış mitotik aktivite ile kondrositlerde kümeleşmenin, fokal erozyonun ve osteofit formasyonunun izlendiğini rapor etmektedir (74). Erken dönem OA' da kondrositlerde oluşan dejenerasyonun, kondrositlerde kümeleşme ve kartilajda kalınlaşma ile karakterize olan tamir cevabının gelişmesi, geç dönemde ise kondrositlerde izlenen kümeleşmenin subkondral kemiğin açığa çıkmasına ve gelişen kemik nekrozuna bağlı TME'nin kondiller kartilajının proliferatif tabakasının rejeneratif cevabı olarak düşünülmektedir (108,184,185).

İntraartiküler MIA enjeksiyonu, yapısal tekniklerle oluşturulan deneysel OA modellerinden biri olup, kondrositlerde glikolitik metabolizmayı inhibe ederek ve hücrelerin ölümüne neden olarak, kartilajda hasar oluşturduğu bildirilmektedir (102,120,122).

Guingamp ve ark (1997) 5 farklı konsantrasyonlardaki (0,01, 0,03, 0,1, 0,3, 3 mg) intraartiküler MIA solüsyonunun sıçan diz eklemine dejeneratif etkisini incelediği çalışmada, eklemde oluşan dejenerasyon şiddetinin konsantrasyona bağlı olduğunu ve düşük dozda MIA'nın intraartiküler enjeksiyon sayısı artırılarak, metabolik olayların aktivasyonuna ve artiküler dokularda hasara neden olmadan, sadece kondrositleri etkileyerek insanlardaki OA patoloji mekanizasına benzer olarak OA'nın oluşturulabileceğini bildirmiştir (120)

Kobayashi ve ark (2003) sıçanların diz eklemine 0,03 ve 3mg MIA solüsyonunun OA oluşumuna etkisini karşılaştırdığı çalışmada, intraartiküler MIA enjeksiyonundan 15 gün sonra, eklemde kondrosit hipertrofisine ve disorganizasyonuna bağlı dejenerasyon ve nekrozun geliştiğini, kartilaj yüzeyinde fibrilasyon ile erozyonun izlendiğini ve subkondral kemiğin açığa çıktığını, ancak osteofit formasyonunun izlenmediğini bildirmiştir. Kondrositlerde kümeleşmenin ve osteofit formasyonunun insanlarda gelişen OA'nın karakteristik bulguları olduğu ve daha geç dönemde, subkondral kemiğin açığa çıkmasına ve kondrosit kaybına bağlı gelişebileceği bildirilmiştir (107).

Guzman ve ark (2003) sıçan diz eklemine MIA solüsyonunun (1 mg) farklı zaman aralıklarında (1, 3, 5, 7, 14, 28, 56. gün) etkisini incelediği çalışmada, 7. günde intraartiküler MIA enjeksiyonunun kartilaj dejenerasyonuna komşu bölgedeki subkondral kemik iliğinde osteoblastik ve osteoklastik aktivitede artışa neden olduğunu bildirmiştir. Bu kemik değişimleri; ileri dereceli kartilaj hasarına bağlı olarak subkondral kemiğe gelen mekanik yük miktarının artması ile ilişkilendirilmektedir. 14. günde; kartilaj hasarına komşu subkondral kemik iliğinde, artan osteoblastik ve osteoklastik aktiviteye bağlı fibrozisin izlendiğini ve 28. günde ise; subkondral kemikte fokal olarak matür ve yoğun fibröz dokunun geliştiğini göstermiştir. 56. günde; kemik rezorpsiyonunun izlendiği ve bu bölgede sıvı birikimine bağlı olarak da

subkondral kistin oluştuğu rapor edilmiştir (102). Ayrıca, subkondral kemikte meydana gelen hemoraji ve fibrozis, subkondral kemikte esneklik kaybına ve kartilaja gelen mekanik yüklerin artmasına neden olarak osteokondral birleşimde ayrılmaların oluşmasında etkili olabileceği bildirilmiştir. (58).

Cledes ve ark (2006) tavşanların TME'sine intraartiküler enjeksiyonla uyguladıkları MIA solüsyonunun (1,5 mg) farklı zaman aralıklarında (10, 20, 30, 40. gün) osteoartritik etkisini incelediği çalışmasında, 40 günde; başlangıç ve tamir, erken, ara ve geç dönem olmak üzere osteoartritik 4 safhanın da oluştuğunu, 30. günde eklemde ileri derecede OA'nın histopatolojik olarak izlendiğini ve diğer OA modellerine göre daha kısa sürede bu ajanın OA oluşumuna neden olduğunu bildirmektedir. Erken dönemde (10 gün), kondrositlerde kümeleşmenin, kartilajda fibröz tabakada kalınlaşmanın, ve subkondral kemikte bağ dokusu invazyonunun oluştuğu, geç dönemde ise (30. ve 40. gün), kartilajın fibröz doku ile yer değiştirdiği, kartilajda gelişen erozyona bağlı subkondral kemiğin açığa çıktığı ve nekrozun izlendiği bildirilmiştir. İntraartiküler MIA enjeksiyonunun TME'de hem dejenerasyona hem de tamir cevabına neden olduğu ve bu tamir cevabı da kartilajda gelişen lezyonların etrafını çevreleyen hipertrofik kartilaj reaksiyonu ve kondrosit migrasyonu olarak tanımlanmaktadır. TME'nin yapısal özelliği nedeniyle, intraartiküler MIA enjeksiyonu sonrasında TME'de diğer eklemlerden farklı olarak tamir cevabının daha fazla geliştiği de belirtilmektedir (108).

Güler ve ark (2009) 12 adet tavşan TME'sine artrosentez tekniği ile uyguladığı farklı dozlardaki (1,5, 2, 2,5, 3 mg/ml) MIA'ın 3 farklı zaman aralığında (2, 4 ve 6 hafta) deneysel OA oluşumuna etkisini radyolojik, histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirdiği çalışmasında, 2. haftada tüm konsantrasyonlarda kartilaj, osteokondral birleşim ve subkondral kemiğin histolojik olarak normal görünümde olduğunu, 4. haftada 3 mg/ml MIA'da kartilajda kalınlaşma ve incelme, osteokondral birleşimde zayıf bağlantı ve invajinasyon gibi erken dönem değişikliklerinin izlendiğini, 6. haftada ise aynı

konsantrasyonda kartilajın fibröz doku ile yer değiştirdiğini, osteokondral birleşimde derin invajinasyonların geliştiğini ve subkondral kemiğin açığa çıktığını bildirmiştir. 4. haftada 1,5, 2, 2,5, 3 mg/ml MIA solüsyonlarının subkondral kemik hacmi ortalama değerlerini sırasıyla, %62±2,6, %63±4,1, %42±3,6 ve %38±3,8 iken, 6. haftada ise %60,54±3,4, %61,6±3,6, %42±4,9 ve %37±4,2 olduğu belirtilmiştir. 4. hafta BT değerlendirmesinde, 6 eklemde hafif değerliim izlenirken, 6. haftada 3 eklemde hafif ve 5 eklemde orta dereceli değerliimin izlendiği rapor edilmiştir. Artrosentez tekniği ile uygulanan 3 mg/ml MIA'ın 4. haftada TME'de erken dönem osteoartritik değerliimlerin oluşmasında etkili olduğu, uygulanan teknikle kısa sürede ve çevre dokulara hasar vermeden dejenerasyona neden olması gibi avantajlarının da bulunduğu bildirilmiştir (178).

Pilot çalışmadan (178) elde edilen uygun dozdaki MIA ile oluşan deneysel OA sonuçları dikkate alınarak, 24 adet tavşanın her iki eklemine 3 mg/ml'lik MIA solüsyonunun 50µl'lik miktarı artrosentez tekniği ile uygulandı ve 4 hafta bekleme süresinden sonra 3 hafta süre ile haftada bir kez tavşanların bir eklemine, intraartiküler Hylan G-F 20, diğer eklemde ise kontrol grubu olarak serum fizyolojik solüsyonu enjekte edildi. 4., 6. ve 8. haftalarda tavşanlar sakrifiye edilip, alınan eklem örnekleri histolojik olarak değerlendirildi.

OA tedavisinde intraartiküler kortikosteroid enjeksiyonunun yaygın kullanım alanı bulunmasına rağmen, tek intraartiküler enjeksiyonunun semptomların giderilmesinde başarılı sonuçlar verdiği ancak ilave enjeksiyonların, kartilaj hasarı, kemik nekrozu, yumuşak doku atrofisi gibi komplikasyonlarıyla varolan eklem hastalığının ilerlemesine neden olduğu bildirilmektedir (186,187). İntraartiküler kortikosteroid enjeksiyonunun sıçan TME'sinde enflamasyonu azalttığı ancak, kondilde osteoklastik aktiviteyi arttırdığı ve bu maddenin intraartiküler enjeksiyonunun kemik rezorpsiyonu riskini arttırabileceği ileri sürülmektedir (188). Kortikosteroidin ileri sürülen zararlı yan etkileri, yeni terapötik ajanların arayışını da gündeme getirmiştir.

Terapötik bir ajan olan HA eklemde lubrikasyonunda ve eklem kartilajının korunmasında önemli rol oynamaktadır. HA'nın, kronik TME OA'lı hastalara uygulandığında kortikosteroidlerle aynı terapötik etkiyi gösterdiği ve yan etki oluşturma riskinin oldukça düşük olduğu bildirilmiştir (168,189,190). Hayvan çalışmalarında hem steroidin hem de HA'nın intraartiküler enjeksiyondan sonra dejeneratif kemik değişikliklerine neden olabileceği bildirilmesine rağmen, (188,191,192) her iki terapötik ajanın TME hastalıklarında ağrının hafifletilmesi ve fonksiyonun yeniden kazandırılması gibi pozitif etkilerinin var olduğu da bildirilmektedir. (168,175,193).

Endojen HA molekülü sinoviyal membran hücrelerinin iç yüzeyinde bulunan sinoviyal hücrelerden, fibroblastlardan ve kondrositlerden sentezlenip, sinoviyal boşluğa salınmaktadır. Kartilaj yüzeyinde yaklaşık 0,6 ile 2 µm'lik amorf bir tabaka olarak bulunan HA'nın; kartilajı, proteolitik enzimler ve enflamatuar hücrelere karşı koruduğu bildirilmektedir (194). Ayrıca, endojen HA'nın fibröz, matür ve hipertrofik tabakalarda dağıldığı ve spesifik reseptörler ile olan etkileşiminin TME'de artiküler kartilajda ekstrasellüler matriks homeostazının düzenlenmesinde etkili olduğu bildirilmektedir (195). Endojen HA sentezinin düzenlenmesinde etkili olan düzenleyici moleküller tam olarak bilinmemesine rağmen, büyüme faktörleri ve eksojen HA'nın etkili olabileceği ileri sürülmektedir (196). Osteoartritlik eklemde sinoviyal sıvının viskozitesinin normale göre azaldığı bilinmekte ve bu durum HA'nın molekül ağırlığının ve konsantrasyonunun azalması ile ilişkilendirilmektedir. HA'nın molekül ağırlığının ve konsantrasyonunun azalması kartilajın ve sinoviyal sıvının viskoelastik özelliğinin ve moleküler bariyer fonksiyonunun zayıflamasına neden olup, ekstrasellüler matrikste bulunan PG'lerin korunmasını ve enflamatuar cevabın sınırlandırılmasını güçleştirdiği ve bunda kartilajın biyomekanik özelliklerinin ve metabolizmasının değişmesine neden olabileceği ileri sürülmektedir (83,84). Ayrıca, OA'lı TME'de bulunan düşük molekül ağırlıklı HA'nın kondrositlerin katabolik aktivitesini

stimüle edip, MMP ekspresyonuna neden olarak ekstrasellüler matriks yıkımında etkili olabileceği de ileri sürülmektedir (195). Bu nedenle, intraartiküler HA enjeksiyonunun endojen yüksek molekül ağırlıklı HA sentezinin uyarılmasında, mekanik olarak da eklem lubrikasyonunun düzenlenmesinde ve sinoviyal sıvının normal reolojik özelliklerinin sağlanmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (150,151,197). Eksojen yolla uygulanan HA'nın eklem boşluğunda 6 ay boyunca etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmasına rağmen, hayvan çalışmalarında HA'nın eklem boşluğundaki yarılanma ömrünün 13,2 saat olduğu gösterilmiştir (83,152). Eksojen yolla uygulanan HA'nın eklemde uzun süre fizyolojik etki göstermesindeki yararlı etki mekanizması; sinoviyal sıvının bozulan viskozitesini ve lubrikatif özelliğini düzenlemesi, sinoviyal membran ve eklem yüzeyinde koruyucu bir bariyer oluşturması, eklem efüzyonunu azaltması, sinoviyal permeabilite üzerine etki ederek serbest radikalleri ve TIMP-1'i uyararak MMP'leri inhibe etmesi ve endojen HA ile PG sentezini stimüle ederek ve sinoviyal hücre ile kondrosit metabolizmasını düzenleyerek kartilaj yıkımını önlemesi olarak ileri sürülmektedir (81,153,154,155,197,198).

Çalışmamız eksojen yüksek molekül ağırlıklı HA'nın osteoartritik eklemdeki etki mekanizmasının açıklanabilmesi amacıyla planlandı. Artrosentez tekniği ile HA'nın etkinliği kontrol grubu olarak klinikte yaygın kullanımda olan serum fizyolojik ile karşılaştırıldı. Hylan G-F 20'nin ve serum fizyolojik solüsyonunun tedavi etkinliği 3 farklı zaman aralığında (4., 6., 8. hafta) kondil tabakalarındaki değişimlerin varlığı değerlendirildiğinde; Hylan G-F 20 ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, 4. hafta kartilajdaki dejeneratif değişimlerde çalışma grubunda belirgin bir azalma (sırasıyla %75 ve %50) izlenirken, kontrol grubunda 4. ve 6. haftalar arasında kartilajda izlenen değişimlerin anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu ($p<0,05$). 4. ile 8. haftalar arasında kondiller kartilajdaki değişimlerin oranı kontrol grubunda %75'den %25'e, çalışma grubunda ise %50'den %25'e azaldığı izlendi. Erken dönem OA'da

artiküler kartilajda izlenen değişim oranının kontrol grubuna göre az izlenmesi, HA'nın antienflamatuar etkisi ile ekstrasellüler matriksten PG yıkımını önlemesi ve hasarlı kartilaj yüzeyini örtmesi ile açıklanabilir. Her iki grup arasında geç dönemde (8. haftada) kartilajda izlenen değişim oranında anlamlı bir farkın olmaması, TME kartilajının fibrokartilaj özelliği nedeniyle tamir cevabının diğer eklemlere göre fazla geliştiiği görüşünü desteklemektedir.

TME'deki enflamasyonun; sinoviyal sıvı içindeki HA'nın moleköl ağırlılığını ve konsantrasyonunu düşürdüğü, bu değişimin sinoviyal sıvının şok abzorbsiyonu ve kayganlaştırma gibi koruyucu fizyolojik etkilerini azalttığı bildirilmektedir (146,147). Osteoartritik eklem çalışmalarında, erken dönemde ekstrasellüler matrikste yapısal değişimlerin oluşması HA molekölünün miktarının azalması ile ilişkilendirilmekte ve intraartiküler olarak uygulanan HA molekölünün kondrositlerle etkileşiminin, PG ve kollajen sentezi oluşumunu düzenleyerek ve hasarlı kartilaj yüzeyini örterek kartilaj yıkımının önlenmesinde etkili olabileceği ileri sürölmektedir. (199,200). Obara ve ark (1997) tavşan diz ekleminde cerrahi teknik ve intraartiküler papain enjeksiyonu olarak 2 farklı teknikte oluşturdukları OA'da eksojen HA'nın yüzey sürtünme katsayısına etkisini incelediği çalışmasında, papain grubunda izlenen dejeneratif değişim şiddetinin, cerrahi tekniğe göre daha az geliştiiğini, papain grubunda eksojen HA'nın yüzey sürtünme katsayısını anlamlı derecede azalttığını ancak diğer grupta herhangi bir etkisinin olmadığını ve eksojen HA'nın erken dönem OA'da lubrikasyon sistemini düzenleyerek etkili olabileceğini ileri sürmüştür (198). Kawai ve ark (2004) domuzlarda intraartiküler olarak uygulanan HA enjeksiyonunun eklem lubrikasyonuna etkisini incelediği çalışmasında, HA molekölünün yüzey sürtünme katsayısını 1,2 ile 1,7 oranında azalttığını ve bu etkisinin sadece artiküler yüzeylerin üzerini örtmesiyle açıklanabileceğini ileri sürmüştür (144).

Eksojen HA'nın uzun dönem etki mekanizmasında, mekanik etkisinin yanı sıra metabolik etkisinde önemli olduğu savunulmaktadır. Eksojen

HA'nın kondrosit metabolizmasını etkileyerek, endojen HA, PG, GAG ve kollajen sentezini ve apoptozu düzenlenlediği, proteolitik enzimleri ve enflamatuar cevabı önleyerek, artiküler kartilajda tamir cevabının gelişmesinde etkili olabileceği ve HA'nın kondrositler üzerine biyolojik etkisinin spesifik reseptörlere bağlanarak oluştuğu ileri sürülmektedir (81,155,201,202,203,204,205,206). İn vitro çalışmalarda, HA'nın kondrositlerde IL-1β'nin etkisini inhibe ederek, PG miktarını arttırdığı ve hasarlı kartilaj yüzeyine yapışarak bu bölgede kondroprotektif etkisinin olduğu gösterilmiştir (90,207,208,209,210). Takahashi ve ark (1998) tavşanların diz eklemine deneysel olarak oluşturulan OA'ya intraartiküler HA enjeksiyonunun etkisini incelediği çalışmasında, OA'nın erken döneminde HA'nın MMP-3 ve IL-1β ekspresyonunu engelleyerek etkili olduğunu, geç dönemde ise aynı etkiyi göstermediğini bildirmiştir (145). İn vitro çalışmalarda, eksojen HA'nın kondrositler ve sinoviyal hücreleri uyararak, PG ve kollajen sentezini düzenlediği, matriks sentezini ve proliferasyonu arttırdığı gösterilmiştir (157,211). OA'lı diz eklemine intraartiküler HA enjeksiyonunun kartilaj kalınlığı ile kondrosit yoğunluğunu arttırdığı ve kondrositlerde anabolik cevabın oluşmasını stimüle ettiği rapor edilmiştir (195). Abatangelo, schiavinato ve ark (1989) köpeklerin diz eklemine cerrahi olarak oluşturdukları OA'ya 5 doz HA enjeksiyonunun etkisini incelediği çalışmalarında, eksojen HA'nın kartilajda kondrositleri ve PG sentezini uyararak ve sinoviyal sıvıda sinoviyal hücre proliferasyonunu azaltarak kartilaj yıkımını önlediğini bildirmiştir (212,213).

Çalışmamızda, 4 ile 8. haftalarda her iki gruptaki kondrositlerin görünümündeki değişimler sırasıyla kontrol grubunda 6 (%75) ve 2 (%25), çalışma grubunda ise 7 (%87,5) ve 1 (%12,5) eklemde izlendi. Tüm takip dönemlerinde kondrositlerin görünümündeki değişimlerin kontrol grubunda hiposellülerite 5 eklemde, kümeleşme ise 8 eklemde izlenirken, çalışma grubunda ise sırasıyla 4 ve 7 eklemde izlendi. Kontrol grubunda 6. hafta ile

çalışma grubunda 4. haftada kondrositlerin görünümünde izlenen değişimler arasında negatif yönde bir korelasyon izlendi ($p<0,01$). Çalışma grubunda 4., 6. ve 8. haftalarda kondrositlerin görünümündeki değişimlerin anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi ($p<0,05$). 4. haftada her iki grupta eşit oranda (%50) izlenen kondrosit kümeleşmesi erken dönem OA'da kartilajın tamir cevabı olarak değerlendirilirken, apoptotik hücre ölümü ile ilişkili hiposellüleritenin 4. haftada çalışma grubunda izlenme oranının daha fazla olduğu ancak 6. haftada belirgin bir şekilde azaldığı izlendi. 8. haftada her iki grup arasında kondrosit görünümünde izlenen değişimlerin oranında herhangi bir fark gözlenmedi. Kontrol ile çalışma grubu karşılaştırıldığında, Hylan G-F 20'nin tüm takip dönemlerinde kondrositlerde izlenen değişimlerin anlamlı derecede azalttığı bulundu. Hylan G-F 20'nin erken dönem (6. hafta) OA'da kondrositler üzerine etkisinin belirgin olduğunu gösteren çalışmamızda, 8. haftada her iki grupta kondrosit görünümünde izlenen değişimler arasında anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi. Geç dönemde (8. hafta) izlenen bu etkinin, kontrol grubunda TME kartilajının yapısal özelliği ile açıklanabileceğini düşünmekteyiz. Ancak çalışma grubunda Hylan G-F 20'nin kondrositler üzerine olan etkisinin devam ettiğinin belirlenmesi, daha uzun dönem takibin yapıldığı çalışmalara ihtiyacın olduğu görüşünü desteklemektedir.

Düşük molekül ağırlıklı HA'nın intraartiküler enjeksiyonu ile OA'nın tedavisi, TME ve vücudun diğer eklemlerindeki etkileri tanımlanmış ve rutin klinik uygulamada kullanılmaktadır. Farklı molekül ağırlıkta HA'nın OA'ya etkisinin değerlendirildiği birçok çalışma bulunmasına rağmen, molekül ağırlık kavramı konusunda bir görüş birliğine varılamamıştır. OA'lı eklemlerde farklı molekül ağırlıklı HA moleküllerinin etkinliğinin karşılaştırıldığı hayvan çalışmalarında, yüksek molekül ağırlıklı HA'nın biyolojik aktivitesinin, düşük molekül ağırlıklı HA'ya göre daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (170). Eksojen HA'nın, endojen HA sentezini stimüle ettiği ve bu etkisinin molekül ağırlığı ile ilişkili olduğu ilk kez 1987 yılında Smith ve Ghosh tarafından ileri sürülmüştür.

Molekül ağırlığı $5,4 \times 10^5$ dalton'dan büyük olan eksojen HA moleküllerinin endojen HA sentezini stimüle ettiği ancak en güçlü stimülasyonun molekül ağırlığı $6,2 \times 10^5$ ile $3,8 \times 10^6$ dalton arasındaki eksojen HA moleküllerinde izlendiği bildirilmektedir (171,172). Bununla birlikte, *in vitro* çalışmalarda, molekül ağırlığı 5×10^6 ile 6×10^6 dalton arasında olan HA'nın, endojen HA sentezini arttırdığı ancak molekül ağırlığı 5×10^5 ile 7×10^5 dalton arasındaki HA'nın benzer etkiyi göstermediği bildirilmiştir (171,173). Ayrıca, düşük molekül ağırlıklı HA'nın tedavi etkinliği 5 enjeksiyon sonucunda sağlanırken, yüksek molekül ağırlıklı HA'nın daha az sayıda intraartiküler enjeksiyon ile etkili olduğu da bildirilmektedir. *In vitro* yapılan çalışmalarda, molekül ağırlığı 2×10^6 dalton'dan büyük olan HA moleküllerinin, $1,0 \times 10^6$ dalton'dan küçük olan moleküllere göre kondroprotektif etkisinin daha fazla olduğu bildirilirken, hayvan çalışmalarında yüksek molekül ağırlıklı HA'nın sinoviyal dokulara penetrasyonunun daha az olması nedeniyle, kartilaj ve sinoviyal hücre metabolizması üzerine etkisinin daha az olduğu ileri sürülmektedir (154,214).

Yoshioka ve ark (1997) tavşan diz eklemi OA'sında intraartiküler HA enjeksiyonu (8×10^5 dalton), serum fizyolojik enjeksiyonu ve herhangi bir tedavi uygulanmayan 3 grubu karşılaştırdığı çalışmada, 9. haftada 3 grupta da kartilaj yüzey düzensizliği, vertikal fissür oluşumu ve erozyon gibi histolojik değişimlerin izlendiğini bildirmiştir. Kartilajda izlenen fissür oluşumu, sinoviyal dokularda gelişen enflamatuar olaylar sonucu proteolitik enzimlerin etkisiyle, ekstrasellüler matriksten PG'lerin salınımı ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, kartilaj yüzeyinde gelişen düzensizliğin HA grubunda şiddetinin az oluşu, HA'nın ekstrasellüler matrikste bulunan PG'lerin kaybını önlemesi ile açıklanmaktadır. HA grubunda kartilaj kalınlığının değişmediği, diğer gruplarda ise anlamlı olarak azaldığı ve intraartiküler HA'nın kartilaj ve sinoviyal dokuların korunmasında pozitif etkisinin olduğu bildirilmiştir. 3 grupta da gelişen bu yapısal değişimlerin HA grubunda diğer gruplara göre

şiddetinin daha az oluşu, HA'nın antienflamatuar etkisi ve PG kaybını önleyebilmesi ile açıklanmaktadır (164).

Kobayashi ve ark (2000) 16 adet tavşanın diz eklemde intraartiküler HA'nın (8×10^5 dalton) artiküler kartilaja dejeneratif etkisini kontrol grubu ile değerlendirdiği çalışmasında, 6. ayda kontrol grubunda 1 eklemde normal görünüm, 5 eklemde minör fibrilasyon ve 2 eklemde erozyonun izlendiğini ve çalışma grubunda ise, 4 eklemde normal görünüm ve 4 eklemde minör fibrilasyonun gözlemlendiğini bildirmiştir. Her iki grupta da fissür ve ülserasyona bağlı subkondral kemiğin açığa çıkması gibi ileri dereceli dejenerasyonun izlenmediği bildirilmiştir (165). Ancak, eksojen HA'nın diz eklemine etkisinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, 2 grup arasında kısa dönemde (3. ayda) kartilajda izlenen morfolojik ve biyokimyasal değişimlerde anlamlı bir farkın izlenmediği rapor edilmiştir (215). HA'nın diz eklemdeki kondroprotektif etkisinin 3 ile 6 ay arasında ortaya çıktığı ve bu etkisinin endojen HA sentezi ile açıklanabileceği bildirilmektedir (165).

Greenberg ve ark (2006) 2 farklı molekül ağırlıklı HA'nın omuz eklemi OA'sına biyokimyasal etkisini 3 farklı zaman aralığında (3., 6. ve 20. günlerde) değerlendirdiği in vitro çalışmasında, erken dönemde Hylan GF-20 grubunda kartilajda GAG miktarındaki azalmanın düşük molekül ağırlıklı HA'ya göre daha az olduğunu ancak geç dönemdeki etkileri arasında anlamlı bir farkın olmadığını bildirmiştir. GAG molekülünün yıkımının azalması, düşük molekül ağırlıklı HA'da proteolitik enzimlerin seviyesinin azalması ile ilişkilendirilirken, Hylan GF-20 grubunda ise proteolitik enzimlerin seviyesinde herhangi bir değişim izlenmemiştir. HA molekülünün erken dönemdeki kondroprotektif etkisinin molekül ağırlığı ile ilişkili olduğu ve osteoartritik eklemde HA'nın enflamatuar cevabın sınırlandırılmasında etkili olabileceği bildirilmiştir (216). Ayrıca, yüksek molekül ağırlıklı HA'nın düşük molekül ağırlıklı HA'ya göre daha fazla kondrositlerde kümeleşmeye neden olduğu ve hipertrofik cevabın daha fazla geliştiği bildirilmektedir (217). Eksojen HA'nın

kondroprotektif etkisinin doza bağılı olduğu ve düşük konsantrasyonda (0,1mg/ml) HA'nın kondrosit proliferasyonunu ve ekstrasellüler matriks sentezini arttırdığı ancak yüksek konsantrasyonda ise azalttığı ileri sürülmektedir (157,201).

Neo ve ark (1997) 6 adet koyun TME'sinde intraartiküler düşük molekül ağırlıklı HA (8×10^5 dalton) enjeksiyonunun deneysel OA'ya etkisini kontrol grubu ile kıyasladığı çalışmasında, oluşan dejeneratif değişimleri kartilajda yüzey düzensizliği, fissür oluşumu, erozyon, ülserasyon, kemik iliğinde fibrozis ve osteofit oluşumu olarak tanımlamıştır. 1. ayda kontrol grubunda izlenen dejeneratif değişimlerin, çalışma grubuna göre daha şiddetli olduğu ve 3. ayda ise kontrol grubunda 1. aya göre bu değişimlerin azaldığı ancak çalışma grubuna göre daha şiddetli olduğu bildirilmiştir. HA grubunda izlenen osteoartritik değişimlerin 1. ve 3. aylarda anlamlı derecede azaldığı ve TME OA'sında eksojen HA'nın hastalığın ilerlemesini engelleyebileceği bildirilmiştir (4).

Kim ve ark (2001) koyunların TME'sinde intraartiküler HA'nın ($3,5 \times 10^6$) deneysel OA'ya etkisini kontrol grubu ile karşılaştırdığı ve kartilajda gelişen değişimleri histopatolojik ve radyolojik olarak değerlendirdiği çalışmasında, kontrol grubunda 1. ayda artiküler kartilaj yüzeyinde aşınma ile erozyonun izlendiğini, kartilaj tabakalarının normal düzeninin bozulduğunu, kollajen liflerde proliferasyonun geliştiğini, kartilajın fibröz tabakasında kan damarları ve fibröz doku proliferasyonuna bağlı olarak kalınlaşmanın izlendiğini, fibröz tabakanın subkondral kemiğe invaze olduğunu bildirmiştir. Subkondral kemikte ise düzleşmenin, osteofit formasyonunun ve subkondral kistin geliştiği gösterilmiştir. HA grubunda ise, artiküler kartilaj yüzeyinde sadece aşınmanın izlendiği ve bu alanlarda kondrosit proliferasyonunun arttığı, fibröz tabakada kan damarları proliferasyonunun izlenmediği ve subkondral kemikte izlenen fibrozisin daha hafif şiddetli olduğu gösterilmiştir. Kontrol grubunda 3. ayda; 1. ayda izlenen patolojik değişimlerin şiddetinin arttığı; HA grubunda ise, kartilaj

kalınlığının arttığı ve proliferatif tabakada kondrosit proliferasyonunun geliştiği rapor edilmiştir. Radyolojik olarak, kontrol grubunda 1. ayda osteofit formasyonunun, 3. ayda ise erozyon ve düzleşmenin; HA grubunda ise, 1. ve 3. ayda osteofit formasyonunun izlendiği ancak kontrol grubuna göre şiddetinin daha az olduğu bildirilmiştir. HA grubunda dejeneratif değişimleri gösteren radyolojik skor 15,3 iken, kontrol grubunda ise 25,3 olarak bildirilmiştir ve tekrarlayan HA enjeksiyonunun OA gelişimini önleyebileceği ileri sürülmüştür (148).

Xinmin ve ark (2005) tavşanlarda TME OA'sında artrosentez, viskosuplementasyon ve artrosentez ardından viskosuplementasyon uygulanan, sağ eklemi kontrol ve sol eklemi çalışma grubu olarak oluşturulan 3 gruba karşılaştırdığı çalışmada, 8. haftada her üç grupta da sinoviyal hiperplazi, enflamatuar hücre infiltrasyonu, disk perforasyonu, kondrosit hiperplazisi ve kartilaj hasarı gibi osteoartritik değişimlerin izlendiğini bildirmiştir. Artrosentez grubunda her iki eklem yüzeyinde histopatolojik olarak herhangi bir değişimin izlenmediği, viskosuplementasyon grubunda dejenerasyonu gösteren histopatolojik skorun sol eklemden 3,75, sağ eklemden 7,75 olduğu, viskosuplementasyon ve artrosentez grubunda ise, bu değerlerin sol eklemden 2,5 ve sağ eklemden 6,5 olarak izlendiği rapor edilmiştir. OA'da artrosentezi takiben uygulanan HA enjeksiyonu OA ilerleyişini önlemede; sadece HA enjeksiyonundan daha başarılı olduğu ve tek başına HA enjeksiyonu patolojik değişikliklerin gelişimini azaltırken; tek başına artrosentezin eklem yüzeyi değişikliklerini yavaşlatmada etkisiz olduğu rapor edilmiştir (146).

Sarialtın ve Şençift (2009) TME İD'li 21 hastanın 23 eklemine artrosentez ardından Hylan G-F 20 enjeksiyonunun 4 farklı zaman aralığındaki objektif ve subjektif bulgulara etkisini değerlendirdiği çalışmada, ağız açıklığı, lateral ve protrusiv hareketlerdeki artış ile ağrı değerlerindeki azalmanın 1. aya göre 3.

ayda belirgin olmasını iyileşmenin yavaş olması ile ilişkilendirmiş ve HA'nın uzun dönemdeki etkisinin daha belirgin olduğunu bildirmiştir (190).

Çalışmamızda endojen HA'nın artırılması için yüksek molekül ağırlıklı HA kullanılmasının etkili olduğu görüşüne dayanarak HA'nın molekül ağırlığı 6×10^6 dalton idi. TME'de etkinliği bilinmeyen bu molekül ağırlıklı HA'nın erken dönemde kartilaj yapılarındaki etkinliği yüksek bulundu. Bu sonuç HA'nın antienflamatuvar etkisinin PG kaybını önleyebilmesi, hasarlı kartilaj yüzeyini örtmesi ve eklem lubrikasyonunu düzenlemesi ile açıklanabilir.

Osteokondral bileşim tabakalarındaki değişim ile kondrositlerin görünümünün takip dönemlerine göre dağılımları; 4. haftada kontrol grubunda 3 eklemden izlenen invajinasyonda kondrositlerin kümeleştiği ve hiposellüleritenin izlendiği, zayıf bileşimin olduğu 2 eklemde birinde hiposellülerite izlenirken, çalışma grubunda invajinasyon izlenen 1 eklemden kondrositlerin kümeleştiği, zayıf bileşim izlenen 4 eklemden hiposellülerite ve kümeleşmeler izlendi. 6. haftada kontrol grubunda 2 eklemden izlenen invajinasyonda sadece 1 eklemden kondrositlerinde hiposellülerite izlendi ve zayıf bileşimin olduğu 2 eklemden kondrositlerde kümeleşmeler izlenirken, çalışma grubunda invajinasyon izlenen 3 eklemde 2'sinde kondrositlerde hiposellülerite ve kümeleşme, zayıf bileşim izlenen 1 eklemden ise normal görünümde kondrositler görüldü. 8 haftada ise kontrol grubunda 4 eklemden izlenen invajinasyonda sadece 1 eklemden kondrositlerinde kümeleşme izlenirken, çalışma grubunda invajinasyon izlenen 2 eklemde 1'inde kondrositlerde kümeleşme, zayıf bileşim izlenen 1 eklemden ise normal görünümde kondrositler görüldü. Tüm takip dönemlerinde her iki grubun osteokondral bileşimindeki invajinasyon yada zayıflama tarzındaki değişimlerde bir farklılığın izlenmemesi subkondral kemikte fibrozis bulgusuyla ilişkilendirilebilir. Ancak erken dönemde kondrositlerdeki kümeleşmenin varlığı eklemde HA'nın kondroprotektif özelliği ile hipertrofik cevabın geliştiğini göstermektedir. Geç dönemde ise kontrol grubunda bu

özelliğinin devam etmesi TME kartilajının yapısal özelliği nedeniyle rejenerasyon potansiyelinin fazla olması ile ilişkilendirilebilir. Düşük molekül ağırlıklı HA'nın uzun dönemdeki etkisinin değerlendirildiği deneysel diz eklemi çalışmalarında, HA'nın kondroprotektif etkisinin 3 ile 6 ay arasında geliştiği ve TME çalışmalarında ise etkinliğinin 3. ayda fazla olduğu bildirilirken, yüksek molekül ağırlıklı HA ile yapılan deneysel omuz eklemi çalışmasında, erken dönemdeki kondroprotektif etkisi molekül ağırlığı ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda erken dönemde kondrositlerde izlenen kümeleşmede, HA'nın molekül ağırlığının yüksek olmasının etkisi olabileceğini düşünmekteyiz.

OA'da erken dönem kartilaj değişimlerinin belirlenmesinde, radyolojik görüntüleme yöntemleri sınırlı kalmaktadır. TME'de gelişen patolojik değişimlerin görüntülenmesinde MRG ve BT görüntüleme yöntemleri sıklıkla tercih edilmektedir. Ancak, kemik yapının manyetik duyarlılığının ve çözünürlüğünün az olması nedeniyle, MRG'nin daha sıklıkla yumuşak dokuların görüntülenmesinde altın standart olduğu ve eklemdaki kemik değişikliklerinin belirlenmesinde BT'nin daha güvenilir olduğu bildirilmektedir (34,127,128,129,130). Ayrıca, diğer konvansiyonel görüntüleme teknikleri ile kıyaslandığında; BT' de yeniden formatlama olasılığının olması, kemik değişim tiplerinin ayırt edilmesinde kolaylık sağlamaktadır (218). OA'lı eklem serum fizyolojik ve HA enjeksiyonunun etkisinin değerlendirildiği radyolojik çalışmalarda, her iki grup arasında dejeneratif değişimlerin belirlenmesinde herhangi bir farklılığın izlenmediği ve bu çalışmalarda kısa dönem takibin olduğu ancak kartilajda gelişen lezyonların radyolojik olarak saptanmasında daha uzun süreye ihtiyacın olduğu savunulmaktadır (219,220).

Moystad ve ark (2008) 36 OA'lı TME'de HA ve kortikosteroid enjeksiyonunun tedavi etkinliğini enjeksiyon öncesi ve 6 ay sonrası alınan BT üzerinde değerlendirdiği skorlama ile karşılaştırdığı çalışmasında, toplam skorun tedavi öncesi ve sonrası sırasıyla, HA grubunda $10,2 \pm 8,1$ ve $10,2 \pm 6,4$

olarak izlendiğini, kortikosteroid grubunda ise $8,1\pm 8,7$ ve $8,0\pm 6,8$ olduğunu bildirmiştir. BT skorlarına göre, her iki grup arasında osteoartritik değişimlerde anlamlı bir farkın olmadığı ve OA'nın progresyonunun tedavi edilen tüm eklemlerin 1/3'ünde izlendiği rapor edilmiştir (179).

Macker ve ark (1992) tavşan TME'sinde deneysel OA'da izlenen kemik değişimlerini konvansiyonel radyografi tekniği ile değerlendirdiği çalışmasında, kondilde erozyonun, remodelingin ve anterio-superior kondiller alanda deformitenin izlenebileceğini bildirmiştir (221).

Çalışmamızın kontrol grubunda 4. haftada enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skorları sırasıyla $1,5\pm 1,41$ ve $0,5\pm 0,53$ olarak izlenirken, çalışma grubunda ise $3,25\pm 2,31$ ve $1,25\pm 0,89$ olarak bulundu. 4. haftada kontrol grubunda enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skorlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlenirken ($p<0,05$), çalışma grubunda ise bu anlamlı azalmanın 4. ve 6. haftalarda olduğu belirlendi ($p<0,05$, $p<0,01$). Kontrol grubunda 4. haftada alınan BT skorları histolojik bulgularla karşılaştırıldığında, hafif değişiklik izlenen 4 eklemde 2'sinde kartilajda incelme ve 2'sinde kalınlaşma izlendi. Çalışma grubunda 6 eklemdeki hafif değişimlerin histolojik bulgusunda, 4 eklemde kartilajın normal görünümde olduğu bulundu. Kontrol grubunda 6. haftada alınan BT skorları histolojik bulgularla karşılaştırıldığında, hafif değişiklik izlenen 2 eklemde 2'sinde kartilajın normal olduğu izlendi. Çalışma grubunda hafif değişim izlenen 8 eklemde 1 eklemde kartilajın incelme olduğu bulundu. Kontrol grubunda 8. haftada alınan BT skorları ile histolojik bulgular karşılaştırıldığında, skorlanamayan 1 eklemde kartilajın incelme olduğu diğerlerinde ise kalınlaştığı bulundu. Çalışma grubunda izlenen 7 eklemdeki hafif değişimlerin histolojik bulgusunda, 2 eklemde kartilajın kalınlaştığı diğerlerinde normal görünümde olduğu bulundu. 4. hafta takip döneminde kontrol ve çalışma grubunda enjeksiyon öncesi BT değerleri ile kartilajda histolojik olarak izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon belirlendi ($p<0,05$). Diğer takip dönemlerinde BT skorları ile

histolojik bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi. Tüm bu verilere dayandırılarak TME’de OA’nın tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde BT skorlamanın etkili olamayacağını düşünmekteyiz.

Düşük molekül ağırlıklı HA’nın OA tedavisindeki olumlu etkileri TME ve vücudun diğer eklemlerinde tanımlanmış ve rutin klinik uygulamada kullanılmaktadır. Farklı molekül ağırlıkta HA’nın OA’ya etkisinin değerlendirildiği birçok çalışma bulunmasına rağmen, molekül ağırlığı konusunda bir görüş birliğine varılamamıştır. Ortopedide yüksek molekül ağırlıklı HA olan Hylan G-F 20’nin etkinliğinin incelendiği birçok klinik çalışma ve az sayıda hayvan çalışması bulunmaktadır. Yüksek molekül ağırlıklı HA’nın deneysel TME OA’sına etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışma olma özelliğinde olan çalışmamızın, erken dönemde ki etkisi antiinflamatuvar özelliği ile enflamatuvar cevabı sınırlandırması, hasarlı kartilaj yüzeyini örtmesi, eklem lubrikasyonunu düzenlemesi ve kondrositlerin anabolik cevabını etkileyerek ekstrasellüler matriksten PG kaybını önleyebilmesi ile açıklanabilmektedir. Ayrıca, yüksek molekül ağırlıklı HA’nın erken dönemde analjezik etki ve intraartiküler adezyonu önleyerek eklem mobilizasyonunu sağlaması ile, klinikte kısa dönemde ağrının giderilmesi ve fonksiyonun sağlanmasında etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Artrosentez tekniği uygulanarak oluşturulan deneysel OA’ya serum fizyolojik ve Hylan G-F 20’nin tedavi etkinliğinin karşılaştırıldığı çalışmamızın tüm takip dönemlerinde, her iki grubun osteokondral bileşimindeki invajinasyon ya da zayıflama tarzındaki değişimlerde bir farklılık izlenmemesi subkondral kemikte fibrozis bulgusuyla ilişkilendirilebilir. Ancak erken dönemde kondrositlerdeki kümeleşmenin varlığı eklemden HA’nın kondroprotektif özelliği ile hipertrofik cevabın geliştiğini göstermektedir. Geç dönemde kontrol grubunda bu özelliğin devam ettiğinin görülmesi rejenerasyon özelliğinin devam ettiğinin göstergesi olduğundan, eklem artrosentez sonrası intraartiküler HA enjeksiyonunun yapılmasını önermekteyiz. TME’de yüksek molekül ağırlığının düşük molekül

ile karşılaştırıldığı ve daha uzun dönem takibin yapıldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇLAR

- 24 adet erkek tavşanın eklemde oluşturulan OA üzerine yüksek molekül ağırlıklı HA'nın etkisinin 4., 6. ve 8. hafta takibindeki histolojik değerlendirmesinde sırasıyla, kartilajda (%50, %25, %25), osteokondral birleşimde (%62,5, %50, %37,5), kondrositlerin görünümünde (%87,5, %37,5, %12,5) ve subkondral kemikte (%62,5, %50, %50) oluşan değişimler belirlendi.
- 4. haftada kontrol grubunda kartilaj, osteokondral birleşim ve subkondral kemikte izlenen değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0,05$), subkondral kemikte izlenen dejeneratif değişimler anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p=0,034$). Çalışma grubunda ise, kartilaj ile osteokondral birleşim ($p=0,000$, $r=0,956$) ve subkondral kemikte ($p=0,024$, $r=0,775$) izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon belirlendi.
- 6. haftada kontrol grubunda kartilaj ile osteokondral birleşimde ($p=0,044$, $r=0,720$) ve subkondral kemikte ($p=0,017$, $r=0,802$) izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon izlendi. Çalışma grubunda ise, kartilaj, osteokondral birleşim ve subkondral kemikte izlenen değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).
- 8. haftada kontrol grubunda kartilaj, osteokondral birleşim ve subkondral kemik izlenen değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Çalışma grubunda osteokondral birleşim ile subkondral kemikte izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon belirlendi ($p=0,030$, $r=0,756$). Kontrol grubunda subkondral kemik ile çalışma grubunda kartilajda izlenen değişimler arasında negatif yönde bir korelasyon izlendi ($p=0,034$, $r=-0,745$).
- 4 ile 8. haftalarda her iki gruptaki kondrositlerin görünümündeki değişimler sırasıyla kontrol grubunda 6 (%75) ve 2 (%25), çalışma grubunda ise 7 (%87,5) ve 1 (%12,5) eklemde izlendi. Tüm takip dönemlerinde kondrositlerin

görünümdeki değişimlerin kontrol grubunda hiposellülerite 5 ekleme, kümeleşme ise 8 ekleme izlenirken, çalışma grubunda ise sırasıyla 4 ve 7 ekleme izlendi. Kontrol grubunda 6. hafta ile çalışma grubunda 4. haftada kondrositlerin görünümünde izlenen değişimler arasında negatif yönde bir korelasyon izlendi ($p=0,009$, $r=-0,842$). Çalışma grubunda 4., 6. ve 8. haftalarda kondrositlerdeki değişimlerin anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi.

- Tüm takip dönemlerinde her iki grupta da kartilaj ve osteokondral birleşim ile kondrosit görünümünde izlenen değişimler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

- Kontrol grubunda 4. haftada enjeksiyon öncesi ve sonrası BT skorları sırasıyla $1,5\pm1,41$ ve $0,5\pm0,53$ olarak izlenirken, çalışma grubunda ise $3,25\pm2,31$ ve $1,25\pm0,89$ olarak bulundu. Tüm takip dönemlerinde her iki grupta BT skorlarının enjeksiyon öncesi ve sonrası değerlerinde belirgin bir azalma izlendi. Kontrol grubundaki bu azalma istatistiksel olarak 4. haftada anlamlı iken, çalışma grubunda 4. ve 6. haftalarda anlamlı bulundu ($p=0,034$). 4. hafta takip döneminde kontrol ve çalışma grubunda enjeksiyon öncesi BT değerleri ile kartilajda histolojik olarak izlenen değişimler arasında pozitif yönde bir korelasyon belirlenirken, ($p=0,015$, $r=0,808$, $p=0,039$, $r=0,731$). 6. ve 8. haftalarda ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

- Çalışmamızdan elde edilen histolojik, histomorfometrik bulgular sonucunda, intraartiküler Hylan G-F 20'nin OA'lı TME'de erken dönemde kartilajdaki değişimleri azalttığını ve kondrositlerdeki kümeleşmenin varlığı ekleme Hylan G-F 20' nin kondroprotektif özelliği ile hipertrofik cevabın geliştiğini göstermektedir. Geç dönemde kontrol grubunda bu özelliğin devam ettiğinin görülmesi eklem rejenerasyon özelliğinin devam ettiğinin göstergesi olduğundan, erken dönem OA tedavisinde artrosentez sonrası intraartiküler HA enjeksiyonun yapılmasını önermekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Milam SB. Pathophysiology and epidemiology of TMJ. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 3: 382-390, 2003.
2. Dijkgraaf LC, de Bont 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.
3. Stegenga B, De Bont LGM, Boering G. Osteoarthritis as the cause of craniomandibular pain and dysfunction. *J Oral Maxillofac Surg*, 47: 249-56, 1989.
4. Neo H, Ishimaru JI, Kurita K, Goss AN. The effect of hyaluronic acid on experimental temporomandibular joint osteoarthritis in the sheep. *J Oral Maxillofac Surg*, 55: 1114-9, 1997.
5. Shinmei M, Okada Y, Masuda K, Naramatsu M, Kikuchi T, Harigai M, Shimomura Y. The mechanism of cartilage degradation in osteoarthritic joints. *Semin Arthritis Rheum*, 19: 16-20, 1990.
6. Balazs EA, Denlinger JL. Viscosupplementation: a new concept in the treatment of osteoarthritis. *J Rheumatol Suppl*, 39: 3-9, 1993.
7. 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: 151-7, 1997.
8. Singh M, Detamore MS. Biomechanical properties of the mandibular condylar cartilage and their relevance to the TMJ disc. *J Biomech*, 42: 405-17, 2009.
9. Wang L, Lazebnik M, Detamore MS. Hyaline cartilage cells outperform mandibular condylar cartilage cells in a TMJ fibrocartilage tissue engineering application. *Osteoarthritis Cartilage*, 17: 346-53, 2009.
10. Detamore MS, Athanasiou KA. Structure and function of the temporomandibular joint disc: implications for tissue engineering, *J Oral Maxillofac Surg*, 61, 494-506, 2003.
11. Daniel J. McCarty. Structure and Function of Proteoglycans, Arthritis and Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology, Hollander JL, Febiger Philadelphia, 1: pp 245, 1989.
12. Singh M, Detamore MS. Tensile properties of the mandibular condylar cartilage. *J Biomech Eng*, 130: 011009-17, 2008.

13. Huang CY, Mow VC, Ateshian GA. The role of flow-independent viscoelasticity in the biphasic tensile and compressive responses of articular cartilage. *J Biomech Eng*, 123: 410-7, 2001.
14. Shibata S, Baba O, Ohsako M, Suzuki S, Yamashita Y, Ichijo T. Ultrastructural observation on matrix fibers in the condylar cartilage of the adult rat mandible. *Bull Tokyo Med Dent Univ*, 38: 53-61, 1991.
15. Mow VC, Ateshian GA, Spilker RL. Biomechanics of diarthrodial joints: a review of twenty years of progress. *J Biomech Eng*, 115: 460-7, 1993.
16. Gründer W. MRI assessment of cartilage ultrastructure. *NMR Biomed*, 19: 855-76, 2006.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. Roth S, Müller K, Fischer DC, Dannhauer KH. Specific properties of the extracellular chondroitin sulphate proteoglycans in the mandibular condylar growth centre in pigs. *Arch Oral Biol*, 42: 63-76, 1997.
22. Soltz MA, Ateshian GA. Experimental verification and theoretical prediction of cartilage interstitial fluid pressurization at an impermeable contact interface in confined compression. *J Biomech*, 31: 927-34, 1998.
23. Farrar WB. Differentiation of temporomandibular joint dysfunction to simplify treatment. *J Prosthet Dent*, 28: 629-636, 1972.
24. Poveda Roda R, Bagan JV, Díaz Fernández JM, Hernández Bazán S, Jiménez Soriano Y. Review of temporomandibular joint pathology. Part I: classification, epidemiology and risk factors. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 12: E292-8, 2007.

25. Bell WE. Temporomandibular disorders, classification, diagnosis, management. 2nd ed, Year Book Medical Publishers Inc, Chicago, pp 1-15, 1989.
26. Headache Classification Committee of the International Headache Society. Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalgia*, 8: 1-96, 1988.
27. Dworkin SF, LeResche L. Research diagnostic criteria for temporomandibular disorders: review, criteria, examinations and specifications, critique. *J Craniomandib Disord*, 6: 301-55, 1992.
28. De Bont LGM, Boering G, Liem RSB, Eulderink F and Westesson PI. Osteoarthrosis and internal derangement of the temporomandibular joint: A light microscopic study. *J Oral Maxillofac Surg*, 44: 634-643, 1986.
29. 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.
30. Kamelchuk LS, Major PW. Degenerative disease of the temporomandibular joint. *J Orofac Pain*, 9: 168-80, 1995.
31. Toller PA. Osteoarthrosis of the mandibular condyle. *Br Dent J*, 134: 223-31, 1973.
32. Dimitroulis G. The prevalence of osteoarthrosis 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.
33. Westesson PL, Rohlin M. Internal derangement related to osteoarthrosis in temporomandibular joint autopsy specimens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 57: 17-22, 1984.
34. 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.
35. 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.
36. De Leeuw R, Boering G, van der Kuijl B, Stegenga B. Hard and soft tissue imaging of the temporomandibular joint 30 years after diagnosis of

- osteoarthritis and internal derangement. *J Oral Maxillofac Surg*, 54: 1270-80, 1996.
37. Campos MI, Campos PS, Cangussu MC, Guimaraes RC, Line SR. Analysis of magnetic resonance imaging characteristics and pain in temporomandibular joints with and without degenerative changes of the condyle. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 37: 529-34, 2008.
 38. 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.
 39. Tanaka E, Detamore MS, Mercuri LG. Degenerative disorders of the temporomandibular joint: etiology, diagnosis, and treatment. *J Dent Res*, 87: 296-307, 2008.
 40. Arnett GW, Milam SB, Gottesman L. Progressive mandibular retrusion-idiopathic condylar resorption Part 1. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 110: 117-27, 1996.
 41. Arnett GW, Milam SB, Gottesman L. Progressive mandibular retrusion-idiopathic condylar resorption Part 2. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 110: 8-15, 1996.
 42. 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.
 43. Huang GJ, LeResche L, Critchlow CW, Martin MD, Drangsholt MT. Risk factors for diagnostic subgroups of painful temporomandibular disorders (TMD). *J Dent Res*, 81: 284-8, 2002.
 44. 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: 228-31, 2003.
 45. Takano Y, Moriwake Y, Tohno Y, Minami T, Tohno S, Utsumi M, Yamada M, Okazaki Y, Yamamoto K. Age-related changes of elements in the human articular disk of the temporomandibular joint. *Biol Trace Elem Res*, 67: 269-76, 1999.
 46. 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.

47. Jibiki M, Shimoda S, Nakagawa Y, Kawasaki K, Asada K, Ishibashi K. Calcifications of the disc of the temporomandibular joint. *J Oral Pathol Med*, 28: 413-9, 1999.
48. Muir CB, Goss AN. The radiologic morphology of asymptomatic temporomandibular joints. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 70: 349-54, 1990.
49. Guler N, Emlik D, Ataoğlu H, Uçkan S. Normal ve disk deplasmanlı Temporomandibular eklemden osteoartrozun yaş ve cinsiyet ile ilişkisinin belirlenmesi. *Türk Oral Maksillofas. Cer. Derg*, 8: 1-9, 2004.
50. LeResche L. Epidemiology of temporomandibular disorders: implications for the investigation of etiologic factors Review. *Crit Rev Oral Biol Med*, 8: 291-305, 1997.
51. 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.
52. Isberg A, Hägglund M, Paesani D. The effect of age and gender on the onset of symptomatic temporomandibular joint disk displacement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 85: 252-7, 1998.
53. 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.
54. 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.
55. Nickel JC, Iwasaki LR, Feely DE, Stormberg KD, Beatty MW. The effect of disc thickness and trauma on disc surface friction in the porcine temporomandibular joint. *Arch Oral Biol*, 46: 155-162, 2001.
56. Westling L, Carlsson GE, Helkimo M. Background factors in craniomandibular disorders with special reference to general joint hypermobility, parafunction, and trauma. *J Craniomandib Disord*, 4: 89-98, 1990.
57. Laskin DM. Etiology and pathogenesis of internal derangement of the temporomandibular joint. *Oral Maxillofac Surg Clin*, 6: 217-222, 1994.

58. Stegenga B, de Bont GM, Boering G and Van Willigen JD. Tissue responses to degenerative changes in the temporomandibular joint: A review. *J Oral Maxillofac Surg*, 49: 1079-1088, 1991.
59. Long X, Li J. Experimental study of anterior disc displacement in the rabbit temporomandibular joint. *Chin J Dent Res*, 3: 53-7, 2000.
60. Sharawy M, Ali AM, Choi WS. Experimental induction of anterior disk 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.
61. 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.
62. Milam SB, Schmitz JP. Molecular biology of temporomandibular joint disorders: proposed mechanisms of disease. *J Oral Maxillofac Surg*, 53: 1448-54, 1995.
63. 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.
64. Nitzan DW, Dolwick WF. An alternative explanation for the genesis of closed lock symptoms in the internal derangement process. *J Oral Maxillofacial Surg*, 49: 810-5, 1991.
65. Tanaka E, Kawai N, Tanaka M, Todoh M, van Eijden T, Hanaoka K, Dalla-Bona DA, Takata T, Tanne K. The frictional coefficient of the temporomandibular joint and its dependency on the magnitude and duration of joint loading. *J Dent Res*, 83: 404-7, 2004.
66. Nickel JC, Iwasaki LR, Beatty MW, Moss MA, Marx DB. Static and dynamic loading effects on temporomandibular joint disc tractional forces. *J Dent Res*, 85: 809-13, 2006.
67. Tanaka E, Iwabe T, Dalla-Bona DA, Kawai N, van Eijden T, Tanaka M, Kitagawa S, Takata T, Tanne K. The effect of experimental cartilage damage and impairment and restoration of sinovial lubrication on friction in the temporomandibular joint. *J Orofac Pain*, 19: 331-6, 2005.
68. Hiraba K, Hibino K, Hiranuma K, Negoro T. EMG activities of two heads of the human lateral pterygoid muscle in relation to mandibular condyle movement and biting force. *J Neurophysiol*, 83: 2120-37, 2000.

69. Güler N, Yatmaz PI, Ataoglu H, Emlik D, Uckan S. Temporomandibular internal derangement: correlation of MRI findings with clinical symptoms of pain and joint sounds in patients with bruxing behaviour. *Dentomaxillofac Radiol*, 32: 304-10, 2003.
70. De Bont LG, Stegenga B. Pathology of temporomandibular joint internal derangement and osteoarthritis. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 22: 71-4, 1993.
71. 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.
72. Tanaka E, Aoyama J, Miyauchi M, Takata T, Hanaoka K, Iwabe T, Tanne K. Vascular endothelial growth factor plays an important autocrine/paracrine role in the progression of osteoarthritis. *Histochem Cell Biol*, 123: 275-81, 2005.
73. 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.
74. Wang YL, Li XJ, Qin RF, Lei DL, Liu YP, Wu GY, Zhang YJ, Yan-Jin, Wang DZ, Hu KJ. Matrix metalloproteinase and its inhibitor in temporomandibular joint osteoarthritis after indirect trauma in young goats. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 46: 192-7, 2008.
75. Lijnen HR. Matrix metalloproteinases and cellular fibrinolytic activity Review. *Biochemistry*, 67: 92-8, 2002.
76. Srinivas R, Sorsa T, Tjäderhane L, Niemi E, Raustia A, Pernu H, Teronen O, Salo T. Matrix metalloproteinases in mild and severe temporomandibular joint internal derangement synovial fluid. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 91: 517-25, 2001.
77. Kido MA, Kiyoshima T, Kondo T, Ayasaka N, Moroi R, Terada Y, Tanaka T. Distribution of substance P and calcitonin gene-related peptide-like immunoreactive nerve fibers in the rat temporomandibular joint. *J Dent Res*, 2: 592-8, 1993.
78. 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.

79. 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.
80. 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.
81. Moreland LW. Intra-articular hyaluronan (hyaluronic acid) and hylans for the treatment of osteoarthritis: mechanisms of action. *Arthritis Res Ther*, 5: 54-67, 2003.
82. 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.
83. Brown TJ, Laurent UB, Fraser JR. Turnover of hyaluronan in sinoviyal joints: Elimination of labelled hyaluronan from the knee joint of the rabbit. *Exp Physiol*, 76:125, 1991.
84. Gomez JE, Thurston GB. Comparisons of the oscillatory shear viscoelasticity and composition of pathological synovial fluids. *Biorheology*, 30: 409-27, 1993.
85. Tanimoto K, Suzuki A, Ohno S, Honda K, Tanaka N, Doi T, Yoneno K, Ohno-Nakahara M, Nakatani Y, Ueki M, Tanne K. Effects of TGF-beta on hyaluronan anabolism in fibroblasts derived from the synovial membrane of the rabbit temporomandibular joint. *J Dent Res*, 83: 40-4, 2004.
86. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423: 337-42, 2003.
87. Nishimura M, Segami N, Kaneyama K, Sato J, Fujimura K. Comparison of cytokine level in sinoviyal fluid between successful and unsuccessful cases in arthrocentesis of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg*, 62: 284-7, 2004.
88. Hamada Y, Holmlund AB, Kondoh T, Nakaoka K, Sekiya H, Shiobara N, Gotoh A, Kumagai K, Suzuki R, Seto K. Severity of arthroscopically observed pathology and levels of inflammatory cytokines in the synovial fluid before and after visually guided temporomandibular joint irrigation correlated with the clinical outcome in patients with chronic closed lock. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 106: 343-9, 2008.
89. 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.

90. Fioravanti A, Cantarini L, Chellini F, Manca D, Paccagnini E, Marcolongo R, Collodel G. Effect of hyaluronic acid (MW 500-730 kDa) on proteoglycan and nitric oxide production in human osteoarthritic chondrocyte cultures exposed to hydrostatic pressure. *Osteoarthritis Cartilage*, 13: 688-96, 2005.
91. Mazzetti I, Grigolo B, Pulsatelli L, Dolzani P, Silvestri T, Roseti L, Meliconi R, Facchini A. Differential roles of nitric oxide and oxygen radicals in chondrocytes affected by osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Clin Sci*, 101: 593-9, 2001.
92. Sandler NA, Buckley MJ, Cillo JE, Braun TW. Correlation of inflammatory cytokines with arthroscopic findings in patients with temporomandibular joint internal derangements. *J Oral Maxillofac Surg*, 56: 534-43, 1998
93. Shafer DM, Assael L, White LB, Rossomando EF. Tumor necrosis factor-alpha as a biochemical marker of pain and outcome in temporomandibular joints with internal derangements. *J Oral Maxillofac Surg*, 52: 786-91, 1994.
94. Zardeneta G, Milam SB, Schmitz JP. Elution of proteins by continuous temporomandibular joint arthrocentesis. *J Oral Maxillofac Surg*, 55: 709-16, 1997.
95. Gülen H. Temporomandibular eklem düzensizliği olan hastaların sinoviyal sıvısında önemli proenflamatör sitokinlerin etkisinin incelenmesi. Selçuk Üniversitesi, Doktora tezi, Konya, 2007.
96. De Bont LG, Liem RS, Boering G. Ultrastructure of the articular cartilage of the mandibular condyle: aging and degeneration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 60: 631-41, 1985.
97. Ehrlich MG. Degradative enzyme systems in osteoarthritic cartilage. *J Orthop Res*, 3: 170-84, 1985.
98. De Bont LG, Boering G, Liem RS, Havinga P. Osteoarthritis of the temporomandibular joint: a light microscopic and scanning electron microscopic study of the articular cartilage of the mandibular condyle. *J Oral Maxillofac Surg*, 43: 481-8, 1985.
99. Ishimaru J, Goss AN. A model for osteoarthritis of the temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg*, 50: 1191-5, 1992.
100. Axelsson S, Holmlund A, Hjerpe A. An experimental model of osteoarthrosis in the temporomandibular joint of the rabbit. *Acta Odontol Scand*, 50: 273-80, 1992.

101. Mazieres B, Blanckaert A, Thiechart M. Experimental post-contusive osteoarthritis of the knee: quantitative microscopic study of the patella and the femoral condyles. *J Rheumatol*, 14:119-21, 1987.
102. Guzman RE, Evans MG, Bove S, Morenko B, Kilgore K. Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis. *Toxicol Pathol*, 31: 619-24, 2003.
103. Berteretche MV, Foucart JM, Meunier A, Carpentier P. Histologic changes associated with experimental partial anterior disc displacement in the rabbit temporomandibular joint. *J Orofac Pain*, 15: 306-319, 2001.
104. Bjørnland T, Haanæs HR. Discectomy of the temporomandibular joint: an experimental study in monkeys. *J Craniomaxillofac Surg*, 27: 113-116, 1999.
105. Lang TC, Zimny ML, Vijayagopal P. Experimental temporomandibular joint disc perforation in the rabbit: a gross morphologic, biochemical, and ultrastructural analysis. *J Oral Maxillofac Surg*, 51: 1115-28, 1993.
106. Luder HU. Articular degeneration and remodeling in human Temporomandibular joints with normal and abnormal disc position. *J Orofacial Pain*, 7: 391-402, 1993.
107. Kobayashi K, Imaizumi R, Sumichika H, Tanaka H, Goda M, Fukunari A, Komatsu H. Sodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis and associated pain model in rats. *J Vet Med Sci*, 65: 1195-9, 2003.
108. Cledes G, Felizardo R, Foucart JM, Carpentier P. Validation of a chemical osteoarthritis model in rabbit temporomandibular joint: a compliment to biomechanical models. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 35: 1026-33, 2006.
109. Mills DK, Daniel JC, Herzog S, Scapino RP. An animal model for studying mechanisms in human temporomandibular joint disc derangement. *J Oral Maxillofac Surg*, 52: 1279-92, 1994.
110. Tallents RH, Macher DJ, Rivoli P, Puzas JE, Scapino RP, Katzberg RW. Animal model for disk displacement. *J Craniomandib Disord*, 4: 233-40, 1990.
111. Fujisawa T, Kuboki T, Kasai T, Sonoyama W, Kojima S, Uehara J, Komori C, Yatani H, Hattori T, Takigawa M. A repetitive, steady mouth opening induced an osteoarthritis-like lesion in the rabbit temporomandibular joint. *J Dent Res*, 82: 731-5, 2003.

112. Ishimaru J, Handa Y, Kurita K, Goss AN. The effect of occlusal loss on normal and pathological temporomandibular joints: an animal study. *J Craniomaxillofac Surg*, 22: 95-102, 1994.
113. Gianelly AA, Ruben MP, Risinger R. Effect of experimentally altered occlusal vertical dimension on temporomandibular articulation. *J Prosthet Dent*, 24: 629-35, 1970.
114. Kuboki T, Shinoda M, Orsini MG, Yamashita A. Viscoelastic properties of the pig temporomandibular joint articular soft tissues of the condyle and disc. *J Dent Res*, 76: 1760-9, 1997.
115. Takenami Y, Kuboki T, Acero CO Jr, Maekawa K, Yamashita A, Azuma Y. The effects of sustained incisal clenching on the temporomandibular joint space. *Dentomaxillofac Radiol*, 28: 214-8, 1999.
116. Van der Kraan PM, Vitters EL, Van Beuningen HM, Van den Berg WB. Proteoglycan synthesis and osteophyte formation in 'metabolically' and 'mechanically' induced murine degenerative joint disease: an in-vivo autoradiographic study. *Int J Exp Pathol*, 73: 335-35, 1992.
117. O'Byrne EM, Blancuzzi V, Wilson DE, Wong M, Jeng AY. Elevated substance p and accelerated cartilage degradation in rabbit knees injected with interleukin-1 and tumor necrosis factor. *Arthritis Rheum*, 33: 1023-1028, 1990.
118. Kikuchi T, Sakuta T, Yamagushi T. Intra-articular injection of collagenase induces experimental osteoarthritis in mature rabbits. *Osteoarthritis Cartilage*, 6: 177-186, 1998.
119. Homandberg GA, Meyers R, Williams JM. Intra-articular injection of fibronectin fragments causes severe depletion of cartilage proteoglycans in vivo. *J Rheumatol*, 20: 1378-1382, 1993.
120. Guingamp C, Gegout-Pottie P, Philippe L, Terlain B, Netter P, Gillet P. Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis, a dose-response study of loss of mobility, morphology and biochemistry. *Arthritis Rheum*, 40: 1670-1679, 1997.
121. Bal B. Düşük enerjili lazer tedavisinin tavşan temporomandibular ekleminde deneysel olarak oluşturulan inflamasyona etkisinin sintigrafi yöntemi ile saptanması. Yeditepe Üniversitesi, Doktora tezi, İstanbul, 2008.
122. Kalbhen DA. Chemical model of osteoarthritis--a pharmacological evaluation. *J Rheumatol*, 14: 130-1, 1987.

123. Van der Kraan PM, Vitters EL, van de Putte LB, van den Berg WB. Development of osteoarthritic lesions in mice by "metabolic" and "mechanical" alterations in the knee joints. *Am J Pathol*, 135: 1001-14, 1989.
124. Kurita H, Kojima Y, Nakatsuka A, Koike T, Kobayashi H, Kurashina K. Relationship between temporomandibular joint (TMJ)-related pain and morphological changes of the TMJ condyle in patients with temporomandibular disorders. *Dentomaxillofac Radiol*, 33: 329-33, 2004.
125. Mejersjö C, Hollender L. TMJ pain and dysfunction: relation between clinical and radiographic findings in the short and long-term. *Scand J Dent Res*, 92: 241-8, 1984.
126. Helenius LM, Hallikainen D, Helenius I, Meurman JH, Könönen M, Leirisalo-Repo M, Lindqvist C. Clinical and radiographic findings of the temporomandibular joint in patients with various rheumatic diseases. A case-control study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 99: 455-63, 2005.
127. Westesson PL, Cohen JM, Tallents RH. Magnetic resonance imaging of temporomandibular joint after surgical treatment of internal derangement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 71: 407-11, 1991.
128. Tasaki MM, Westesson PL. Temporomandibular joint: diagnostic accuracy with sagittal and coronal MR imaging. *Radiology*, 186: 723-9, 1993.
129. Zhang SY, Yang C, Chen MJ, Fan X, Yun B. Magnetic resonance imaging in the diagnosis of intra-articular adhesions of the temporomandibular joint. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 10: 1016-1020, 2009.
130. Larheim TA. Current trends in temporomandibular joint imaging Review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 80: 555-76, 1995.
131. Cholitgul W, Petersson A, Rohlin M, Tanimoto K, Akerman S. Diagnostic outcome and observer performance in sagittal tomography of the temporomandibular joint. *Dentomaxillofac Radiol*, 19: 1-6, 1990.
132. Brandlmaier I, Bertram S, Rudisch A, Bodner G, Emshoff R. Temporomandibular joint osteoarthrosis diagnosed with high resolution ultrasonography versus magnetic resonance imaging: how reliable is high resolution ultrasonography. *J Oral Rehabil*, 30: 812-7, 2003.
133. Yamada K, Tsuruta A, Hanada K, Hayashi T. Morphology of the articular eminence in temporomandibular joints and condylar bone change. *J Oral Rehabil*, 31: 438-44, 2004.

134. Martinez Blanco M, Bagán JV, Fons A, Poveda Roda R. Osteoarthritis of the temporomandibular joint. A clinical and radiological study of 16 patients. *Med Oral*, 9: 110-15, 2004.
135. Alexiou K, Stamatakis H, Tsiklakis K. Evaluation of the severity of temporomandibular joint osteoarthritic changes related to age using cone beam computed tomography. *Dentomaxillofac Radiol*, 38: 141-7, 2009.
136. Stein JJ. TMJ arthrocentesis. A conservative surgical alternative. *N Y State Dent J*, 61: 68-76, 1995.
137. Emshoff R, Bertram S, Rudisch A, Gassner R. The diagnostic value of ultrasonography to determine the temporomandibular joint disk position. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 84: 688-96, 1997.
138. Nitzan DW, Dolwick MF, Martinez GA. Temporomandibular joint arthrocentesis: a simplified treatment for severe, limited mouth opening. *J Oral Maxillofac Surg*, 49: 1163-7, 1991.
139. Güler N. Kapalı kilitlenmeli 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.
140. Barkin S, Weinberg S. Internal derangement of the temporomandibular joint: the role of arthroscopic surgery and arthrocentesis. *J Can Dent Assoc*, 66: 199-203, 2000.
141. 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.
142. Nitzan DW, Kreiner B, Zeltser R. TMJ lubrication system: its effect on the joint function, dysfunction, and treatment approach. *Compend Contin Educ Dent*, 25: 437-8, 2004.
143. Rydell N, Balazs EA. Effect of intra-articular injection of hyaluronic acid on the clinical symptoms of osteoarthritis and on granulation tissue formation. *Clin Orthop Relat Res*, 80: 25-32, 1971.
144. Kawai N, Tanaka E, Takata T, Miyauchi M, Tanaka M, Todoh M, van Eijden T, Tanne K. Influence of additive hyaluronic acid on the lubricating ability in the temporomandibular joint. *J Biomed Mater Res A*, 70: 149-53, 2004.
145. Takahashi K, Goomer RS, Harwood F, Kubo T, Hirasawa Y, Amiel D. The effects of hyaluronan on matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), interleukin-

- 1beta(IL-1beta), and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) gene expression during the development of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 7: 182-90, 1999.
146. Xinmin Y, Jian H. Treatment of temporomandibular joint osteoarthritis with viscosupplementation and arthrocentesis on rabbit model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 100: e35-8, 2005.
 147. Adams E, Atkinson MH, Lussier AJ, Schulz JL, Siminovitch KA, Wade JP, Zummer M. The role of viscosupplementation with hylan G-F 20 (Synvisc®) in the treatment of osteoarthritis of the knee: a Canadian multicenter trial comparing hylan G-F 20 alone, hylan G-F 20 with non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and NSAIDs alone. *Osteoarthritis and Cartilage*, 3: 213-226, 1995.
 148. Kim CH, Lee BJ, Yoon J, Seo KM, Park JH, Lee JW, Cho ES, Hong JJ, Lee YS, Park JH. Therapeutic effect of hyaluronic acid on experimental osteoarthrosis of ovine temporomandibular joint. *J Vet Med Sci*, 63: 1083-9, 2001.
 149. Takahashi T, Tominaga K, Takano H, Ariyoshi W, Habu M, Fukuda J, Maeda H. A decrease in the molecular weight of hyaluronic acid in synovial fluid from patients with temporomandibular disorders. *J Oral Pathol Med*, 33: 224-9, 2004.
 150. Fife RS, Brandt KD, Braunstein EM, Katz BP, Shelbourne KD, Kalasinski LA, Ryan S. Relationship between arthroscopic evidence of cartilage damage and radiographic evidence of joint space narrowing in early osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum*, 34: 377-82, 1991.
 151. Hochberg MC, Altman RD, Brandt KD, Moskowitz RW. Design and conduct of clinical trials in osteoarthritis: preliminary recommendations from a task force of the Osteoarthritis Research Society. *J Rheumatol*, 24: 792-4, 1997.
 152. Antonas KN, Fraser JR, Muirden KD. Distribution of biologically labelled radioactive hyaluronic acid injected into joints. *Ann Rheum Dis*, 32: 103-11, 1973.
 153. Pozo MA, Balazs EA, Belmonte C. Reduction of sensory responses to passive movements of inflamed knee joints by hylan, a hyaluronan derivative. *Exp Brain Res*, 116: 3-9, 1997.
 154. Asari A, Miyauchi S, Matsuzaka S, Ito T, Kominami E, Uchiyama Y. Molecular weight-dependent effects of hyaluronate on the arthritic synovium. *Arch Histol Cytol*, 61: 125-35, 1998.

155. Goldberg VM, Buckwalter JA. Hyaluronans in the treatment of osteoarthritis of the knee: evidence for disease-modifying activity Review. *Osteoarthritis Cartilage*, 13: 216-24, 2005.
156. Fream SP, Abraham LA. In vitro stimulation of equine articular cartilage proteoglycan synthesis by hyaluronan and carprofen. *Res Vet Sci*, 67: 183-90, 1999.
157. Kawasaki K, Ochi M, Uchio Y, Adachi N, Matsusaki M. Hyaluronic acid enhances proliferation and chondroitin sulfate synthesis in cultured chondrocytes embedded in collagen gels. *J Cell Physiol*, 179: 142-8, 1999.
158. Tobetto K, Yasui T, Ando T, Hayaishi M, Motohashi N, Shinogi M, Mori I. Inhibitory effects of hyaluronan on [¹⁴C]arachidonic acid release from labeled human synovial fibroblasts. *Jpn J Pharmacol*, 60: 79-84, 1992.
159. Forrester JV, Balazs EA. Inhibition of phagocytosis by high molecular weight hyaluronate. *Immunology*, 40: 435-46, 1980.
160. Sato S, Oguri S, Yamaguchi K, Kawamura H, Motegi K. Pumping injection of sodium hyaluronate for patients with non-reducing disc displacement of the temporomandibular joint: two year follow-up. *J Craniomaxillofac Surg*, 29: 89-93, 2001.
161. Gotoh S, Miyazaki K, Onaya J, Sakamoto T, Tokuyasu K, Namiki O. Experimental knee pain model in rats and analgesic effect of sodium hyaluronate. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 92: 17-27, 1988.
162. Brandt KD, Block JA, Michalski JP, Moreland LW, Caldwell JR, Lavin PT. Efficacy and safety of intraarticular sodium hyaluronate in knee osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res*, 385: 130-43, 2001.
163. Altman RD. Status of hyaluronan supplementation therapy in osteoarthritis Review. *Curr Rheumatol Rep*, 5: 7-14, 2003.
164. Yoshioka M, Shimizu C, Harwood FL, Coutts RD, Amiel D. The effects of hyaluronan during the development of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 5: 251-60, 1997.
165. Kobayashi K, Amiel M, Harwood FL, Healey RM, Sonoda M, Moriya H, Amiel D. The long-term effects of hyaluronan during development of osteoarthritis following partial meniscectomy in a rabbit model. *Osteoarthritis Cartilage*, 8: 359-65, 2000.
166. Bertolami CN, Gay T, Clark GT, Rendell J, Shetty V, Liu C, Swann DA. Use of sodium hyaluronate in treating temporomandibular joint disorders:

- a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Oral Maxillofac Surg*, 51: 232-42, 1993.
167. Nardini LG, Stifano M, Brombin C, Salmaso L, Manfredini D. A one-year case series of arthrocentesis with hyaluronic acid injections for temporomandibular joint osteoarthritis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 103: e14-22, 2007.
 168. Kopp S, Carlsson GE, Haraldson T, Wenneberg B. Long term effect of intra-articular injections of sodium hyaluronate and corticosteroid on temporomandibular joint arthritis. *J Oral Maxillofac Surg*, 45: 929-935, 1987.
 169. Manfredini D, Bonnini S, Arboretti R, Guarda-Nardini L. Temporomandibular joint osteoarthritis: an open label trial of 76 patients treated with arthrocentesis plus hyaluronic acid injections. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 38: 827-34, 2009.
 170. Ghosh P, Guidolin D. Potential mechanism of action of intra-articular hyaluronan therapy in osteoarthritis: are the effects molecular weight dependent. *Semin Arthritis Rheum*, 32: 10-37, 2002.
 171. Smith MM, Ghosh P. The synthesis of hyaluronic acid by human synovial fibroblasts is influenced by the nature of the hyaluronate in the extracellular environment. *Rheumatol Int*, 7: 113-22, 1987.
 172. Bagga H, Burkhardt D, Sambrook P, March L. Longterm effects of intraarticular hyaluronan on synovial fluid in osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol*, 33: 946-50, 2006.
 173. Simon LS. Viscosupplementation therapy with intra-articular hyaluronic acid. Fact or fantasy Review. *Rheum Dis Clin North Am*, 25: 345-57, 1999.
 174. Yustin D, Kryshchalskyj 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.
 175. Yeung RW, Chow RLK, Samman N, Chiu K. Short-term therapeutic outcome of intra-articular high molecular weight hyaluronic acid injection for nonreducing disc displacement of the temporomandibular joint. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 102: 453-61, 2006.
 176. Conrozier T, Matheu P, Schott A, Laurent I, Hajri T, Crozes P, Grand P, Laurent H, Marchand F, Meignan F, Noel E, Rozand Y, Savoye JF, Vignon E. Factors predicting long-term efficacy of Hylan G-F 20 viscosupplementation in knee osteoarthritis. *Joint Bone Spine*, 70: 128-133, 2003.

177. Sato S, Kawamura H. Changes in condylar mobility and radiographic alterations after treatment in patients with non-reducing disc displacement of the temporomandibular joint. *Dentomaxillofac Radiol*, 35: 289-94, 2006.
178. Güler N, Duygu G, Kürkçü M. Sodium Iodoacetate Induced Osteoarthritis Model in Rabbit Temporomandibular Joint. *J Oral Maxillofac Surg*, 67: 94, 2009.
179. Møystad A, Mork-Knutsen BB, Bjørnland T. Injection of sodium hyaluronate compared to a corticosteroid in the treatment of patients with temporomandibular joint osteoarthritis: a CT evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 105: e53-60, 2008.
180. Xu L, Polur I, Lim C, Servais JM, Dobeck J, Li Y, Olsen BR. Early-onset osteoarthritis of mouse temporomandibular joint induced by partial discectomy. *Osteoarthritis Cartilage*, 17: 917-22, 2009.
181. Mills DK, Daniel JC, Scapino R. Histological features and in-vitro proteoglycan synthesis in the rabbit craniomandibular joint disc. *Arch Oral Biol*, 33: 195-202, 1988.
182. Kim SG, Ha JW, Park JC. Histological changes in the temporomandibular joint in rabbits depending on the extent of mandibular lengthening by osteodistraction. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 42: 559-65, 2004.
183. Savalle WP, Weijs WA, James J, Everts V. Elastic and collagenous fibers in the temporomandibular joint capsule of the rabbit and their functional relevance. *Anat Rec*, 227: 159-66, 1990.
184. Vignon E, Arlot M, Hartmann D, Moyon B, Ville G. Hypertrophic repair of articular cartilage in experimental osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis*, 42: 82-8, 1983.
185. Telhag H. Mitosis of chondrocytes in experimental "osteoarthritis" in rabbits. *Clin Orthop Relat Res*, 86: 224-9, 1972.
186. Schindler C, Paessler L, Eckelt U, Kirch W. Severe temporomandibular dysfunction and joint destruction after intra-articular injection of triamcinolone. *J Oral Pathol Med*, 34: 184-6, 2005.
187. Toller PA. Use and misuse of intra-articular corticosteroids in treatment of temporomandibular joint pain. *Proc R Soc Med*, 70: 461-3, 1977.
188. El-Hakim IE, Abdel-Hamid IS, Bader A. Tempromandibular joint (TMJ) response to intra-articular dexamethasone injection following mechanical

- arthropathy: a histological study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 34: 305-10, 2005.
189. Kopp S, Wenneberg B, Haraldson T. The short-term effect of intra-articular injections of sodium hyaluronate and corticosteroid on temporomandibular joint pain and dysfunction. *J Oral Maxillofac Surg*, 43: 429-35, 1985.
 190. 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.
 191. Wenneberg B, Kopp S, Gröndahl HG. Long-term effect of intra-articular injections of a glucocorticosteroid into the TMJ: a clinical and radiographic 8-year follow-up. *J Craniomandib Disord*, 5: 11-8, 1991.
 192. Iida K, Tange K, Yoshida K. Necrosis of the articular tubercle after repeated injections of sodium hyaluronate in the temporomandibular joint: a case report. *Int Oral Maxillofac Surg*, 27: 278-9, 1998.
 193. Hepguler S, Akkoc YS, Pehlivan M, Ozturk C, Celebi G, Saracoglu A, Ozpinar B. The efficacy of intra-articular sodium hyaluronate in patients with reducing displaced disc of the temporomandibular joint. *J Oral Rehabil*, 29: 80-6, 2002.
 194. Guidolin DD, Ronchetti IP, Lini E, Guerra D, Frizziero L. Morphological analysis of articular cartilage biopsies from a randomized, clinical study comparing the effects of 500-730 kDa sodium hyaluronate (Hyalgan) and methylprednisolone acetate on primary osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage*, 9: 371-81, 2001.
 195. Ohno S, Ohno-Nakahara M, Knudson CB, Knudson W. Induction of MMP-3 by hyaluronan oligosaccharides in temporomandibular joint chondrocytes. *J Dent Res*, 84: 1005-9, 2005.
 196. Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med*, 242: 27-33, 1997.
 197. Dougados M. Sodium hyaluronate therapy in osteoarthritis: arguments for a potential beneficial structural effect. *Semin Arthritis Rheum*, 30: 19-25, 2000.
 198. Obara T, Mabuchi K, Iso T, Yamaguchi T. Increased friction of animal joints by experimental degeneration and recovery by addition of hyaluronic acid. *Clin Biomech*, 12: 246-252, 1997.

199. Manicourt DH, Pita JC. Progressive depletion of hyaluronic acid in early experimental osteoarthritis in dogs. *Arthritis Rheum*, 31: 538-44, 1988.
200. Thonar EJ, Sweet MB, Immelman AR, Lyons G. Hyaluronate in articular cartilage: age-related changes. *Calcif Tissue Res*, 26: 19-21, 1978.
201. Akmal M, Singh A, Anand A, Kesani A, Aslam N, Goodship A, Bentley G. The effects of hyaluronic acid on articular chondrocytes. *J Bone Joint Surg Br*, 87: 1143-9, 2005.
202. Julovi SM, Yasuda T, Shimizu M, Hiramitsu T, Nakamura T. Inhibition of interleukin-1beta-stimulated production of matrix metalloproteinases by hyaluronan via CD44 in human articular cartilage. *Arthritis Rheum*, 50: 516-25, 2004.
203. Ghosh P, Guidolin D. Potential mechanism of action of intra-articular hyaluronan therapy in osteoarthritis: are the effects molecular weight dependent? *Semin Arthritis Rheum*, 32: 10-37, 2002.
204. Entwistle J, Hall CL, Turley EA. HA receptors: regulators of signalling to the cytoskeleton. *J Cell Biochem*, 61: 569-77, 1996.
205. Larsen NE, Lombard KM, Parent EG, Balazs EA. Effect of hylan on cartilage and chondrocyte cultures. *J Orthop Res*, 10: 23-32, 1992.
206. Homandberg GA, Hui F, Wen C, Kuettner KE, Williams JM. Hyaluronic acid suppresses fibronectin fragment mediated cartilage chondrolysis: I. In vitro. *Osteoarthritis Cartilage*, 5: 309-19, 1997.
207. Ariyoshi W, Takahashi T, Kanno T, Ichimiya H, Takano H, Koseki T, Nishihara T. Mechanisms involved in enhancement of osteoclast formation and function by low molecular weight hyaluronic acid. *J Biol Chem*, 280: 18967-72, 2005.
208. Fukuda K, Dan H, Takayama M, Kumano F, Saitoh M, Tanaka S. Hyaluronic acid increases proteoglycan synthesis in bovine articular cartilage in the presence of interleukin-1. *J Pharmacol Exp Ther*, 277: 1672-5, 1996.
209. Stöve J, Gerlach C, Huch K, Günther KP, Puhl W, Scharf HP. Effects of hyaluronan on proteoglycan content of osteoarthritic chondrocytes in vitro. *J Orthop Res*, 20: 551-5, 2002.
210. Yasui T, Akatsuka M, Tobetto K, Hayaishi M, Ando T. The effect of hyaluronan on interleukin-1 alpha-induced prostaglandin E2 production in human osteoarthritic synovial cells. *Agents Actions*, 37: 155-6, 1992.

211. Hulmes DJ, Marsden ME, Strachan RK, Harvey RE, McInnes N, Gardner DL. Intra-articular hyaluronate in experimental rabbit osteoarthritis can prevent changes in cartilage proteoglycan content. *Osteoarthritis Cartilage*, 12: 232-8, 2004.
212. Abatangelo G, Botti P, Del Bue M, Gei G, Samson JC, Cortivo R, De Galateo A, Martelli M. Intraarticular sodium hyaluronate injections in the Pond-Nuki experimental model of osteoarthritis in dogs. I. Biochemical results. *Clin Orthop Relat Res*, 241: 278-85, 1989.
213. Schiavinato A, Lini E, Guidolin D, Pezzoli G, Botti P, Martelli M, Cortivo R, De Galateo A, Abatangelo G. Intraarticular sodium hyaluronate injections in the Pond-Nuki experimental model of osteoarthritis in dogs. II. Morphological findings. *Clin Orthop Relat Res*, 241: 286-99, 1989.
214. Wang CT, Lin YT, Chiang BL, Lin YH, Hou SM. High molecular weight hyaluronic acid down-regulates the gene expression of osteoarthritis-associated cytokines and enzymes in fibroblast-like synoviocytes from patients with early osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 14: 1237-47, 2006.
215. Sonoda M, Harwood FL, Wada Y, Moriya H, Amiel D. The effects of hyaluronan on the meniscus and on the articular cartilage after partial meniscectomy. *Am J Sports Med*, 25: 755-62, 1997.
216. Greenberg DD, Stoker A, Kane S, Cockrell M, Cook JL. Biochemical effects of two different hyaluronic acid products in a co-culture model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 14: 814-22, 2006.
217. Ghosh P, Read R, Numata Y, Smith S, Armstrong S, Wilson D. The effects of intraarticular administration of hyaluronan in a model of early osteoarthritis in sheep. II. Cartilage composition and proteoglycan metabolism. *Semin Arthritis Rheum*, 22: 31-42, 1993.
218. Koyama J, Nishiyama H, Hayashi T. Follow-up study of condylar bony changes using helical computed tomography in patients with temporomandibular disorder. *Dentomaxillofac Radiol*, 36: 472-7, 2007.
219. Cubukçu D, Ardiç F, Karabulut N, Topuz O. Hylan G-F 20 efficacy on articular cartilage quality in patients with knee osteoarthritis: clinical and MRI assessment. *Clin Rheumatol*, 24: 336-41, 2005.
220. Frizziero L, Govoni E, Bacchini P. Intra-articular hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis of the knee: clinical and morphological study. *Clin Exp Rheumatol*, 16: 441-9, 1998.

221. Macher DJ, Westesson PL, Brooks SL, Hicks DG, Tallents RH. Temporomandibular joint: surgically created disk displacement causes arthrosis in the rabbit. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 73: 645-9, 1992.

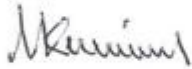
T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ
(DETAE)
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU

Doç. Dr. Nurhan Güler, Yeditepe Ü. Diş Hek. Fak. Ağız Diş Çene Hast. ve Cerrahisi AB Dalı

Karar No: 25

İlgi:03.04.2007 tarihli yazınız.

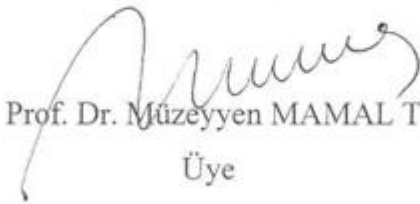
Sorumluluğunu üstlendiğiniz “Temporomandibular eklemdede hylan G-F 20’nin deneysel osteoartroz üzerinde erken ve geç dönemdeki etkisinin radyolojik, histolojik ve histomorfometrik olarak değerlendirilmesi” isimli projeniz Etik Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul İlkeleri’ne uygun bulunmuştur.



Yard. Doç. Dr. Mutlu KÜÇÜK
Deney Hayvanları Etik Kurulu
Başkanı



Prof. Dr. Mehmet KAYA
Üye



Prof. Dr. Müzeyyen MAMAL TORUN
Üye



Doç. Dr. Asiye NURTEN
Üye



Uzm. Dr. Mehmet ÖZEK
Üye

Doç. Dr. Bülent AHISHALI
Üye



Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Raportör



ÖZGEÇMİŞ

Gonca Duygu 31.01.1980 yılında Tekirdağ'da doğmuştur. İlköğrenimini Zafer İlkokulu'nda, ortaokul ve lise öğrenimini Tekirdağ Tuğlacılar Lisesi'nde tamamlamıştır. 1997 yılında girmiş olduğu Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden 2004 yılında mezun olmuştur. 2005 yılında Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalında master eğitime başlamış ve 2007 yılında mezun olmuştur. 2007 yılında başladığı doktora eğitimine devam etmektedir.