

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİMDALI

PROPOLİSİN RATLARDA MEDİAL MENİSEKTOMİ
SONRASINDA DEJENERATİF OSTEOARTRİT GELİŞİMİNE
OLAN ETKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Murat ÖZCAN

TRABZON 2016

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİMDALI

PROPOLİSİN RATLARDA MEDİAL MENİSEKTOMİ
SONRASINDA DEJENERATİF OSTEOARTRİT GELİŞİMİNE
OLAN ETKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Murat ÖZCAN

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Mehmet Emre BAKİ

TRABZON 2016

ÖZET

Amaç: Oral yolla verilen propolisin ratlarda medial menisektomi sonrası oluşturulan osteoartrit modelinde kıkırdak koruyucu etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmada 28 adet Sprague Dawley cinsi dişi rat kullanılmıştır. Ratlar kontrol, MEN, P100, P200 olmak üzere 7 şerli 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki ratlara sadece artrotomi uygulanırken, diğer gruplara deneysel osteoartrit modeli oluşturmak için medial kollateral bağ kesilmesinin ardından medial menisektomi uygulandı. Tüm ratların sağ dizi kullanıldı.

Ratlar ayrı ayrı kafeslere koyuldu ve harekete izin verildi. Cerrahi sonrası 1. günden itibaren P100 grubuna 100 mg/kg/gün olacak şekilde ve P200 grubundaki ratlara 200 mg/kg/gün olacak şekilde 5 hafta süreyle her gün oral yoldan propolis verildi.

5. hafta sonunda tüm ratlar servikal dislokasyonla öldürüldü ve sağ dizleri alındı. Fiksasyon, dekalsifikasyon işlemi sonrası tibia medialinden uygun kesitler alındı. Safranin O - Fast Green le boyama sonrası Mankin Skorlama Sistemine göre histolojik olarak değerlendirildi.

Bulgular: Grupların histolojik skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldı. P100 grubunun Mankin skorları menisektomi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.001$). P200 grubunun da Mankin skorları menisektomi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.001$). P100 ve P200 grupları arasında Mankin skorlarına göre rakamsal olarak fark olduğu fakat bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0.506$).

Sonuç: Rat dizlerinde yaptığımız deneysel çalışmada medial kollateral bağ kesilmesi ve menisektomi sonrasında literatürle uyumlu deneysel osteoartrit modeli oluşturulabildiği görüldü. Oral propolisin deneysel osteoartrit modelinde kıkırdak koruyucu etki gösterdiği görülmüştür. Ayrıca propolisin 100mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında kıkırdak üzerindeki etkinliğinin değişmediği görülmüştür.

SUMMARY

Objective: The evaluation of the chondroprotective effect of oral propolis on articular cartilage in rats experimental osteoarthritis model by medial meniscectomy.

Material and Method: In this study we utilize 28 Sprague Dawley type female rats. The rats were divided into 4 groups named as control, meniscectomy, P100 and P200. In order to obtain experimental osteoarthritis model; we perform medial collateral ligament transection and medial meniscectomy to the rats except control group, we apply only arthrotomy to the rats in the control group. We utilize only right knees of rats.

We allow rats to move and put in separately cages. First day after surgery we practiced oral propolis 100 mg/kg/day to P100 group and 200 mg/kg/day to P200 group everyday for five weeks.

At the end of the fifth week all rats were euthanized by cervical dislocation and right knees were taken. After fixation and decalcification procedure, appropriate sections taken from the medial of tibia and then stained with Safranin O- Fast Green. Then examined by using Mankin Scoring System.

Results: Groups were statistically evaluated. There was a statistically significant between P100 - meniscectomy groups ($p < 0.001$) and P200 - meniscectomy groups ($p < 0.001$). When we compared P100 and P200 groups, we didn't find statistically significant ($p = 0.506$).

Conclusions: In this study that on articular cartilage in a rat experimental osteoarthritis model by medial collateral transection and medial meniscectomy, our results was compatible with the literature at experimental models of osteoarthritis. Oral propolis has been observed that the protective effect of cartilage in an experimental model of osteoarthritis. Also propolis using 100 mg/kg/day and 200 mg/kg/day doses no change of efficiency on cartilage.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
SUMMARY	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Eklem kıkırdağı	3
2.1.1. Embriyoloji ve Histoloji	3
2.1.2. Eklem kıkırdağı tipleri	3
2.1.3. Kıkırdağın yapısı.....	5
2.1.5. Kıkırdak Biyomekaniği.....	12
2.2. Osteoartrit Patofizyolojisi.....	13
2.3. Propolis.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Anestezi	16
3.2. Cerrahi UYGULAMA.....	16
3.3. Propolis Hazırlanışı	22
3.4. Cerrahi Sonrası Takip ve Tedavi	22
3.5. Histolojik Değerlendirme	23
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	24
4. BULGULAR	25
4.1. Klinik Bulgular	25
4.2. Histolojik Bulgular	25
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇLAR	41
7. KAYNAKLAR	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Hyalin Kıkırdak Yapısı	4
Şekil 2. Elastik Kıkırdak Yapısı.....	4
Şekil 3. Fibröz Kıkırdak Yapısı	5
Şekil 4. Eklem Kıkırdağının Farklı Tabakalarında Hücresel Dizilim.....	6
Şekil 5. Eklem Kıkırdağının Farklı Tabakalarında Kollajen Yapısı	7
Şekil 6. Kollajenin Biyokimyasal Yapısı	11



TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Mankin Skorlama Sistemi.....	24
Tablo 2. Grupların Mankin Skorları.....	26
Tablo 3. Grupların Toplam Mankin Skorları	26
Tablo 4. Grupların Mankin skorlarına göre minimum ve maksimum değerleri.....	27
Tablo 5. Grupların Mankin Skorlarına göre P değerleri	28



RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No.

Resim 1.	Sağ diz tıraş edildi	17
Resim 2.	Sağ diz povidon iyotla boyanışı	17
Resim 3.	Sağ dize medial parapatellar kesi uygulanışı	18
Resim 4.	Eklem kapsülü geçilerek eklem ulaşıldı	18
Resim 5.	Patellanın laterale kaydırıldı ve MCL görüldü.....	19
Resim 6.	Medial kollateral bağ kesildi	20
Resim 7.	Medial menisküse menisektomi uygulandı	20
Resim 8.	Menisektomi sonrası medial eklem aralığı.....	21
Resim 9.	Eklem kapsülü kapatıldı	21
Resim 10.	Cilt kapatıldı pansuman yapıldı.....	22
Resim 11.	Artrotomi grubu. Tidemarkın korunduğu, yapının normal olduğu görülme (Safranin O -FastGreen X100).....	29
Resim 12.	Artrotomi grubu.Hücrelerin ve boyanmanın normal yapıda olduğu görülme (Safranin O -FastGreen X200).....	30
Resim 13.	Artrotomi grubu. Eklem yüzeyinin düzgün görünümde olduğu, hücrelerin normal yapıda oldukları görülmekte (Safranin O -FastGreen X400)	30
Resim 14.	Menisektomigrubu.Orta tabakaya kadar uzanan yarıklar ve yüzeyel düzensizlikler ve orta derecede azalmış boyanma görülmekte(Safranin O-FastGreen X40)	31
Resim 15.	Menisektomi grubu.Hasarlı bölgede boyanmada ileri derecede azalma olduğu, yüzeyel tabakada hücre kaybı ve bazı bölgelerde hücrelerde gruplaşmalar olduğu görülmekte (Safranin O -FastGreen X200).....	31
Resim 16.	Propolis 100 grubu.Yüzeyel tabakada hücre kaybı ve safranin O ile boyanmada orta derecede azalma görülmekte (Safranin O -FastGreen X200	32
Resim 17.	Propolis 100 grubu.Orta tabakaya uzananyarık hücrelerde kümelenmeler görülme (Safranin O -FastGreen X100).....	32
Resim 18.	Propolis200 grubu. Yüzeyde hafif düzensizlikler ve yaygın hipersellülarite görülmekte (Safranin O -FastGreen X100).....	33

Resim 19. Propolis 200 grubu.Yüzeyde hafif düzensizlikler ve safranin O boyanmada hafif azalma görülmekte 33



1. GİRİŞ

Osteoartrit 65 yaş üstü insanların % 50 sini etkileyen ve ilerleyici kıkırdak hasarıyla seyreden bir eklem hastalığıdır. Osteoartritte patoloji kıkırdak hasarı olduğundan, kıkırdak hasarını iyileştirmek ve ilerleme hızını azaltmak için birçok çalışma yapılmıştır.

Günümüzde osteoartrit tedavisinde kullanılan mevcut ilaçlar ağrıyı ve inflamasyonu azaltmaya yöneliktir fakat eklem hasarını azaltmaya yönelik çok düşük etkileri mevcuttur (1).

Mevcut durum göz önünde bulundurulduğunda osteoartrit tedavisinde, maliyeti düşük, uygulanışı ve temini kolay, tedavide etkin olabilecek yeni ajanlara ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmaların çoğu deneysel osteoartrit modeli oluşturulan deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanlarında osteoartrit doğal yollarla ve cerrahi olarak oluşturulabilir. Çeşitli deney hayvanlarında farklı metotlar kullanarak ne kadar sürede, hangi düzeyde kıkırdak hasarı oluşturulduğu çalışmalarla ortaya koyulmuştur (2).

Yapılan çalışmalarda medial kollateral bağ kesilmesi ve menisektomi sonrasında 3 hafta gibi kısa sürede kıkırdak dokuda dejeneratif osteoartrit bulgularının görülmeye başlanması (2, 3) nedeniyle çalışmamızda ratlar tercih edilmiştir.

Propolisin kimyasal yapısı oldukça karmaşıktır. Polifenoller, fenoleik aldehitler, aminoasitler, sinamik asit, steroidler, kininler, kafeik asit ve 300 den fazla inorganik bileşikten oluşur (4, 5).

Propolisin immün sistemi düzenleyici, antioksidan, antiviral, antibakteriyel ve antikanser gibi özelliklerinin olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir (6, 7, 8, 9).

Yapılan bir hücre kültürü çalışmasında propolisin içerdiği pinocembrin adlı flavonoidin TNF alfa'yı inhibe ederek kartilaj destrüksiyonuna neden olan MMP-1, MMP-3 ve MMP-13 adlı matriks metalloproteinazlarının ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (10).

Bu çalışmada propolisin yukarıda bahsettiğimiz antiinflamatuvar, antioksidan ve TNF alfa üzerinden matriks metalloproteinazlarını inhibe edici özellikleri göz

önünde bulundurularak deneysel olarak oluşturulan osteoartrit modelinde oral propolisin osteoartrit gelişme süreci üzerine olan etkisinin histolojik olarak ortaya konulması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Eklem Kıkırdağı

Eklem kıkırdağı diartrodiyal eklemlerde bulunan çok iyi özelleşmiş bir bağ dokusudur (11). Birçok bölgede çok ince olmasına rağmen yüklenme sırasında oluşan kompresyona karşı direnç göstererek üzerine binen yükleri subkondral kemiğe yayar ve stresi azaltır, eklem hareketlerini stabilize eder, eklem lumbrikasyonuna katılır ve sürtünmeyi azaltarak ağrısız bir hareket sağlar (11,12,13,14).

Metabolik aktivitesindeki yavaşlık ve üzerindeki ağır fiziksel yüke rağmen fonksiyonlarını uzun yıllar sürdürebilir. Çoğu insanda, 80 yıl ve daha uzun süre sağlamlığını koruyabilmektedir (13,15).

2.1.1. Kıkırdak Embriyolojisi

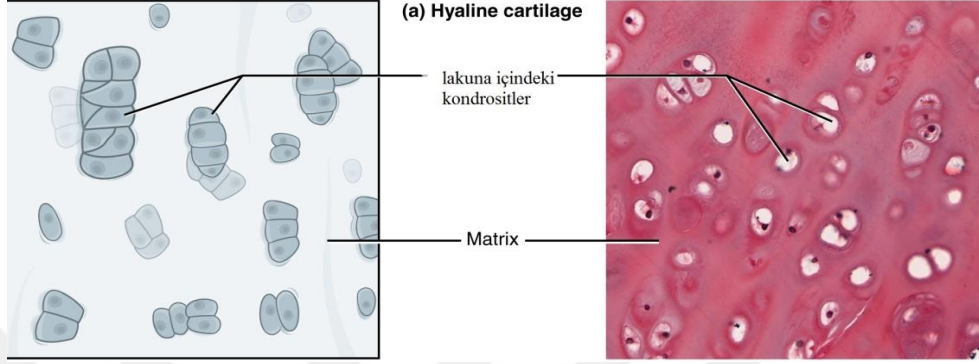
Kıkırdak doku, embriyonun 5. haftasından itibaren mezenkimden köken alarak gelişir. Mezenkimal hücreler kondroblastlara dönüşerek kıkırdak matriksini üretmeye başlarlar (16). İlerleyen dönemlerde kondroblastlar kendilerine ait küçük hücresel kompartmanlara yerleşirler, bu bölgede matriks sentezlerler ve kondrosit adını alırlar (16).

Kıkırdak gelişimi apozisyonel ve intertisyel olmak üzere iki şekilde olur. İntertisyel büyümede kıkırdak içerisinde mevcut kondrositler mitozla bölünerek çoğalır ve matriks üretir. İntertisyel büyüme hyalin kıkırdağın oluşumu esnasında ve kemiğin boyuna uzamasına neden olan epifiz plağında görülür. Apozisyonel büyümede perikondriumdaki kondrojenik hücreler bölünerek kondroblastlara farklılaşır. Kondroblastlarda kıkırdak matriksi sentezleyerek büyümeyi sağlar ve kondrositlere dönüşür (17,18).

2.1.2. Kıkırdak Tipleri

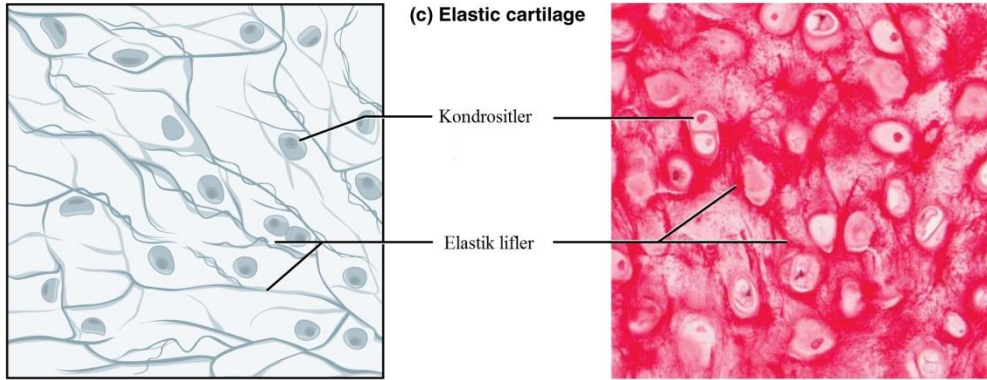
Memelilerdeki kıkırdak doku ekstraselüler matriksin içerdiği kollajen tipine ve dağılımına göre 3 tipe ayrılır (19).

1. Hyalin kıkırdak; İnsan vücudunda en sık görülen kıkırdak tipidir. Eklem yüzeylerinde ve fetal dönemde iskelet kemik dokuya dönüşmeden önce kıkırdak doku hyalin kıkırdak şeklindedir. Matrikste ince tip II kollajen lifleri mevcuttur ve makroskopik olarak açık mavi saydam renklidir (Şekil 1).



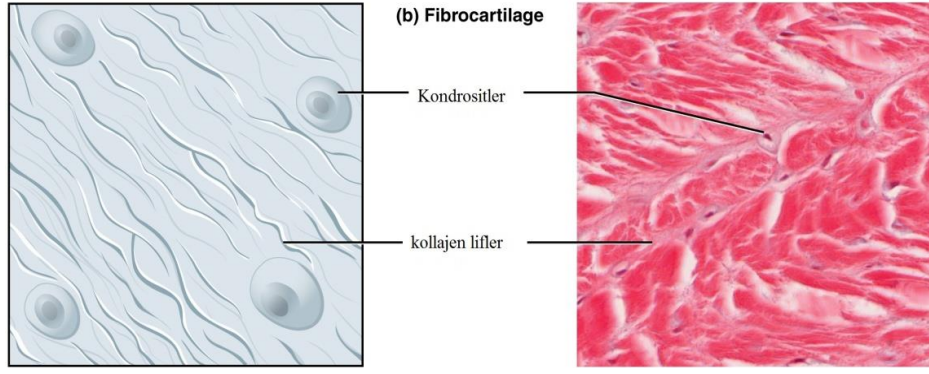
Şekil 1. Hyalin kıkırdak yapısı

2.Elastik kıkırdak; Tip II kollajene ek olarak elastik lifler içerir. Dış kulak, östaki tüpü ve epiglottiste bulunur. Opak ve sarı renklidir (Şekil 2).



Şekil 2. Elastik kıkırdak yapısı (20)

3. Fibröz kıkırdak; Matriks organize fibröz doku içerir ve ağ şeklinde tip I kollajen mevcuttur. İntervertebral disk, menisküs ve temporomandibular eklem fibröz kıkırdak yapısındadır (18,19) (Şekil 3).



Şekil 3. Fibröz kıkırdak yapısı (20)

2.1.3. Kıkırdağın Yapısı

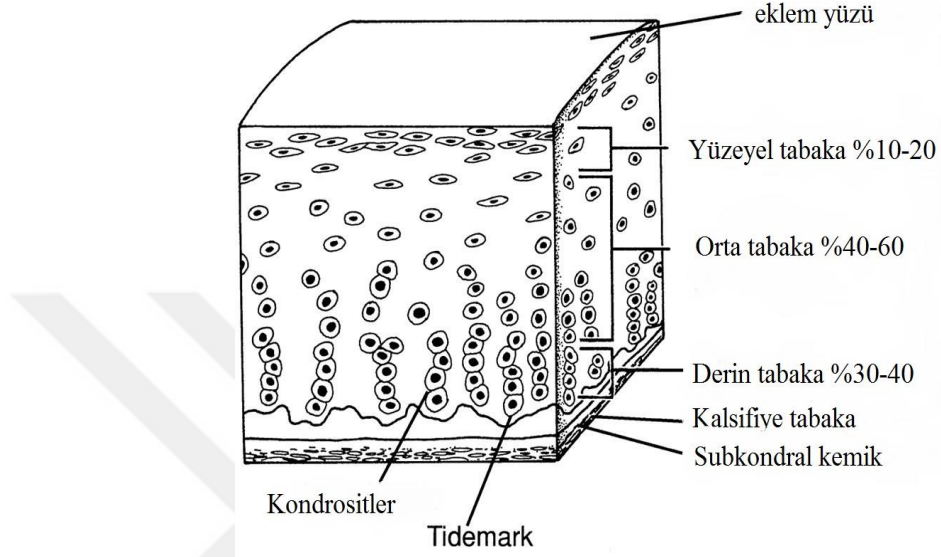
Diartrodial eklemlerin kıkırdak yüzeyleri hyalin kıkırdakla kaplanmıştır (21). Eklem kıkırdağı, su dolu bir makromoleküler ağdan oluşan ekstraselüler matriks içine yerleşmiş olan kondrositlerden oluşur. Ekstraselüler matriksin bileşenleri % 65-80 oranında su ile beraber proteoglikanlar, kollajen, daha düşük oranda bulunan diğer proteinler ve glikoproteinlerdir (14).

Kondrositler eklem kıkırdağının ıslak ağırlığının % 5 ini oluştururlar (21, 22). Kondrositler ekstraselüler matriksin sentezinde ve remodelizasyonunda görev alırlar (21). Metabolik olarak aktif olan bu hücreler, büyüme faktörleri, interlökinler, farmasötik ajanlar, matriks molekülleri, mekanik yüklenmeler ve hidrostatik basınç değişiklikleri gibi uyarılara yanıt verme yeteneğine sahiptir. Bu sayede anabolik ve katabolik süreçte yer alırlar (14, 23).

Klasik olarak eklem kıkırdağı damarsız, sinirsiz ve lenfatiksiz yapı göstermektedir. Sinovyal sıvıdan difüzyon ile oksijen ve besin ihtiyacı karşılanır (21). Beslenme çift difüzyon sistemi ile olur. Sinovyal dokunun dış kısmı daha kanlı olduğundan, önce sinovyal dokudan sinovyal sıvıya difüzyon olur. Oradan da kıkırdaktaki membrandan 6-8 mikrometrelik porlardan geçilerek kondrositlere ulaşacak şekilde ikinci bir difüzyon olur. Ayrıca aktif transport ve aralıklı yüklenmenin yaptığı pompalamada beslenmede önemli yer tutar (24).

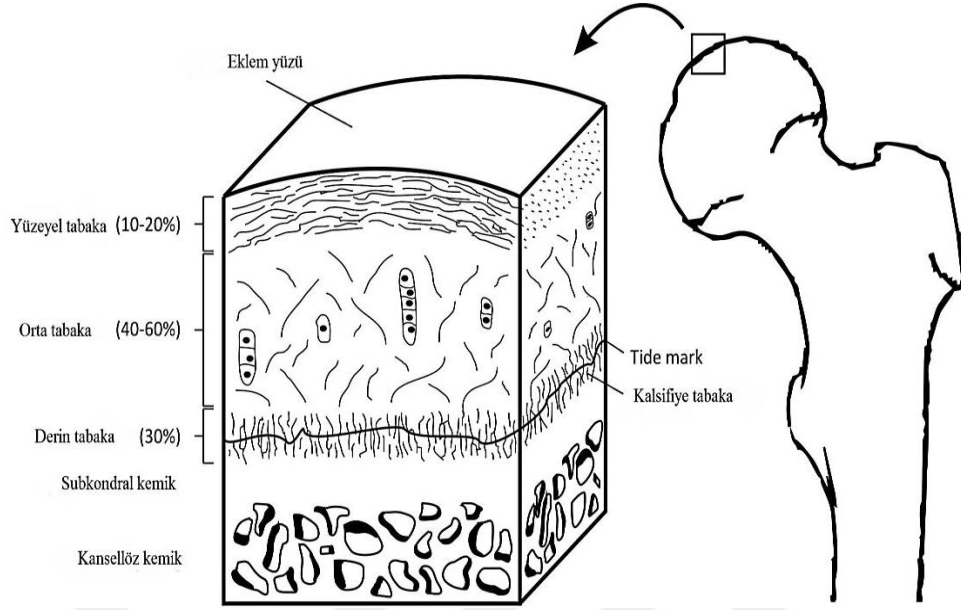
Kıkırdak doku eklem yüzeyinden subkondral bölgeye kadar yapısal olarak açıkça ayırt edilebilen 4 tabakadan oluşur (14, 21).

1. Yüzeyel tabaka
2. Orta (geçiş-transizyonel) tabaka
3. Derin (radiyal) tabaka
4. Kalsifiye tabaka



Şekil 4. Eklem Kıkırdağının farklı tabakalarındaki hücresel dizilim
(25)

Hyalin kıkırdağın her bir bölgesinin kendine has bir yapısı mevcuttur. Kondrositler her bölgede farklı dizilime sahiptir ayrıca kollajen dağılımı, agregan ve sıvı dinamikleri her bölgede farklılık göstermektedir (27) (Şekil 4, 5).



Şekil 5. Eklem kıkırdağının farklı tabakalarında ki kollajen yapısı (26)

Yüzeyel Tabaka

Eklem kıkırdağının yaklaşık %10-20 lik bölümünü oluşturur ve tüm tabakalar içerisinde en ince tabakadır (11,16). Yüzeyel bölge lamina splendens adı verilen bir tabaka içerir (27).

Yüzeyel tabaka eklem yüzeyine paralel olarak uzanan sıkı bir şekilde iç içe geçmiş kollajen liflerden ve düzleşmiş elipsoid şekilli kondrositlerden oluşmaktadır (27).

Yüzeyel tabakadaki kondrositler lubrisin adı verilen bir protein sentezler. Bu protein eklem yüzeyini saran bir film tabaka oluşturur ve eklem yüzeyindeki sürtünmeyi azaltarak maksimum kayganlık sağlar (16).

Bu tabakadaki kondrositler yüksek oranda kollajen (özellikle tip II ve tip IX) ve düşük oranda proteoglikan sentezler bu nedenle en yüksek su oranı bu tabakadadır. Kollajen liflerin eklem yüzeyine paralel uzanması sonucu, kıkırdakta artmış gerilim ve makaslama kuvvetlerine karşı direnç oluşmaktadır (16,27).

Ayrıca bu tabakanın büyük makromoleküllerin geçişinde filtre görevi gördüğü ve böylece kıkırdak dokuyu sinovyal doku immün sistemine karşı koruduğu bilinmektedir (14, 16, 27).

Orta (transizyonel) Tabaka

Bu tabaka kıkırdağın en kalın tabakasıdır ve toplam hacmin yaklaşık %40-60'ını oluşturur. Proteoglikan ve daha büyük çapta kollajen lifler içerir. Bu bölgedeki kollajen lifler oblik yerleşimlidir, kondrositler sferoid şekillidir ve düşük yoğunlukta dırlar (11).

Kollajen liflerin dizilimi ve hücrelerin basınca karşı hacim değışikliği sayesinde kompresyon kuvvetlerine karşı ilk direncin gösterildiği tabakadır (11,27). Kollajen liflerin bu dizilimi ve kondrositlerin bu özelliği kompresyon kuvvetlerinin oluşturduğu enerjinin emilerek azaltılmasını sağlayarak kıkırdak dokunun dayanıklılığını artırır (28).

Derin (Radiyal) Tabaka

Derin tabaka kıkırdak hacminin yaklaşık olarak %30'unu oluşturur. Kompresif kuvvetlere karşı en yüksek direnci oluşturan bölge derin bölgedir. Derin tabaka en geniş çapa sahip kollajen lifleri içerir ve bu lifler eklem yüzeyine dik yerleşimlidir. En yüksek oranda proteoglikan ve en düşük oranda su içeriği bu tabakada mevcuttur. Kondrositler kolon şeklinde ekleme dik kollajen liflere paralel olarak yerleşmiştir. Kondrositlerin ve kollajen liflerin bu şekilde dizilimi sayesinde kompresif kuvvetlere karşı doku direnci oluşturulmaktadır (11,27).

Kalsifiye Tabaka

Bu tabaka düşük metabolik aktiviteye sahip, kalsifiye bir matriks içine yerleşmiş az sayıda hücre içermektedir. Bu tabakadaki kondrositler hipertrofik yapıdadırlar (11,16). Bu kondrositler tip X kollajen sentezler, bu da ciddi bir yapısal bütünlük ve kıkırdağa binen yüklere karşı direnç oluşturur (16).

Kalsifiye tabaka derin tabakadan tidemark adı verilen bazik boyalara afinitesi olan bir bölgeyle ayrılır (16). Kıkırdak defektlerinde bu bölgeye uzanım tedavi planlamasında önem arz etmektedir. Bu tabakayı geçen yaralanmalarda kemik iliğinden gelen mezenkimal hücreler yardımıyla onarım yapılmaktadır (29).

Kondrosit

Kondrositler erişkin eklem kıkırdağının toplam hacminin yaklaşık %2' sini oluşturmaktadır (11,27). Mezenkimal kök hücrelerden köken alırlar (11). Mezenkimal hücreler kondroblastlara dönüşerek kıkırdak matriksini üretmeye başlarlar, ardından kondroblastlar kendi hücresel kompartmanlarına yerleşirler.

Kendi matriksini sentezlerler ve kondrosit adını alırlar. Yerleştikleri kompartmanlara lakün adı verilir (16).

Kondrositler farklı kıkırdak tabakalarında farklı büyüklüğe, şekillere ve farklı metabolik aktiviteye sahiptir fakat bütün hücreler matriks sentezi için gerekli olan endoplazmik retikulum ve golgi aygıtı gibi organellere sahiptir (13).

Metabolik olarak aktif olan bu hücreler, büyüme faktörleri, interlökinler, farmasötik ajanlar, mekanik yüklenmeler, elektriksel uyarılar ve hidrostatik basınç değişiklikleri gibi uyarılara yanıt verme yeteneğine sahiptirler (11, 23, 27). Matriks ile olan bağlantıları, büyüme faktörleri ve sitokinler için bulunan reseptörleri nedeniyle anabolik ve katabolik süreçte rol alırlar (15, 23).

Eklem kıkırdağındaki mevcut kondrositler gerekli besinlerini difüzyonla sağlarlar. Kıkırdak dokunun damarlanması olmadığından ve kıkırdak dokuda hipoksik bir ortam mevcut olduğundan kondrositler temel olarak anaerobik hücrelerdir ve enerji gereksinimlerini birincil olarak glikolizle sağlanmaktadır. Kondrositlerin beslenmesi için aralıklı mekanik güç uygulanmalıdır. Yük altında intertisyel sıvı matriksten dışarıya çıkar, kalktığında besin içeren sıvı matrikse döner (23,27). Osteositler gibi hücre-hücre temasları yoktur ve iskelet gelişimi tamamlandıktan sonra çok düşük oranda bölünürler (16, 23, 27).

Matriks devamlılığının sağlanması yapım ve yıkım sürecinin dengede olmasına bağlıdır. Kondrositler, bir taraftan matriks sentezlemekte, diğer taraftan matriksi yıkan enzimleri salgılamaktadır. Böylece dokunun normal dengesi sağlanabilmektedir (23).

Ekstrasellüler Matriks

Ekstrasellüler matriksin bileşenleri, %65-80 oranında su ile beraber kollajen, proteoglikanlar ve daha düşük oranda diğer glikoproteinler, nonkollejen proteinler, fosfolipidler ve lipidlerdir (11, 14, 15).

Ekstrasellüler matriks, kollajen yapısı ve dizilimi açısından gösterdiği varyasyonlara göre periselüler, territorial ve interterritorial matriks olmak üzere üç bölgeye ayrılmıştır (13, 16, 23).

Periselüler matriks kondrosit yüzeyini halka şeklinde saran çok ince bir bölgedir. Bu bölge proteoglikan ve kollajen olmayan proteinler açısından zengin bir

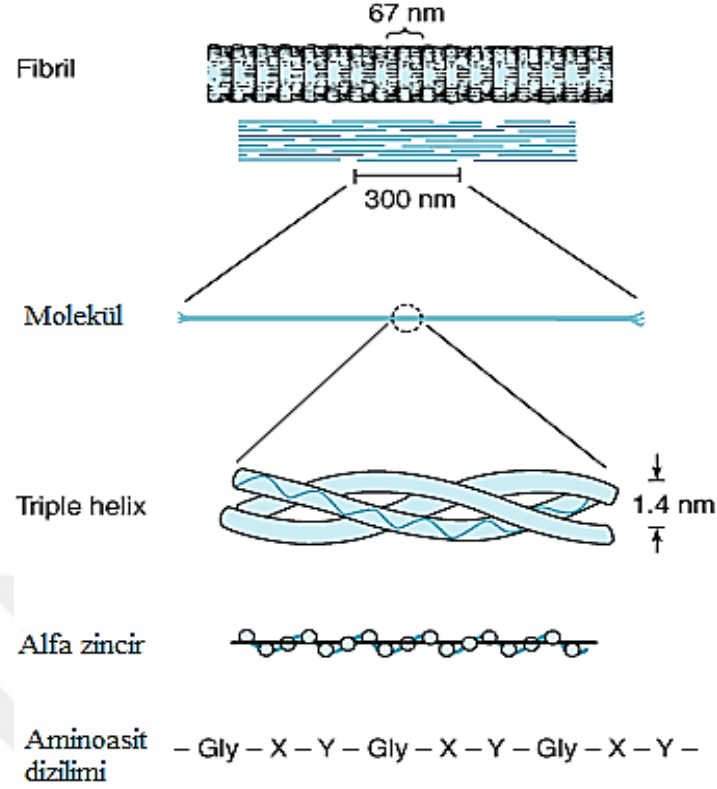
yapıya sahiptir. Az miktarda tip VI kollajenden oluşan fibriller olmayan kollajen içerir.

Territoryal matriks periselüler matriksi çevreler. Bu bölgede kollajen lifler birbirini çaprazlayarak yoğun bir fibriller ağ oluşturur ve bu yapılanma yüklenme esnasında ve doku hasarı olduğunda kondrositler için mekanik korunma oluşturur.

İnterterritoryal matriks en fazla hacmi oluşturan olan bölgedir. En geniş çaplı kollajen lifler bu bölgede bulunur ve proteoglikan açısından zengin bir bölgedir. Birincil görevi kırık dokusunun mekanik özelliğini sağlamaktır (13,16).

Su: Ekstraselüler matriksin ıslak ağırlığının yaklaşık yüzde 80'ini su oluşturur. Yüzeyel tabakada %80 oranında derin tabakada %65 oranında bulunur. Kırık dokuya kompresif kuvvetler uygulandığında dokudaki suyun bir kısmı eklem aralığına geçmekte bu aynı zamanda dokunun beslenmesini, madde geçişini ve eklem kırığının kayganlığını sağlamaktadır. Matriksdeki su inorganik sodyum, potasyum ve kalsiyum tuzları içermektedir. Bu pozitif yüklü iyonlar negatif yüklü proteoglikan bileşikleriyle etkileşerek doku biyomekaniğinde görev alırlar (11, 13, 15, 16).

Kollajen: Kollajen ekstraselüler dokuda en fazla bulunan yapısal makromoleküldür. Islak ağırlığın %20'sini kuru ağırlığın % 60'ını oluşturur (11,16). Mevcut kollajenin % 90-95'ini tip II kollajen oluşturur. Tip 2 kollajen birbirine çapraz kovalan bağlarla bağlanan 3 adet polipeptid zincirinden oluşan üçlü heliks yapısındadır. Birincil olarak glisin ve prolin aminoasitlerini içermektedir (11,21). (Şekil 6)



Şekil 6: Kollajenin biyokimyasal yapısı (30)

Mevcut kollajenin geri kalan %5-10 luk kısmını tip 1, tip 5, tip 6, tip 9, tip 11 oluşturur.

Elektron mikroskopik görüntülerde tip 2, tip 9, tip 11 kolajenlerin birbirini çaprazladığı tespit edilmiştir bu yapılanma sayesinde kıkırdak dokuya binen yüklerle karşı direnç oluşturulmakta ve kıkırdak doku gerginliği sağlanmaktadır (13,15). Ayrıca bu çapraz bağlanma sonucu geniş çaptaki proteoglikanlar matriks içerisinde hapsedilerek matriks stabilizasyonu oluşturulur ve şok emilimine katkı sağlanır (9,13).

Proteoglikanlar: Proteoglikanlar ıslak ağırlığın %10-15'ini oluşturur. Kondrositler tarafından üretilerek hücre dışı matrikse salgılanırlar. Bir protein çekirdek ve birbirine kovalan bağlarla bağlanmış glikozaminoglikanlardan oluşmaktadır. GAG lar kondroitin sulfat ve keratan sulfat olmak üzere iki alt gruptan oluşmaktadır. Yaşlanmayla birlikte kondroitin 4 sulfat azalır. GAGlar şeker bağıyla çekirdek proteine bağlanarak kıkırdak dokuda en fazla bulunan proteoglikan olan

agregan molekülünü oluşturur. Link proteini sayesinde de agregan molekülü hyaluronik aside bağlanarak proteoglikan agregatını oluşturmaktadır (22).

Agregasyon sayesinde proteoglikan molekülleri matriks içinde stabilize edilmekte böylece proteoglikanların matrikse tutunarak doku deformasyonu durumunda yer değiştirmeleri önlenerek; dokunun kompresyona direnci ve devamlılığı sağlanmış olur (13, 23).

Proteoglikanlar negatif yüklüdür ve matriks içerisindeki suyu ve pozitif yüklü iyonları çeker. Aynı zamanda yapısında bulunan keratan sulfat ve kondroitin sulfat birbirini iter ve proteoglikanlar kollajen içerisinde hapsolür. Bu özellikler kıkırdağın biyomekaniğine katkı sağlar (15).

Agregan hariç kıkırdak dokuda matriks yapısına katkıda bulunan fibromodilin, biglikan ve dekorin gibi proteoglikanlar vardır (14,16).

Matriksi oluşturan bu ana maddeler dışında glikoprotein yapıdaki fibronektin, ankorin CII, kondronektin gibi adeziv moleküller ve kemik morfogenezik protein gibi büyüme faktörleri mevcuttur. Ayrıca görevleri henüz tam olarak anlaşılammış birçok molekül mevcuttur (13, 22).

Bunların yanında matriks yapım ve yıkımında görev yapan matriks metalloproteazları ve hyaluronidaz gibi birçok enzim içerir (28).

2.1.4. Kıkırdak Biyomekaniği

Kompresyon durumunda kıkırdağın sıvı içeriği azalır ve proteoglikan içeriği artar bu sayede geçirgenliği azalır. Geçirgenliğin azalmasıyla, kompresif yüklenme sırasında dokudan hızlı ve aşırı sıvı kaçıışı engellenir ve bu sayede tekrarlayan yüklenme sırasında kıkırdağın enerji dağıtma yeteneği düzenlenerek deformasyon önlenir (14, 23).

Kıkırdağın gerilmeye karşı oluşturduğu direnç kollajen doku tarafından sağlanır. Kıkırdak dokuya kompresif kuvvetler uygulandığında aynı zamanda yüksek oranda gerilme oluşur ve bu gerilme kuvvetlerine karşı birincil olarak yoğun kollajen lifler içeren yüzeyel tabaka tarafından direnç oluşturulur (21).

Kıkırdak dokuda oluşan yüklenme sonrasında oluşan makaslama stresi derin tabaka ile kalsifiye tabaka arasındaki tidemark bölgesinde maksimuma ulaşır. Bu

bölgede kollajen lifler ve proteoglikanlar makaslama kuvvetlerine karşı direnç oluşturulmasında görev alırlar (21, 23).

2.2. Osteoartrit Patofizyolojisi

Eklem kıkırdağının dejenerasyonu, normal kıkırdak yapı ve fonksiyonunun ilerleyici kaybı sonucu osteoartrit oluşmaktadır (13).

Osteoartritin patogenezi tam olarak anlaşılamamakla birlikte travma, genetik, gelişimsel, nörolojik, metabolik, enfeksiyöz ve biyokimyasal faktörlerin oluşumda etkili olduğu düşünülmektedir (31, 32).

Kıkırdak tamir çabalarının eşlik ettiği ilerleyici kıkırdak hasarı, subkondral kemiğin yeniden şekillenmesi, ileriki dönemlerde subkondral kemikte kistik oluşumlar ve osteofitler görülmektedir (13, 31).

Birincil değişiklikler eklem kıkırdağında olmakla birlikte, osteoartritte subkondral ve metafizer kemik, sinoviya, ligamentler, eklem kapsülü ve eklemle ilişkili kaslar gibi sinovyal eklemle bağlantılı bütün dokular eklem dejenerasyonundan etkilenmektedir (13, 31).

Kıkırdak doku yapım ve yıkım arasında bir denge mevcuttur. Osteoartritte kondrositlerden ve sinovyadan sentezlenen ve kıkırdak dokuyu fizyolojik olarak etkileyen birçok sitokin ve büyüme faktörü mevcuttur. IL 1, 6, 8, 17, 18 ve TNF alfa gibi mediyatörler yıkımda, IGF-1(insülin benzeri büyüme faktörü), TGF beta, FGFs(fibroblast büyüme faktörü), BMPs gibi maddeler yapımda görev almaktadırlar (32).

Mikroskopik degerlendirmede histolojik olarak en erken bulgular yüzeysel tabakada fibrilasyon ve bozulmayken ilerleyen dönemlerde derin tabakaya uzanan yarıklar, tidemarkta damarlanma ve subkondral kemiğin remodelizasyonu görülmektedir (13, 31, 33).

Osteoartritteki patolojik süreç birbiriyle iç içe geçmiş üç evreye ayrılmıştır; Birinci evrede matriksin makromoleküler yapısında bozulmalar olur ve kıkırdak dokudaki su yoğunluğu artar. Dokudaki tip II kollajen yoğunluğu değişmez fakat glikozaminoglikan zincirlerinde kısalma, agregan konsantrasyonunda ve proteoglikana agregasyonunda azalma görülür. Kollajen lifleri ile minör kollajen

lifler arasındaki bağlantı bozulur bu da kollajen ağ yapısında bozulmalara neden olur. Bunun sonucunda agregan moleküllerde şişme olur. Tüm bu değişiklikler sonucunda doku geçirgenliği artar ve su miktarında artış olur. Kıkırdak dokusunun sertliği azalır ve mekanik yüklere karşı daha savunmasız hale gelir (13, 31).

İkinci evrede kondrositler dokudaki hasarına cevap olarak anabolik ve mitojenik büyüme faktörlerinin etkisiyle metabolik aktivitelerini artırarak matriks makromoleküllerinin sentezini artırır ve proliferer olurlar (13, 32).

Mekanik ve kimyasal değişiklikler bağlı olarak kondrositlerden nitrik oksit salınımı olmaktadır. Nitrik oksit dokuda hızlıca yayılır ve IL-1 üretimini artırır (31). IL-1 ve TNF alfa osteoartrit patogenezini en çok etkileyen iki sitokindir (34). Bu iki sitokin hem kendilerinin hem de inflamasyona neden olan sitokinlerin sentez ve salınımını artırmaktadır. Bütün bu proinflamatuvar sitokinler kıkırdak dokudaki matriks makromoleküllerinin yıkımına ve azalmasına neden olan matriks metalloproteazların sentez ve salınımını artırmaktadır (31, 34).

MMP-3 (stromelisin), MMP1, MMP-8, MMP-13 (kollajenazlar), MMP-2, MMP-9 (jelatinazlar) gibi matriks metalloproteinazlar kendi yapımlarını arttırdıkları gibi inhibitörleri olan TIMP 1-4 (doku metalloproteaz inhibitörü) ün yapım ve salınımını inhibe ederler (34). Kollajenaz doğal kollajenin, jelatinaz denature kollajenin, stromelisin ise proteoglikanların yıkımına neden olur.

İkinci evrede hücre sel onarım çabaları (makromoleküllerin sentezinde artma, az oranda hücre sel artış) bazen proteazların yıkıcı etkisini dengeleyerek kıkırdak dokuda stabilizasyon oluşturabilir (31).

Hücre sel onarımın ve stabilizasyonun sağlanamadığı durumlarda üçüncü ve son evreye geçilir. Bu evre kondrositlerin anabolik ve proliferatif cevap verme yeteneğinin kaybolması ve kıkırdak dokunun ilerleyici kaybıyla karakterizedir. Kıkırdak dokudaki kayıp sonrası osteoartritin klinik bulguları olan ağrı ve fonksiyon kaybı gibi belirtiler ortaya çıkar (13, 32).

Fibrilasyonlar, yarıklar, tidemarkta damarlanma artışı ve daha ileri ki dönemde osteofit oluşumu görülmektedir (13).

2.3. Propolisin Özellikleri

Propolis bal arıları tarafından huş, kavak, kızılâğaç, çam ve kestane gibi ağaçlardan toplanan, günümüzde önemi giderek artan bir doğal üründür.

Propolis bitkiler tarafından aktif olarak sentezlenebildiği gibi bitkilerin yara bölgelerinden salgılanan lipofilik maddeler, reçine, müsin, zamk gibi maddelerden de arılar tarafından elde edilebilmektedir. Arılar daha sonra bu materyali salgıladıkları enzimler ve tükürükleriyle zenginleştirmektedir (35).

Propolis %55 oranında resin, %10 oranında balmumu, %10 oranında eterik yağlar,% 5 oranında da polen ihtiva eder (4).

Arılar propolisi balmumuyla karıştırarak petek yapımında, kovan duvarındaki çatlakları kapatmakta, kovan girişini küçültmekte ayrıca enfeksiyonlar ve böceklerle karşı koruyucu olarak kullanılmaktadırlar (35).

Propolis yapışkan, reçineli, kendine has kokusu olan ve sarıdan koyu kahverengiye kadar değişen renge sahip bir maddedir (36).

Yapılan çalışmalarda propolisin içeriğinde 300 den fazla kimyasal bileşenin olduğu tespit edilmiştir (36). Bu bileşenler içerisinde en fazla flavonoidler olmakla birlikte, propolisaromatik asitler ve esterler, aldehitler, ketonlar, yağ asitleri ve esterleri, terpenler, polisakkaritler, hidro karbonlar, steroidler, alkoller ve birçok farklı bileşik bulunmaktadır (37).

Propolis 12 çeşit flavonoid içermektedir. Bunlar; pinosembrin, acacetin, chrysin, rutin, naringenin, catechin, galangin, luteolin, kaempferol, apigenin, myricetin ve quercetindir (4).

Yapılan birçok çalışmada propolisin antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antitümör, antioksidan, antihepatotoksik, immunostimulan ve lokal anestezik etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (4,36). Propolisin, kondrosit kültürlerinde yapılan çalışmada matriks metalloproteinazlarını inhibe ettiği ve bu sayede kırık koruyucu etkisinin olduğu ayrıca tavşanlarda yapılan çalışmalarda kırık iyileşmesi üzerinde olumlu yönde etkilerinin olduğu görülmüştür (5, 10).

3. GEREÇ VE METOD

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama merkezinde yapılmıştır. Çalışmada Sprague Dawley cinsi 20 haftalık 28 adet dişi rat kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan ratlar ortalama 275 gr (250-300) ağırlığındaydı. Ratların tümü Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilmiştir.

28 adet rat her biri tek tek olacak şekilde ayrı ayrı kafeslere yerleştirildi. Ratların yerleştirildiği kafeslerin tamamı aynı ebatlara sahipti. Oda sıcaklıkları 20-24 C, aydınlık-karanlık döngüleri 14-10 saat olacak şekilde ayarlandı. Her kafeste su ve rat yemi olacak şekilde günlük bakımları sağlandı ve takibe alındı.

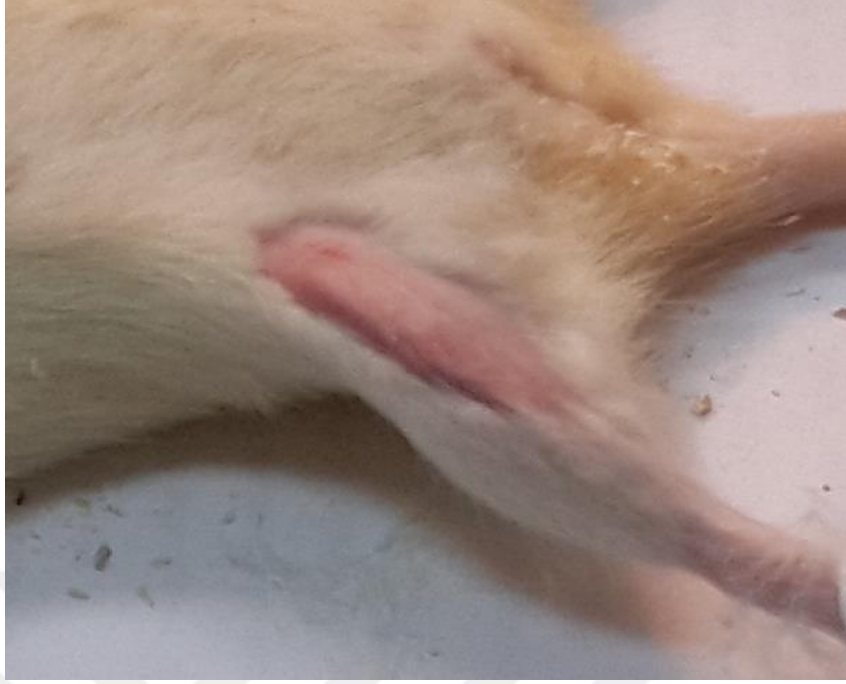
Bir haftalık takibin ardından 28 adet rat artrotomi, menisektomi, propolis 100 (P100), propolis 200 (P200) olacak şekilde rastgele 7 şerli 4 gruba ayrıldı.

3.1. Anestezi

Cerrahi uygulamadan önce ratların tümü 4 saat süreyle aç bırakıldı. Ratlara cerrahi uygulama için uygulanan kısa süreli sedasyon ve analjezi de intraperitoneal olarak 10mg/kg xylazin hidroklorür (Rompun: Bayer, Leverkusen, Almanya) ve 50mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar; Phizer, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır. Lüzum halinde anestezi süresini uzatmak amacıyla ketamin hidroklorür intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Anesteziden emin olduktan sonra cerrahi işleme geçilmiştir.

3.2. Cerrahi Uygulama

Ağrılı uyararla anestezi kontrolü yapıldıktan sonra ratlar sırt üstü yatırılarak cerrahi uygulanacak olan sağ dizleri tıraş edildi (Resim 1).



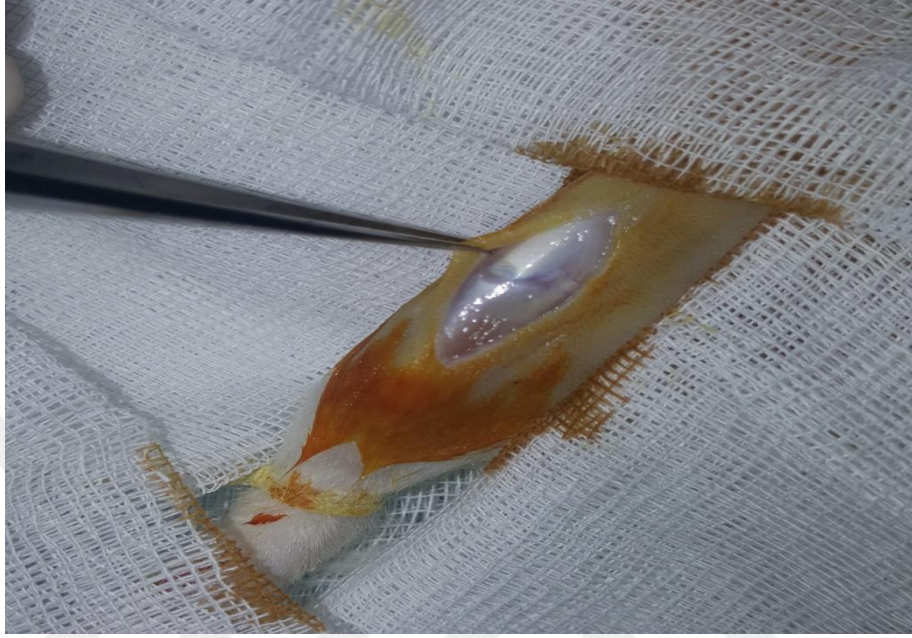
Resim 1. Sağ diz tıraş edildi

Tıraş sonrasında cerrahi yapılacak bölgeye merkezden periferine doğru olacak şekilde %10 luk povidon iyotla boyama yapıldı ve steril olarak örtme işlemi uygulandı (Resim 2).



Resim 2. Sağ diz povidon iyotla boyandı

Daha sonra medial parapatellar kesi uygulanarak cilt, cilt altı doku geçildi. Patellar tendon ve eklem kapsülüne ulaşıldı. Eklem kapsülü geçilerek ekleme ulaşıldı (Resim 3, 4).



Resim 3. Sağ dize medial parapatellar kesi uygulandı



Resim 4. Eklem kapsülü geçilerek ekleme ulaşıldı

Buraya kadar ki cerrahi işlemler bütün gruplara uygulandı. Artrotomi yani sham grubundaki ratlara bu işlemlerin ardından farklı bir işlem uygulanmadı ve önce eklem kapsülü ardından cilt- cilt altı doku 4.0 rapid vikril kullanılarak kapatıldı ve takibe alındı.

P100, P200 ve Menisektomi gruplarında ise eklem kapsülünün açılmasının ardından cerrahi işleme devam edildi.

Eklem daha iyi görülebilmesi ve cerrahinin kolaylaştırılması amacıyla patella laterale kaydırıldı. Ardından medial eklem aralığının açılması ve medial menisektominin daha rahat yapılabilmesi amacıyla medial kollateral bağ kesildi. (Resim 5) (Resim 6)



Resim 5. Patellanın laterale kaydırıldı ve MCL görüldü



Resim 6. Medial kollateral bağ kesildi

Daha sonra medial menisküse kıkırdak dokuya hasar vermeyecek şekilde tibial yapışma yerlerinden ayrılarak çıkartıldı (Resim 7, 8).



Resim 7. Medial menisküse menisektomi uygulandı



Resim 8. Menisektomi sonrası medial eklem aralığı

Patella redükte edilerek eklem kapsülü 4.0vikril kullanılarak kapatıldı. Cilt – cilt altı doku aynı şekilde 4.0 rapid vikrille dikildi. Yara yerleri % 10 luk povidon iyotla pansuman edildi ve cerrahi işlem sonlandırıldı (Resim 9, 10).



Resim 9. Eklem kapsülü kapatıldı



Resim 10. Cilt kapatıldı pansuman yapıldı

3.3. Propolis Hazırlanışı

Türkiye'nin çeşitli yörelerinden toplanan propolis örnekleri toz haline getirilip karıştırıldı. Bu propolis örneğinden 100 g tartılarak 1000 mL saf su ile çözüldü ve sürekli çalkalanarak en az 24 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda çalkalayıcı inkübatörden çıkarılan ekstrakt, süzgeç kağıdından süzüldü ve ardından 0,22µm'lik steril filtrelerden geçirilerek kullanım hazır hale getirildi. Bu şekilde hazırlanan 100 mg/mL'lik konsantrasyondaki stok propolis ekstraktından seyreltme yoluyla istenilen konsantrasyonlarda çalışma çözeltisi hazırlandı.

3.4. Cerrahi Sonrası Takip ve Tedavi

Ameliyat sonrası dönemde ratların tümü tek tek olacak şekilde ayrı ayrı aynı ebatlara sahip olan kafeslere yerleştirildi. Mevcut grupların hiçbirinde ameliyat sonrası dönemde antibiyotik tedavisi uygulanmadı. Ratların kafes içerisinde serbest

şekilde mobilizasyonuna müsaade edildi. Ratların günlük gıda ve su ihtiyacı karşılanarak 3 günde bir kafes temizliği ve tartı işlemi uygulandı.

Cerrahi girişimden 1 gün sonra P100 grubundaki ratlara 100 mg/kg gün olacak şekilde ve P200 grubundaki ratlara ise 200 mg/kg gün olacak şekilde her gün oral yoldan gavaj yardımıyla propolis verilmeye başlandı. Oral propolis tedavisi 5 hafta süreyle her gün uygulandı.

3.5. Histolojik Değerlendirme

5. hafta sonunda bütün ratlar servikal dislokasyon yoluyla öldürüldü. Ratların sağ diz eklemleri femurdan distalinden 1 cm, tibiada proksimalden 1 cm bırakılacak şekilde alındı. Kas doku ve yumuşak dokulardan ayrılarak % 10 luk formole koyuldu. % 10 luk formolde bekletilerek dokuların fiksasyonu sağlandı. Ardından % 10 luk formik asitte bekletilerek dekalsifikasyon işlemi uygulandı. Dekalsifikasyon işlemi tamamlandıktan sonra örnekler etanolle dehidrasyon ve xylolle temizlik işlemi uygulandı. Daha sonra tüm dizler sagittal planda tam ortadan kesildi. Sagittal planda kesilen örneklerin medial kısımları alındı ve dizlerin mediali üstte kalacak şekilde parafin bloklara gömüldü. Histolojik değerlendirmenin yapılması planlanan mediantibial eklem yüzüne ulaşmak amacıyla mikrotomla 5 mikrometrelik seri kesitler alındı. Tibia medial ekleminin yük taşıyan bölgesinden örnekler alındı. Daha sonra alınan kesitler Safranin O – FastGreen X100 boyasıyla boyanarak KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji bölümünde Olympus BX51 ışık mikroskopuyla Mankin sınıflamasına göre değerlendirildi. (Tablo 1)

Tablo 1. Mankin skorlama sistemi (38)

Kategori	Puan
I. Yapı	
Normal	0
Yüzey düzensizliği	1
Yüzey düzensizliği ve pannus	2
Transizyonel tabakaya uzanan yarıklar	3
Derin tabakaya uzanan yarıklar	4
Kalsifiye tabakaya uzanan yarıklar	5
Tamamen dezorganizasyon	6
II. Hücreler	
Normal	0
Yoğun hiperselülarite	1
Klonlama	2
Hiposelülarite	3
III. Safranin O ile boyanma	
Normal	0
Hafif azalma	1
Orta derecede azalma	2
İleri derecede azalma	3
Boyanma yok	4
IV. Tidemark bütünlüğü	
Sağlam	0
Damarlar tarafından geçilmiş	1
Toplam	0 – 14

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Mankin Skorlama Sistemine göre yapılan histolojik değerlendirme sonrası elde edilen sonuçlar Bonferonni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Ratlarda cerrahi sonrası 1 günlük dönemde sağ alt ekstremitelerinde topallama görüldü. Daha sonraki dönemde bu topallama hareketi görülmeydi. Ratlar sağ alt ekstremitelerini normal bir şekilde kullanmaya devam ettiler. Ratlarda, kullanılan anesteziye bağlı komplikasyon görülmeydi, hiçbir rat ölmeydi. Cerrahi sonrası, ratlarda operasyon bölgesinde enfeksiyon belirtisi görülmeydi.

Ratların daha sonra sağ diz eklemleri alındığında hiçbir diz ekleminde kontraktür ve patella dislokasyonu gözlemlenmeydi.

4.2. Histolojik Bulgular

Ratların sağ dizlerinin tibial eklem yüzleri; hasarın kırık tabakasını etkileme derecesi, kondrositlerin durumu, matriksin Safranin-O ile boyanma miktarı ve tidemarkın yapısı göz önüne alınarak mikroskopik olarak incelendi.

Kontrol grubu incelendiğinde; kırık yapısının genel olarak düzgün olduğu görüldü. Kırık içindeki farklı tabakalardaki hücreler incelendiğinde şekilleri sayıları ve morfolojileri açısından normal olduğu gözlemlendi. Safranin O ile boyanmanın normal olduğu gözlemlendi. Ayrıca bütün eklemlerde herhangi bir doku kaybı yoktu.

Menisektomili grupta; kırık yapısı incelendiğinde 5 ratta orta tabakaya doğru yarıklar oluştuğu gözlemlendi. 2 ratta ise kalsifiye tabakaya doğru yarıklar izlendi. Hücrelerin yapılarına bakıldığında ise 5 ratta hiposelülerite, 2 ratta hücrelerde klonlanma gözlemlendi. Kırık doku matriksinde 6 eklemden orta derecede düşük olarak Safranin O ile boyandığı görüldü. Yapısal olarak 3 eklemden tidemarkın geçilmediği, 4 eklemden ise tidemarkın geçildiği görüldü.

Tablo 2. Grupların mankin skorları

Grup – Rat	Yapı	Hücreler	Safranin O ile Boyanma	Tidemark Bütünlüğü
Art 1	0	0	1	0
Art 2	0	0	0	0
Art 3	0	0	1	0
Art 4	0	0	0	0
Art 5	0	0	1	0
Art 6	0	0	0	0
Art 7	0	0	0	0
Men 1	3	3	2	0
Men 2	3	2	2	1
Men 3	5	2	2	1
Men 4	3	3	2	1
Men 5	3	3	2	0
Men 6	5	3	3	1
Men 7	3	3	2	0
P100 1	1	2	2	0
P100 2	1	2	1	0
P100 3	1	1	1	1
P100 4	1	2	2	1
P100 5	1	1	2	0
P100 6	2	1	2	0
P100 7	1	2	2	1
P200 1	3	1	1	1
P200 2	1	0	2	1
P200 3	2	2	2	1
P200 4	2	2	2	1
P200 5	1	3	1	0
P200 6	2	2	1	0
P200 7	1	2	2	0

Tablo 3. Grupların toplam Mankin skorları

Ratlar	Kontrol (art)	Menisektomi	P100	P200
1	1	8	5	6
2	0	8	4	4
3	1	10	4	7
4	0	9	6	7
5	1	8	4	4
6	0	12	5	5
7	0	8	6	5
Toplam	3	63	34	38
Ortalama	0,42	9	4,85	5,42

Propolis 100 grubu incelendiğinde; yapı olarak 6 eklemde yüzeysel düzensizlikler olduğu 1 eklemde ise normal olduğu görüldü. Hücre yapısı incelendiğinde, 4 eklemde klonlanma, 3 eklemde ise hiperselülarite olduğu görüldü. Kıkırdak doku matriksinde ise 4 eklemde orta derecede düşük olarak Safranin O ile boyandığı görüldü 3 eklemde ise hafif derecede düşük olarak Safranin O ile boyandığı görüldü. 3 eklemde tidemark bütünlüğünün sağlam olduğu 4 eklemde damarlanmanın tidemarkı geçtiği görüldü.

Propolis 200 grubunda ise yapı olarak 3 eklemde yüzeysel düzensizlikler olduğu 3 eklemde ise normal olduğu, 1 eklemde orta tabakaya doğru yarıklanmalar olduğu görüldü. Hücre yapısı incelendiğinde 1 eklem yüzünün normal olduğu, 4 eklemde klonlanma, 1 eklemde ise hiperselülarite olduğu, 1 eklemde ise hiposelüler olduğu görüldü. Kıkırdak doku matriksinde ise 4 eklemde orta derecede düşük olarak Safranin O ile boyandığı görüldü 3 eklemde ise hafif derecede düşük olarak Safranin O ile boyandığı görüldü. 3 eklemde tidemark bütünlüğünün sağlam olduğu 4 eklemde damarlanmanın tidemarkı geçtiği görüldü.

Tablo 4. Grupların Mankin skorlarına göre minimum ve maksimum değerleri

	Yapı			Hücreler			Safranin O			Tidemark			Toplam Puan		
	N	Min	Max	N	Min	Max	N	Min	Max	N	Min	Max	N	Min	Max
Kontrol	7	--	--	7	--	--	7	0	1	7	--	--	7	0	1
Menisektomi	7	3	5	7	2	3	7	2	3	7	0	1	7	8	12
Propolis 100	7	1	3	7	1	2	7	1	2	7	0	1	7	4	6
Propolis 200	7	1	3	7	0	3	7	1	2	7	0	1	7	4	7

Tablo 5: Grupların Mankin skorlarına göre P değerleri

		Kontrol	Menisektomi	Propolis 100	Propolis 200
Yapı	Kontrol	---	0,001	0,001	0,001
	Menisektomi	0,001	---	0,003	0,003
	Propolis 100	0,001	0,003	---	0,389
	Propolis 200	0,001	0,003	0,389	---
Hücreler	Kontrol	---	0,001	0,001	0,003
	Menisektomi	0,001	---	0,006	0,026
	Propolis 100	0,006	0,006	---	0,822
	Propolis 200	0,026	0,026	0,822	---
Safranin O	Kontrol	---	0,001	0,004	0,006
	Menisektomi	0,001	---	0,091	0,044
	Propolis 100	0,091	0,091	---	0,591
	Propolis 200	0,044	0,044	0,591	---
Tidemark	Kontrol	---	0,023	0,141	0,23
	Menisektomi	0,001	---	0,298	1
	Propolis 100	0,141	0,298	---	0,298
	Propolis 200	0,23	1	0,298	---
Toplam Puan	Kontrol	---	0,001	0,001	0,001
	Menisektomi	0,001	---	0,001	0,001
	Propolis 100	0,001	0,001	---	0,506
	Propolis 200	0,001	0,001	0,506	---

Kontrol grubunun menisektomi grubuyla yapılan istatistiki karşılaştırmasında; yapı ($p<0,001$), hücreler ($p<0,001$), safranin O ile boyanma ($p<0,001$), Tidemark bütünlüğü ($p=0,023$) ve toplam puan ($p<0,001$) parametreleri incelendiğinde hepsinde anlamlı sonuç bulunmuştur.

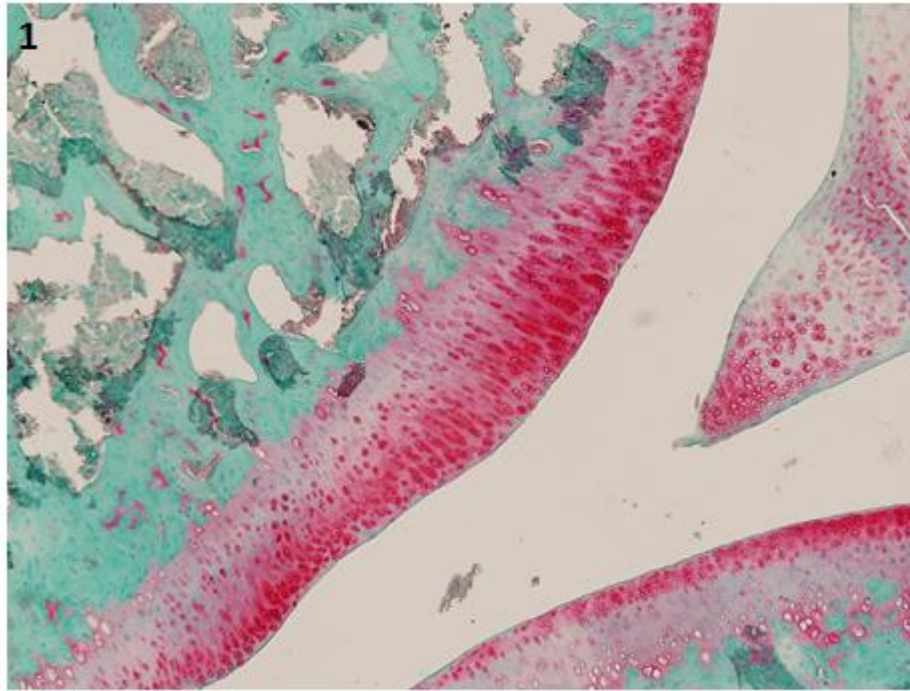
Kontrol grubunun propolis 100 grubuyla yapılan istatistikî karşılaştırmasında; yapı ($p<0,001$), hücreler ($p<0,001$), safranin O ile boyanma ($p=0,004$), Tidemark bütünlüğü ($p=0,141$) ve toplam puan ($p<0,001$) parametreleri incelendiğinde tidemark bütünlüğü hariç hepsinde anlamlı sonuç bulunmuştur.

Kontrol grubunun propolis 200 grubuyla yapılan istatistikî karşılaştırmasında; yapı ($p<0,001$), hücreler ($p=0,003$), safranin O ile boyanma ($p=0,006$), Tidemark bütünlüğü ($p=0,23$) ve toplam puan ($p<0,001$) parametreleri incelendiğinde hepsinde anlamlı sonuç bulunmuştur.

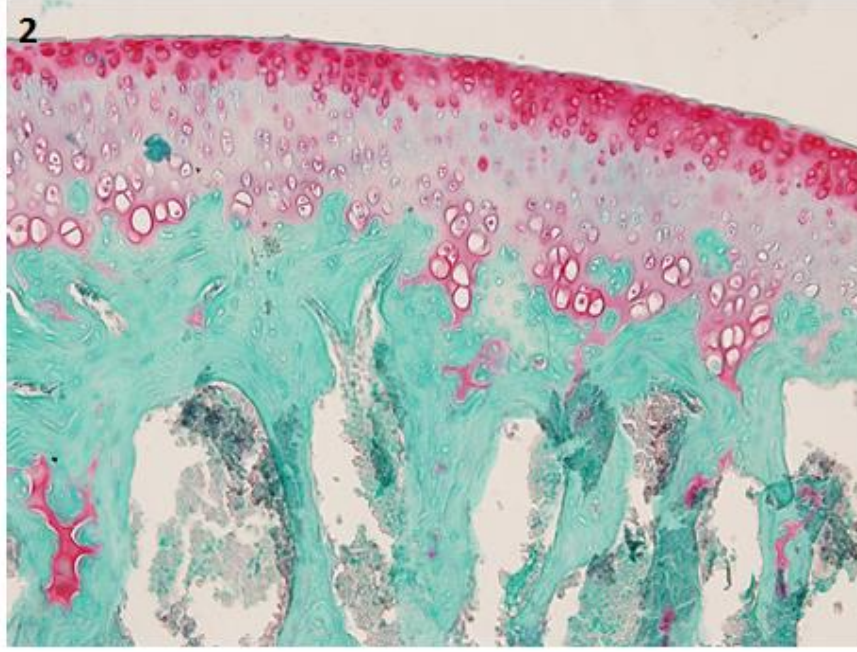
Menisektomi grubunun propolis 100 grubuyla yapılan istatistiki karşılaştırmasında; yapı ($p=0,003$), hücreler ($p=0,006$), safranin O ile boyanma ($p=0,091$), Tidemark bütünlüğü ($p=0,298$) ve toplam puan ($p<0,001$) parametreleri incelendiğinde, safranin O ile boyanma ve tidemark bütünlüğü açısından anlamsız sonuç bulunmuştur. Diğer parametreler anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

Menisektomi grubunun propolis 200 grubuyla yapılan istatistiki karşılaştırmasında; yapı ($p=0,003$), hücreler ($p=0,026$), safranin O ile boyanma ($p=0,044$), Tidemark bütünlüğü ($p=1$) ve toplam puan ($p<0,001$) parametreleri incelendiğinde, tidemark bütünlüğü açısından anlamsız sonuç bulunmuştur. Diğer parametreler anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

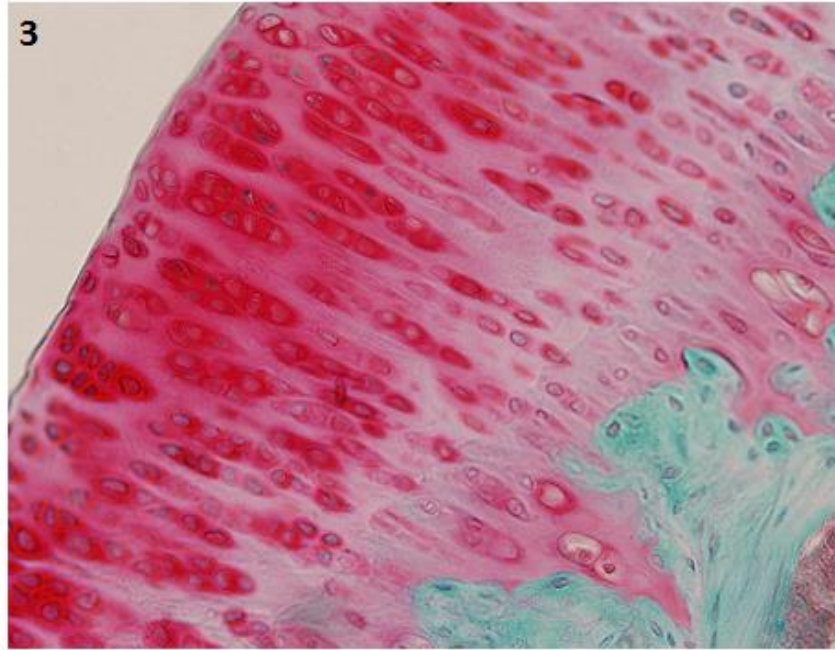
P100 grubunun, P200 grubuyla yapılan istatistiki karşılaştırmasında; yapı ($p=0,389$), hücreler ($p=0,822$), safranin O ile boyanma ($p=0,591$), Tidemark bütünlüğü ($p=0,298$) ve toplam puan ($p=0,506$) parametreleri incelendiğinde, bütün gruplarda anlamlı sonuç elde edilememiştir.



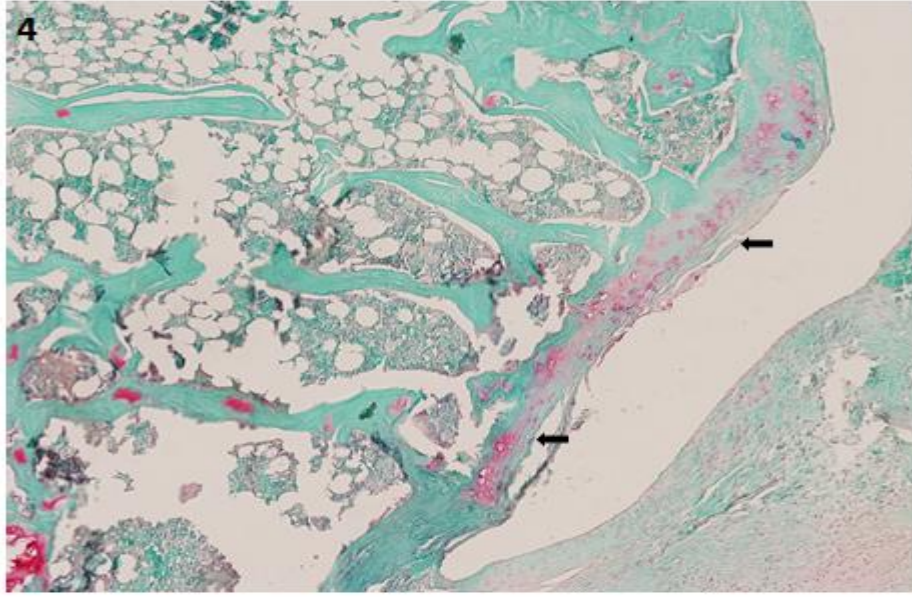
Resim 11. Artrotomi grubu. Tidemarkın korunduğu, yapının normal olduğu görülmekte (Safranin O -FastGreen X100)



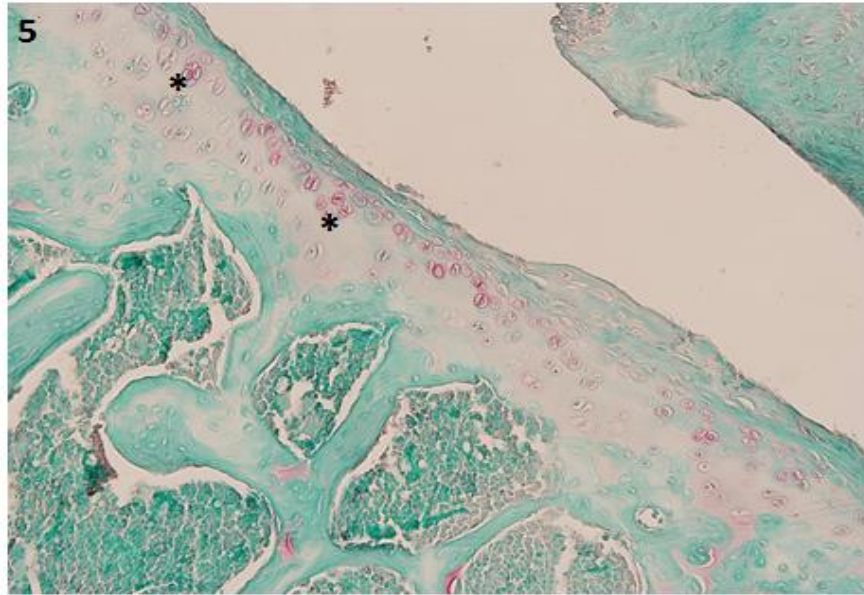
Resim 12. Artrotomi grubu. Hücrelerin ve boyanmanın normal yapıda olduğu görülmekte (Safranin O -FastGreen X200).



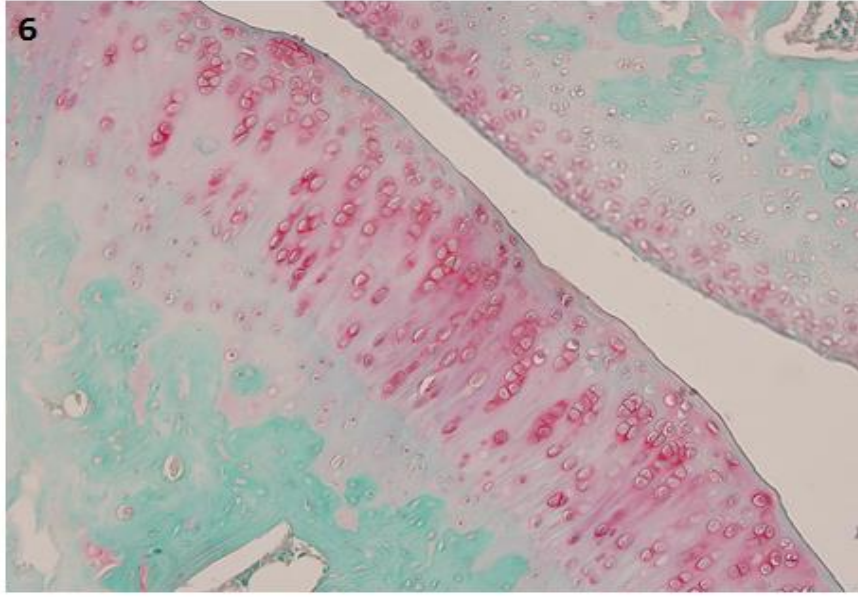
Resim 13. Artrotomi grubu. Eklem yüzeyinin düzgün görünümde olduğu, hücrelerin normal yapıda oldukları görülmekte (Safranin O - FastGreen X400)



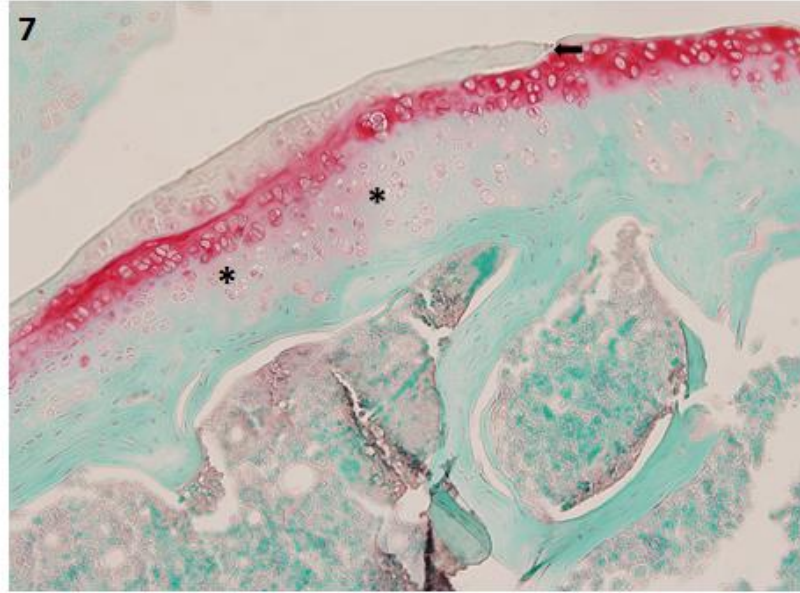
Resim 14. Menisektomi grubu.Orta tabakaya kadar uzanan yarıklar ve yüzeyel düzensizlikler (→) ve orta derecede azalmış boyanma görülmekte(Safranin O-FastGreen X40)



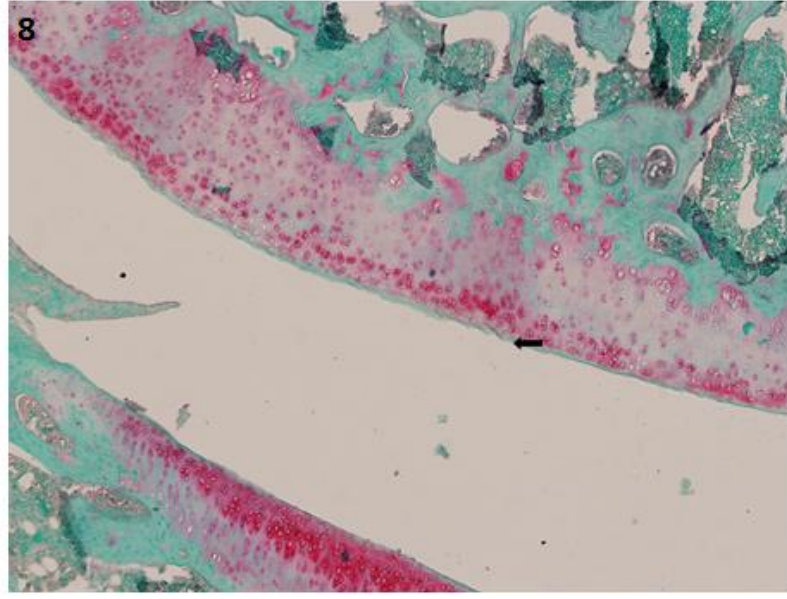
Resim 15. Menisektomi grubu. Hasarlı bölgede boyanmada ileri derecede azalma olduğu, yüzeyel tabakada hücre kaybı ve bazı bölgelerde hücrelerde gruplaşmalar(*) olduğu görülmekte (Safranin O - FastGreen X200).



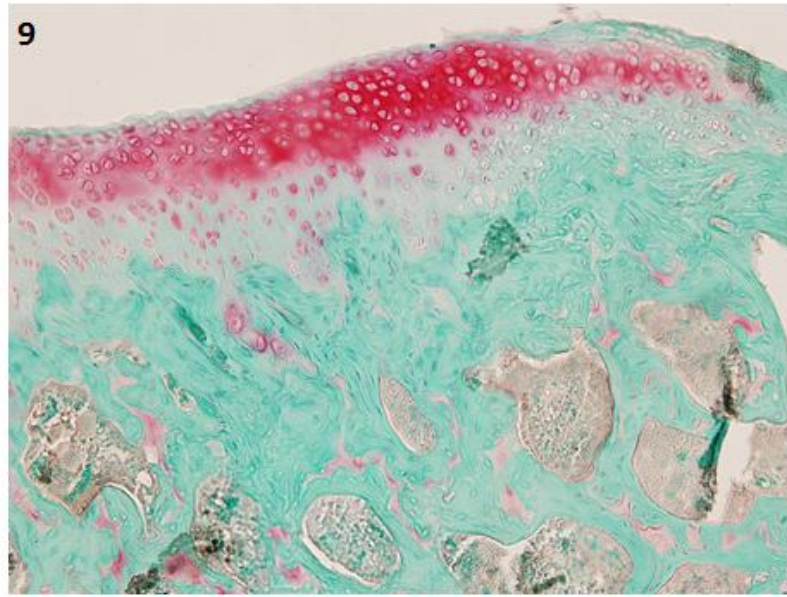
Resim 16. Propolis 100 grubu. Yüzeysel tabakada hücre kaybı ve safranin O ile boyanmada orta derecede azalma görülmekte (Safranin O - FastGreen X200).



Resim 17. Propolis 100 grubu. Orta tabakaya uzanan yarık (→) hücrelerde kümelenmeler (*) görülmekte (Safranin O - FastGreen X100)



Resim 18. Propolis200 grubu. Yüzeyde hafif düzensizlikler (→) ve yaygın hipersellülarite görülmekte (Safranin O -FastGreen X100).



Resim 19. Propolis 200 grubu. Yüzeyde hafif düzensizlikler ve safranin O boyanmada hafif azalma görülmekte (Safranin O - FastGreen X200).

5. TARTIŞMA

Dejeneratif eklem hastalığı olarak bilinen osteoartrit, 25 yaş üstü insanların % 15'ini 65 yaş üstü insanların %50 sini etkileyen ciddi bir medikal problemdir (39). Yaşlanma, mekanik etkenler, genetik ve obezitenin rol aldığı karmaşık multifaktöriyel bir hastalıktır. Sinovyal membran aktivasyonu ve kalınlaşması, osteofit oluşumu ve eklem kıkırdağında ilerleyici hasar oluşumu osteoartritin bulgularını oluşturmaktadır (40, 41, 42).

Histopatolojik olarak kondrosit sayısında azalma, ekstraselüler matrikste proteoglikan yapısında bozulma, kollajenin ağ yapısında bozulma sonrası eklem yüzeyinde fibrilasyonlar, fissürler, ülserasyonlarla ve tidemarkta damarlanma artışıyla karakterize anabolik ve katabolik dengenin katabolik yönde bozulduğu bir eklem hastalığıdır (13, 43).

Günümüzde osteoartrit için birçok konservatif ve cerrahi tedavi metotları uygulanmaktadır. Yaşam tarzının düzenlenmesi, fizik tedavi, büyük kısmını NSAİ ilaçların oluşturduğu ilaç tedavisi ve eklem içi enjeksiyonlar konservatif tedaviyi oluşturmaktadır. Erken evre osteoartrit tedavisi genellikle semptomları hafifletmeye yöneliktir fakat ileri evre eklem hasarı olduğu zaman ağrıyı azaltmak ve fonksiyonu artırmak için cerrahiye başvurulmaktadır (44).

İlerleyici kıkırdak hasarını azaltmak için bugüne kadar birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmaların çoğunda cerrahi yöntemlerle veya doğal yollarla osteoartrit oluşturulan deney hayvanları kullanılmıştır (2).

Çalışmamızda ratların tercih edilmesinin nedeni, ratlarda da insandaki gibi tibial eklem yüzünün medial kısmının daha fazla yüke maruz kalması ve medial eklem yüzünde daha fazla dejenerasyon görülmesidir. Aynı zamanda medial menisektomi ve medial kollateral bağın kesilmesi sonrasında yapısal olarak insandakine benzer bir dejenerasyonun görülmesidir (2, 40).

Ratlarda oluşan bu dejenerasyon insanda oluşan dejenerasyona oranla çok daha hızlı oluşmaktadır. Bunun temel nedeni de ratların insanlar ve diğer hayvanlar gibi olmayıp cerrahi sonrası hemen eklemlerini kullanıp yük vermeye başlamasıdır (2, 40).

Yaptığımız deneysel çalışmada medial kollateral bağ kesilmesi ve menisektomi sonrasında ratların hareket etmelerine izin verilmiş ve 3. gün oral yoldan tedaviye başlanmıştır. Çünkü Janusz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada menisektomi ve medial kollateral bağ kesilmesi sonrası ratlarda 1. haftadan itibaren eklem yüzeyinde düzensizliklerin başladığı, 2. ve 3. hafta osteofit formasyonlarının ve erken evre osteoartrit bulgularının geliştiği, 3 – 6. hafta aralığında ise hasarın ciddi anlamda ilerlediği ve ileri evre osteoartrit bulgularının olduğu görülmüştür (2, 40).

Rat dizlerinde medial menisektomiyle osteoartrit oluşturulan bir çalışmada 3. haftada matriks ve kondrosit sayısında azalma, kıkırdağın orta ve derin tabakasına kadar hasar görülmüş ve orta düzeyde dejenerasyon olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada 6. haftada matriks ve kondrosit kaybının tidemarka kadar uzandığı görülmüştür (45). Wancket ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada medial menisektomi yapılan ratlar birer hafta arayla histolojik olarak değerlendirilmiş ve 3. haftadan itibaren tüm gruplarda matriks ve hücre sayısında ciddi oranda azalma ve kıkırdak dokunun derin kalsifiye dokuya kadar etkilenmiş olduğu belirtilmektedir (46).

Çalışmamızda medial menisektomi ve medial kollateral bağı kesilip deney sonuna kadar tedavi vermediğimiz grupta 5. haftanın sonunda yapılan histolojik değerlendirmede eklem kıkırdağının yapısında fibrilasyonların ve yarıkların olduğu bazı bölgelerde yarıkların derin ve kalsifiye tabakaya kadar uzandığı, hücrelere bakıldığında daha çok hiposelülaritenin hakim olduğu ve safranin O ile boyanmada azalma olduğu görülmüştür.

Elde ettiğimiz histolojik bulgular literatürde medial menisektomi yoluyla oluşturulan osteoartrit modelleri ile hasar miktarı yönünden uyumluluk göstermiştir (45, 46).

Osteoartritin patofizyolojisine bakıldığında patogenezde IL 1, 6, 8, 17, 18 ve TNF alfa gibi birçok proinflamatuvar sitokin etkilidir. Bu sitokinlerin katabolik etkileri mevcut olup osteoartrit oluşumuna neden olan biyokimyasal süreci başlatmaktadırlar (32).

Literatüre bakıldığında propolisle ilgili birçok çalışma yapılmış ve propolisin içerisinde 300 den fazla kimyasal bileşenin olduğu, propolisin antimikrobiyal,

antiinflamatuvar, antitumor, antioksidan, antihepatotoksik, immunostimulan ve lokalanestezik etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (4,36).

Michalvart ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada propolisin içerdđi kafeik asit fenetil ester (CAPE) adlı kimyasal bileşđin hücre membranından arasıdonik asit serbestleşmesini azalttığı, COX-1 ve COX 2 enzim aktivitelerini baskıladığı ve COX 2 gen ekspresyonunun aktivasyonunu inhibe ederek antiinflamatuvar etki gösterdđi belirtilmektedir (47).

Borrelli ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ratlar üzerinde CAPE içeren ve içermeyen propolis verilen iki grup karşılaştırılmış ve inflamatuvar etki değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda CAPE ihtiva eden propolis grubunda antiinflamatuvar etki görülmüş diğer grupta ise kontrol grubuyla aynı değerlerde sonuçlar elde edilmiş. Bu çalışmaya göre propolisin antiinflamatuvar etkisini CAPE bileşđi üzerinden gösterdđi kanatine varılmıştır. Çalışmada biyokimyasal ölçüm yapılmamış fakat propolisin antiinflamatuvar etkinliğinin IL-1, IFN gama, TNF alfa ve NO düzeylerini etkilemesine bağlı olduğu düşünölmüştür (7).

Park ve arkadaşları ratların ayaklarında adjuvan ilaçla oluşturdıkları inflamatuvar reaksiyona propolisin etkisini araştırmış ve 4 haftalık dönemde çap ölçümüyle takip edilmiş ve Artritik İndeksleri belirlenmiş. Oral yolla propolis verilen grupta akut ve kronik dönemde antiinflamatuvar etki görölmüştür. Propolisin adjuvan artritte oluşan olumlu etkisinin antiinflamatuvar ve immunsupresif etkilerine bağlı olduğu ve inflamasyon üzerindeki inhibitör etkinin prostoglandin sentezini inhibe etmesine bağlı olduğu düşünölmüştür (48).

Bir diğer çalışmada yine adjuvan ilaçla oluşturuilan artrit sonrasında oral yoldan ratlara propolis verilmiş ve antiinflamatuvar etki görölmüş. Ratlarda inflamasyonda etkili olan PGE 2, nitrik oksit ve IL-6 düzeylerinin azaldığı gözlemlenmiştir (37).

Literatürde osteoartrit oluşumuyla ilgili çalışmalar incelendiğinde Buckwalter ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kıkırdak dokuda mekanik ve kimyasal değişiklikler bağlı olarak kondrositlerden nitrik oksit salınımı arttığı ve artan nitrik oksitin IL-1 üretimini artırdığı görölmüştür (31). Ma ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada IL-1 ve TNF alfa osteoartrit patogenezini en çok etkileyen iki sitokin olduğu belirtilmektedir (34). Bu iki sitokin hem kendilerinin hem de diğer

inflamasyona neden olan sitokinlerin sentez ve salınımını artırmakta ve kıkırdak hasarına neden olmaktadır (31,34).

İnflamatuar sitokinlerin kıkırdak harabiyeti üzerinde etkileriyle ilgili yapılan bir çalışmada strese bağlı olarak kondrositlerin aktivasyonu sonucu inflamasyona neden olan genlerin aktive olduğu, nitrik oksit sentaz 2, siklooksijenaz 2, katabolik enzimler olan matriks metalloproteinaz 1, 3, 13 ün arttığı belirtilmiştir (49).

Çalışmamızda histolojik değerlendirme sonrası propolis 100 ve propolis 200 gruplarının Mankin kıkırdak skorları menisektomi grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Literatür ışığında kıkırdak doku üzerinde oluşan bu olumlu etkinin propolisin içerdiği bileşiklerin kıkırdak dokunun inflamasyonunda ve patogenezinde temel rol oynayan IL 1, TNF alfa, Nitrik oksit ve prostoglandinler üzerindeki inhibitör etkisinin rol aldığı düşünülmektedir. Bu sitokinlerin ve inflamatuar bileşiklerin düzeylerindeki azalmaya bağlı olarak kıkırdak doku harabiyetinin azaldığı düşünülmektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda matriks metalloproteinazlarının matriks yıkımında ve dejenerasyon gelişiminde çok önemli rol üstlendikleri ortaya çıkmıştır. TNF alfanın, IL 1, IL 6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin MMP ların ekspersyonunu arttırdığı belirtilmektedir (50,51).

Ma ve arkadaşlarının rat dizlerinde deneysel osteoartrit oluşturarak yaptıkları bir çalışmada TNF alfa blokörü adalimumabın kıkırdak dokuda MMP-13 ün ekspresyonunu azaltarak matriks yıkımını azalttığı ve kondroprotektif etkisinin olduğunu belirtmişler (34). Ratlarda menisektomi yaparak oluşturulan deneysel osteoartrit modelinde ratlara oral yoldan uygulanan MMP inhibitörlerinin kıkırdak hasarını ve osteofit formasyonunu azalttığı belirtilmiştir (40).

Zhang ve arkadaşlarının kalça protezi uygulanan hastaların femur başlarından aldıkları örneklerden kondrosit izole ederek oluşturdukları hücre kültüründe yaptıkları çalışmada propolisin içerdiği pinocembrin adlı flavonoidin MMP-1, MMP-3 ve MMP-13 ün ekspresyonunu azalttığı görülmüştür. Bu etkiyi de TNF alfayı bloke ederek MMP ların aktivasyonuna neden olan ve MMP ların transkripsiyonel faktörü nükleer faktör k beta ya etki ederek gösterdiğini belirtmişlerdir (10).

Çalışmamızda MMP ve TNF alfa düzeyleri bakılamamış fakat oral yoldan verilen propolisin kıkırdak doku üzerindeki koruyucu etkisi histoljik olarak

değerlendirilmiş ve propolis verilen gruplarda propolisin dejenerasyon gelişimini anlamlı ölçüde azalttığı görülmüştür. Bahsettiğimiz literatür çalışmalarına bağlı olarak propolisin matriksin yıkımında başlıca etkisi olan matriks metalloproteinazlarının kondrositlerde sentezini azaltarak kıkırdak koruyucu etki gösterdiği kanatine varılmıştır.

Propolisin içerdiği CAPE (kafeik asit fenil ester) bileşiğinin ksantin oksidazı ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek serbest osijen radikalleri oluşumunu engellediği ve bu sayede antioksidan aktivite gösterdiği ortaya konmuştur (52). Kolankaya ve arkadaşlarının ratlarda alkolle oluşturdukları karaciğer hasarında propolisin içerdiği flavonoidlerin serbest radikalleri temizleyerek antioksidan etki gösterdiğini belirtmişlerdir (53). Yapılan birçok çalışmada propolisin NADPH oksidaz, hidrojen peroksit ve Glutasyon üzerinden serbest radikal oluşumunu engelleyerek antioksidan etki gösterdiği kanıtlanmıştır (54, 55, 56, 57).

Takada ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Hem Oksijenaz I in transkripsiyonunun baskılanması sağlanmış ve bunun cerrahi olarak oluşturulan osteoartrit üzerine etkisi değerlendirilmiş. HO I in baskılandığı grupta ağır osteoartrit oluşumu görülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda oksidatif stresin artması sonucu kıkırdak dokuda hasar geliştiği görülmüş. HO I in oluşturduğu antioksidan etki sonucu matriksi yıkan enzimlerin etkisinin azaltıldığı ve kıkırdak koruyucu etkinin olduğu görülmüştür (58).

Karaman ve arkadaşlarının yaptığı bir başaka çalışmada hyaluronik asitin antioksidan özelliğinin osteoartrit üzerine olan etkisi değerlendirilmiş. Çalışma sonucunda HA tedavisinin lipid peroksidasyonunu azalttığı, antioksidan etki gösterdiği infalamasyonu azaltarak osteoartrit üzerinde etkili olduğu görülmüştür (59).

Çalışmamızın sonucunda gördüğümüz propolisin kıkırdak koruyucu yöndeki etkinliğinin bir diğer nedeninin de lipit peroksidasyonu inhibisyonu, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, hidrojen peroksit ve Glutasyon üzerinden serbest radikal oluşumunu engellemesi ve buna bağlı olarak propolisin hücre ve matriks harabiyetini azaltıcı etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Literatürde propolisle ilgili yapılan diğer çalışmalara bakıldığında Bereket ve arkadaşları tavşan mandibulasında propolisin distraksiyon osteogenezine etkisini

araştırmış ve pozitif etkilerinin olduğu görülmüştür yine aynı çalışmada tavşanlara farklı dozlarda propolis verilmiş ve 200 mg/kg dozunda propolis verilen grupta 100 mg/kg propolis verilen gruba göre istatistiksel olarak distraksiyon osteogenezinde pozitif yönde anlamlı derecede etki olduğu görülmüştür(5).Çalışmamızda farklı dozlarda propolis uygulanan P100 ve P200 grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında Mankin skoru olarak rakamsal düzeyde farklılık olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olamadığı görüldü. Buna bağlı olarak 100mg/kg/gün ve 200 mg/kg/gün olarak uygulanan propolisin kıkırdak üzerindeki etkisinin değişmediği görülmüştür.

Uçan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada propolisin kırık iyileşmesi üzerine etkisi değerlendirilmiş ve propolis içeriği olan CAPE nin kırık iyileşmesi üzerine faydalı etkilerinin olduğu görülmüştür (60).

Ratlarda septik artrit oluşturarak yapılan bir deneysel çalışmada propolisin özellikle gram pozitif bakteriler üzerinde antibakteriyel etkisinin olduğu görülmüştür (61).

Yüce ve arkadaşlarının rat siyatik sinirlerinde crush yaralanma oluşturarak yaptıkları çalışmada propolisinin sinir iyileşmesi üzerine pozitif yönde etkisinin olduğu görülmüştür (62).

Çalışmamızda gruplar 5 haftalık takip sonucunda Mankin skora sistemine göre histolojik olarak değerlendirildi. Mankin skorlarına göre oral propolis verilen her iki grubun skorları menisektomi grubunun skorlarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkmıştır.

P100 ve P200 gruplarının karşılaştırmasında ise skorlar rakamsal olarak farklı olmasına rağmen istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir.

Yukarıda bahsettiğimiz literatürdeki çalışmalar ışığında inflamasyon, oksidatif stress ve matris metalloproteinazlarının etkisi gibi etkenlere bağlı olarak kıkırdak doku harabiyeti sonucu dejeneratif osteoartrit oluştuğu kabul edilmektedir.

Çalışmamızda da elde ettiğimiz, propolisin kıkırdak dokusu üzerindeki olumlu etkisinin MMP inhibisyonu, antiinflamatuvar etkisi ve antioksidan etkisine bağlı olduğu düşünülmüştür. Yaptığımız deneysel çalışma sonucuna göre propolisin osteoartrit oluşumunu üzerinde yavaşlatıcı etkisi olduğu kanaatine varılmıştır. İleriki dönemlerde yapılacak olan çalışmaların propolisin bu olumlu etkilerin

mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması yönünde planlanmasının uygun olacağı ve propolisin kondroprotektif ajanlara alternatif bir tedavi metodu olabileceği düşünülmüştür.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, propolisin ratlarda oluşturulan deneysel osteoartrit gelişimi üzerine olan etkisinin sonuçlarının ortaya konması amaçlanmıştır.

Sonuç olarak;

1. Medial menisektomi ve medial kollateral bağ kesilmesi sonucu ratlarda ilerleyici kıkırdak hasarı olduğu histolojik olarak görülmüştür.

2. Oral propolis uygulanan P100 ve P200 gruplarının Mankin skorları menisektomi grubunun skorlarına göre hem rakamsal olarak düşük olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre propolisin kıkırdak hasarının gelişimini azalttığı ve kondroprotektif etkisi olduğu düşünülmüştür.

3. Farklı dozlarda propolis uygulanan P100 ve P200 grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında Mankin skoru olarak rakamsal düzeyde farklılık olduğu fakat istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. Buna bağlı olarak oral propolisin 100 mg/kg/gün ve 200 mg/kg/gün dozlarında kıkırdak doku üzerinde ki etkisinde fark olmadığı kanatine varılmıştır.

4. Propolisin antiinflamatuvar, antioksidan, metalloproteinaz inhibisyonu gibi birçok olumlu etkisinin kıkırdak doku için koruyucu özellik oluşturduğu düşünülmektedir. İleriki dönemlerde yapılacak olan çalışmaların bu etkilerin mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması yönünde planlanmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

5. Propolisin insan kıkırdak dokusu üzerindeki etkinliğinin araştırılması yönünde klinik çalışmaların planlanmasının uygun olacağı düşünülmüştür.

7. KAYNAKLAR

1. Teeple E, DJ Gregory, AE Khaled, CF Braden. Animal models of osteoarthritis: challenges of model selection and analysis. *The AAPS Journal*. 2013; 15(2):438-46.
2. Bendele AM. Animal models of osteoarthritis. *J Musculoskel Neuron Interact*. 2001; 1 (4): 363-76.
3. Bove SE, Laemont KD, Brooker M, Osborn MN, Sanchez BM, Guzman RE, Hook KE, Juneau PL, Connor JR, Kilgore KS. Surgically induced osteoarthritis in the rat results in the development of both osteoarthritis-like joint pain and secondary hyperalgesia. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2006; 14: 1041-48.
4. Lotfy M. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac J Cancer*. 2006; 7: 22-31
5. Bereket C, Özcan F, Şener İ, Tek M, Altunkaynak BZ, Semirgin SU, Şenel E, Özdemir M. Propolis accelerates the consolidation phase in distraction osteogenesis, *J Craniofac Surg*. 2014; 25: 1912-16
6. Park YK, Fukuda I, Ashida H, Nishiumi S, Guzman JP, Sato HH, Pastore GM. Suppression of dioxin mediated aryl hydrocarbon receptor transformation by ethanolic extract of propolis. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2004; 68(4): 935-38
7. Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, Ialenti A. Phytochemical compounds involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*. 2002; 73: 53-63
8. Miquel MG, Nunes S, Dandlen SA, Cavako AM, Antunes MD. Phenols, Flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extract of propolis (*Apis Mellifera L*) from Algarve. South Portugal. *Food Science and Technology*. 2014; 34(1): 16-23
9. Sawicka D, Car H, Borawska MH, Niklinski J. Anticancer activity of propolis. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 2012; 50(1): 25-37
10. Zhang D, Huang B, Xiong C, Zhou Y. Pinocembrin inhibits matrix metalloproteinase expression in chondrocytes. *IUBMB life*. 2015; 67: 36-41
11. Sophia Fox AJ, Bedi A, Rodeo SA. The basic science of articular cartilage: structure, composition, and function. *Sports Health*. 2009; 1(6): 461-68
12. Setton La, Eliot DM, Mow VC. Altered mechanics of cartilage with osteoarthritis: human osteoarthritis and an experimental model of joint degeneration. *Osteoarthritis Cartilage*. 1999; 7: 2-14

13. Buckwalter JA, Mankin HJ, Grodzinsky AJ. Articular cartilage and osteoarthritis. Instr. Course Lect. 2005; 54: 465-80
14. Mankin HJ, Mow VC, Buckwalter JA, Iannotti JP, Ratcliffe A. Articular cartilage structure, composition and function. Orthopedic basic science: biology and biomechanics of the musculoskeletal system. 2nd ed. American Academy of Orthopedic Surgeons. 2000; 443-70
15. Williams III RJ. Cartilage Repair Strategies. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey. 2007: 1-12
16. Bhosale AM, Richardson JB. Articular cartilage: structure, injuries and review of management. British Medical Bulletin. 2008; 1: 1-19
17. Demirdöğen B. Kıkırdak doku onarımı için hiyalüronik asit temelli yapı iskelelerinin geliştirilmesi ve hücre kültürlerinde kullanımı (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi; 2012.
18. Gartner LP. BRS Cell Biology and Histology. Lipincott Williams and Wilkens 2011: 92-109
19. Hall BK, Miyake T. All for one and done for all: condensations and the initiation of skeletal development. Bioessay. 2000; 22: 138-47
20. http://cnx.org/resources/15ceed3a8ec6619905f488499f8b52ad0924def6/412_Types_of_Cartilages-new.jpg
21. Tyyni A, Karlsson J. Biological treatment of joint cartilage damage. Scand J Med Sci Sports. 2000; 10: 249-65
22. Miller MD. Review of Orthopaedics. 6. Baskı. 2014: 39-48
23. Tatari H. Eklem kıkırdağının yapısı, fizyolojisi ve biyomekaniği: Yaralanma ve onarım. Acta Orthop Traumatol Turc. 2007; 41; 1-5
24. Doral MN, Dönmez G, Atay AÖ, Bozkurt M, Leblebicioğlu G, Üzümcügil A, Aydoğ T. Dejeneratif eklem hastalıkları. TOTBİD Dergisi. 2007; 6(1-2): 56-65
25. <http://ajs.sagepub.com/content/26/2/309/F2.large.jpg>
26. <http://www.intechopen.com/source/html/44614/media/image12.jpeg>
27. Alford WJ, Cole BJ. Basic Science, Historical perspective, Patient Evolution and Treatment Options. Cartilage restoration Part I. The American Journal of Sport Medicine. 2005; 33(2); 295-306
28. Mollenhauer JA. Perspectives on articular cartilage biology and osteoarthritis. Injury. 2008; 39(1): 5-12

29. Yılmaz C. Kıkırdak yaralanmalarının tedavisi. TOTBİD Dergisi. 2010; 9(3): 115-21
30. <http://www.namrata.co/wp-content/uploads/2014/02/Collagen-structure.bmp>
31. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage Part II: Degeneration and Osteoarthritis, Repair, Regeneration and Transplantation. JBJS. 1997; (79)4: 612-32
32. Lorenz H, Richter W. Osteoarthritis: cellular and molecular changes in degenerating cartilage. Progress in Histochemistry and Cytochemistry. 2009; 40: 135-63
33. Favero M, Ramonda R, Goldring MB, Goldring SR, Punzi L. Early Knee Osteoarthritis. RMD Open. 2015; 1; 1-7
34. Ma CH, Lv Q, Yu YX, Zhang Y, Kong D, Niu KR, Yi CQ. Protective effects of tumor necrosis factor alfa blockade by adalimumab on articular cartilage and subchondral bone in a rat model of osteoarthritis. Braz J Med Biol Res. 2015; 48(10); 863-70
35. Castakdo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. Fitoterapia. 2002; 73; 1-6
36. Güney A, Karaman İ, Oner M, Yerer MB. Effects of propolis on fracture healing: an experimental study. Phytoter. Res. 2011; 25;1648–52
37. Hu F, Hepburn HR, Li Y, Chen M, Radloff SE, Daya S. Effects of Ethanol and Water extract of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. J Ethnopharmacology. 2005; 100 (3); 276-83
38. Pearson RG, Kurien T, Shu KSS, Scammel BE. Histopathology grading systems for characterisation of human knee osteoarthritis - reproducibility, variability, reliability, correlation, and validity. Osteoarthritis and Cartilage.2011; 19:324-31
39. Moore EE, Bendele AM, Thompson DL, Littau A, Waggle KS, Reardon B, Ellsworth JL. Fibroblast growth factor-18 stimulates chondrogenesis and cartilage repair in a rat model of injury induced osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage.2005; 13(7): 623-31
40. Januez MJ, Bendele AM, Brown KK, Taiwo YO, Hsieh L, Heitmeyer SA. Induction of osteoarthritis in the rat by surgical tear of the meniscus: Inhibition of joint damage by a matrix metalloproteinase inhibitor. Osteoarthritis Cartilage. 2002; 10: 785-91
41. Poulet B, Beier F. Targeting oxidative stress to reduce osteoarthritis. Arthritis Research and Therapy.2016; 18-32

42. Lane NE, Brandt K, Hawker G, Peeva E, Schreyer E, Tsuji W, Hochberg MC. OARSI- FDA initiative: defining the disease state of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2011; 19 (5): 478-82
43. Zhou PH, Liu SQ, Peng H. The effect of hyaluronic acid on IL-1 β -induced chondrocyte apoptosis in a rat model of osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Research*. 2008; 26(12): 1643-48
44. Naito K, Watari T, Muta T, Furuhashi A, Iwase H, Igarashi M, Kurosawa H, Nagaoka I, Kaneko K. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) increases the articular cartilage type II collagen in a rat osteoarthritis model. *Journal of Orthopaedic Research*. 2010; 28(3): 361-69
45. Yu D, Ding H, Mao Y, Liu M, Yu B, Zhao X, Wang X, Li Y, Liu G, Nie S, Liu S, Zhu Z. Strontium ranelate reduces cartilage degeneration and subchondral bone remodeling in rat osteoarthritis model. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2013; 34: 393-402
46. Wancket LM, Baragi V, Bove S, Kilgore K, Korytko PJ, Guzman RE. Anatomical localization of cartilage degradation markers in surgically induced rat osteoarthritis model. *Toxicologic Pathology*. 2005; 33: 484-89
47. Michault P, Masferrer JL, Adelaide M, Corothers M, Subbaramaiah K, Zweifel BS, Koboldt C, Mestre JR, Grunberger D, Sacks PG, Tanabe T, Dannenberg AJ. Inhibitory effects of caffeic acid on the activity and expression of Cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in a rat model of inflammation. *Cancer Research*. 1999; 59: 2347
48. Park E, Kahng J. Suppressive effects of propolis in rat adjuvant arthritis. *Archives of Pharmacal Research*. 1999; 22 (6): 554-58
49. Goldring MB, Otero M, Plumb D, Dragomir C, Favero M, Hachem K, Hoshimoto K, Roach HI, Olivetto E, Borzi RM, Marcu KB. Roles of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism: signals and multiple effectors converge upon MMP-13 regulation in osteoarthritis. *Eur Cell Matter*. 2011; 21:202-20
50. Kapoor M, Martel Pelletier J, Lajennesse D, Pelletier JP, Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2011; 7: 33-42
51. Sandell LJ, Aigner T. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthritis research*. 2001; 3 (2):107-13
52. Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia*. 2002; 73 (1); 21-29

53. Kolankaya D, Selmanoğlu G, Sorkun K, Salih B. Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. *Food Chemistry*.2002; 78 (2): 213-17
54. Silva V, Genta G, Moller MN, Masner M, Thomson L, Romero N, Radi R, Fernandes DC, Laurinda FRM, Heinzen H, Fiero V, Denicola A. Antioxidant activity of Uruguayan propolis. In vitro and cellular assays. *J. Agric. Food Chemistry*.2011; 59 (12): 6430-37
55. Aliyazıcıoğlu Y, Demir S, Turan I, Cakiroğlu T, Deger O, Bedir A. Preventive and protective effects of Turkish propolis on H₂O₂- induced DNA damage in foreskin fibroblast cell lines. *Acta Biologica Hungarica*.2011; 62 (4): 388-96
56. Ramirez D, Gonzalez R, Rodriguez S, Ancheta O, Bracho JC, Rosado A, Rojas E, Ramos ME. Protective effects of propolis extract on allyl alcohol-induced liver injury in mice. *Phytomedicine*.1997; 4: 309-14
57. Pascual C, Gonzalez R, Torricella RG. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *Journal of Ethnopharmacology*.1994; 41; 9-13
58. Takada T, Miyaki S, Ishitobi H, Hirai Y, Nakasa T, Igarashi K, Lotz MK, Ochi M. Bach 1 deficiency reduces severity of osteoarthritis through upregulation of heme oxygenase 1. *Arthritis Research and Therapy*.2015; 17-28
59. Çelik SK, Karaman A, Maralcan G. Osteoarthritis patogenezinde rol alan oksidatif stres ve inflamasyon üzerine hyalüronik asit etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi*.2010; 11: 1-8
60. Uçan MC, Koparal M, Agacayak S, Gunay A, Ozgoz M, Atılgan S, Yaman F. Influence of caffeic acid phenethyl ester bone healing in a rat model. *Journal of International Medical Research*.2013; 41(5): 1648-54
61. Oner M, Kafadar İ, Guney A, Halici M, Deniz K, Türk Y, Argun M. Effects of intraarticular propolis in experimental septic arthritis model. *Journal of Pediatric Orthopaedics*. 2011; 20(1): 8-13
62. Yüce S, Gökçe CE, Işıkdemir A, Koç ER, Cemil DB, Gökçe A, Sargon MF. An experimental comparison of the effects of propolis, curcumin, and methylprednisolone on crush injuries of the sciatic nerve. *Annals of Plastic Surgery*.2013;0: 1-9