

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ

FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

İNSAN OSTEOARTRİTİK KONDROSİT KÜLTÜRÜNDE
TERAPÖTİK ULTRASONUN HÜCRE PROLİFERASYONU ve
PROİNFLAMATUAR İNTERLÖKİN SEVİYELERİ ÜZERİNE
ETKİLERİ

Dr. Ahmet Çağdaş YILMAZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hasan TOKTAŞ

2022-AFYONKARAHİSAR

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ

FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

İNSAN OSTEOARTRİTİK KONDROSİT KÜLTÜRÜNDE
TERAPÖTİK ULTRASONUN HÜCRE PROLİFERASYONU ve
PROİNFLAMATUAR İNTERLÖKİN SEVİYELERİ ÜZERİNE
ETKİLERİ

Dr. Ahmet Çağdaş YILMAZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hasan TOKTAŞ

Bu çalışma; Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri

Birimi tarafından 21.TUS.003 kodlu proje ile desteklenmiştir.

AFYONKARAHİSAR-2022

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Dr. Ahmet Çağdaş YILMAZ



T.C.

AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZİKSEL TIP ve REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

Tez Başlığı: İnsan Osteoartritik Kondrosit Kültüründe Terapötik Ultrasonun Hücre Proliferasyonu ve Proinflamatuvar İnterlökin Seviyeleri Üzerine Etkileri

Tez Hazırlayan: Arş. Gör. Dr. Ahmet Çağdaş YILMAZ

Tez Savunma Tarihi: 1.12.2022

Tez Kabul Tarihi: 1.12.2022

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hasan TOKTAŞ

İş bu çalışma jürimiz tarafından FİZİKSEL TIP ve REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI'NDA TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan
Prof. Dr. Ümit DÜNDAR
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD

Üye
Prof. Dr. Hasan TOKTAŞ
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD
Öğretim Üyesi

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Nuran EYVAZ
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD
Öğretim Üyesi

Onay
DEKAN
Prof. Dr. Necip BECİT

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca klinik deneyim ve bilgilerinden faydalandığım Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Ümit DÜNDAR'a;

Uzmanlık eğitimim süresince her koşulda yanımda olan ve hoşgörüsüyle kendimi güvende hissettiğim, bilgi ve tecrübelerinden yararlanmaktan onur duyduğum değerli tez hocam Prof. Dr. Hasan TOKTAŞ'a;

Asistanlık süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalanmaktan hep mutluluk duyacağım değerli hocalarım Doç. Dr. Hilal YEŞİL, Doç. Dr. Selma EROĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Sevda ADAR, Dr. Öğr. Üyesi Nuran EYVAZ, Dr. Öğr. Üyesi Ersin BEŞTAŞ ve asistanlık sürecimin bir bölümünde çalışma fırsatı bulduğum değerli hocam Uzm. Dr. Murat KORKMAZ'a;

Tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum değerli hocam Prof. Dr. Sefa ÇELİK'e ve özellikle laboratuvar aşamasında bilgi, birikiminden faydalandığım Öğr. Gör. Serkan ŞEN'e;

Asistanlığım boyunca tanıma ve çalışma olanağı bulduğum ve çalışmaktan zevk aldığım tüm uzman ve asistan arkadaşlarıma;

Laboratuvar aşamasında tanıştığım ve bundan mutluluk duyduğum, yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dt. Melike TIRAŞ ve Uzm. Dt. Sıdıka Beril FALAY'a;

Rotasyon yaptığım tüm anabilim dallarındaki sayın hocalarım ve değerli asistan arkadaşlarıma;

Kliniğimizin tüm hemşire, fizyoterapist, tekniker ve yardımcı sağlık personeline;

Kendisini tanımamın bana en değerli hazine olduğunu düşündüğüm, tez sürecinde desteklerini esirgemeyen sayın Nilüfer AYHAN'a;

Ne kadar teşekkür etsem de emek ve özverilerinin karşılığını asla ödeyemeyeceğim, bugünlere gelmemi sağlayan babam, merhum Yalçın YILMAZ ve her zaman arkamda olduğunu bildiğim saygıdeğer annem Mübeccel YILMAZ'a teşekkür ederim.

Dr. Ahmet Çağdaş YILMAZ

AFYONKARAHİSAR-2022

İNSAN OSTEOARTRİTİK KONDROSİT KÜLTÜRÜNDE TERAPÖTİK ULTRASONUN HÜCRE PROLİFERASYONU VE PROİNFLAMATUAR İNTERLÖKİN SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Ahmet Çağdaş YILMAZ

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi

Afyonkarahisar 2022

Danışman: Prof. Dr. Hasan TOKTAŞ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, insan osteoartritik kondrosit hücrelerine terapötik ultrason tedavisinin sürekli ve kesikli modda verilmesi ile hücre proliferasyonu ile pro-inflamatuar sitokin seviyelerinin üzerine etkilerini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada insan kaynaklı osteoartritik kondrosit hücreleri (HC-OA 402OA-05a) kullanıldı. Hücreler uygun besi yerinde çoğaltıldıktan sonra tedaviler için uygun kültür kaplarına ekildi. Kültür kapları gruplandırılarak 10 gün boyunca günde 10 dk, 0.1 W/cm², 1 MHz yoğunluk ve frekansta sürekli, kesikli ve kapalı modda ultrason tedavisi verildi. Tedaviler sonrasında MTT testi ile canlılık ve proliferasyon, total protein ölçümü ve ELISA yöntemi ile protein başına düşen interlökin seviyeleri belirlendi. Mikroskopik analiz ile de hücreler günlük olarak fotoğraflandı.

Bulgular: Tedaviler sonrasında sürekli ve kesikli tedavi grubu arasında anlamlı fark olmaksızın sürekli ve kesikli ultrason grubunda anlamlı derece canlılık artmış ve bu sonucu proliferasyon açısından da yorumlamak mümkündür. Aynı şekilde IL-1 β , TNF- α , IL-6 düzeyleri açısından sürekli ve kesikli tedavi grupları arasında anlamlı derecede fark olmaksızın her iki grupta da kontrol grubuna göre azalma mevcuttur ve bu sonuç ise istatistiksel olarak anlam ifade etmektedir. IL-17 ve IL-32 seviyeleri için ise sürekli ve kesikli tedavi gruplarının kontrole göre bu pro-inflamatuar sitokinleri azalttığı ancak istatistiksel bağlamda anlam ifade etmediği sonucuna varılmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda 0.1 W/cm², 1 MHz yoğunluk ve frekansta terapötik ultrasonun hücre proliferasyonunu uyarıp pro-inflamatuar sitokin düzeylerini azalttığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Osteoartrit, Terapötik Ultrason, Kondrosit

**THE EFFECTS OF THERAPEUTIC ULTRASOUND ON CELL
PROLIFERATION AND PRO-INFLAMMATORY CYTOKINE LEVELS IN
HUMAN OSTEOARTHRITIC CHONDROCYTE CULTURE**

Dr. Ahmet Çağdaş YILMAZ

Afyonkarahisar University of Health Sciences

Faculty of Medicine Department of Physical Medicine and Rehabilitation

Thesis

December 2022

Supervisor: Prof. Dr. Hasan TOKTAŞ

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to examine the effects of therapeutic ultrasound treatment on human osteoarthritic chondrocyte cells in continuous and pulsed mode on cell proliferation and pro-inflammatory cytokine levels.

Materials and Methods: Human osteoarthritic chondrocyte cells (HC-OA 402OA-05a) were used in the study. After the cells were grown in the suitable growth medium, they were planted in appropriate culture dishes for treatments. The culture dishes were grouped and ultrasound treatment was given in continuous, intermittent and closed mode at an intensity and frequency of 0.1 W/cm², 1 MHz, for 10 minutes a day for 10 days. After the treatments, viability and proliferation by MTT test, total protein measurement and interleukin levels per protein were determined by ELISA method. Cells were photographed daily with microscopic analysis.

Results: After the treatments, there was no significant difference between the continuous and intermittent treatment groups, and there was a significant increase in vitality in the continuous and intermittent ultrasound group, and it is possible to interpret this result in terms of proliferation. Likewise, there was a statistically significant decrease in IL-1 β , TNF- α , IL-6 levels in both continuous and pulsed treatment groups compared to the control group, with no significant difference between the continuous and pulsed treatment groups. For IL-17 and IL-32 levels, it was concluded that continuous and intermittent treatment groups decreased these pro-inflammatory cytokines compared to the control, but it was not statistically significant.

Conclusion: In our study, it was concluded that therapeutic ultrasound at 0.1 W/cm², 1 MHz intensity and frequency stimulates cell proliferation and reduces pro-inflammatory cytokine levels.

Keywords: Osteoarthritis, Therapeutic Ultrasound, Chondrocyte

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
RESİMLER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Osteoartrit.....	3
2.1.1. Osteoartrit Epidemiyolojisi	3
2.1.2. Osteoartrit Patogenezi	4
2.1.2.1. Eklem Kıkırdığı.....	4
A. Eklem Kıkırdak Tabakaları	5
B. Ekstrasellüler Matriks Bileşenleri (ESM)	6
2.1.2.2. Subkondral Kemik	7
2.1.2.3. Sinovya	8
2.1.2.4. Nöromusküler Fonksiyon ve Proprioepsiyon.....	9
2.1.2.5. Sitokin, Kemokin ve Nöropeptitlerin OA ile ilişkisi	10
2.1.3. Osteoartrit Tedavisi	15
2.1.3.1. Non-farmakolojik tedavi.....	15
2.1.3.2. Farmakolojik Tedavi.....	20
2.1.3.3. Cerrahi Tedaviler	23
2.2. Terapötik Ultrason.....	24
2.2.1. Ultrasonun Tarihçesi	24
2.2.2. Ultrason Dalgalarının Fiziksel Özellikleri.....	24
2.2.3. Terminoloji	25
2.2.3.1. Güç (Power).....	25

2.2.3.2. Şiddet-Yoğunluk (Intensity)	25
2.2.3.3. Uzaysal Ortalama Geçici Yoğunluğu (SATA)	25
2.2.3.4. Uzaysal Ortalama Geçici Pik Yoğunluğu (SATP)	26
2.2.3.5. Frekans.....	26
2.2.3.6. Devamlı (Continious) Ultrason.....	26
2.2.3.7. Kesikli (Pulsed) Ultrason.....	26
2.2.3.8. Görev Döngüsü (Duty Cycle)	26
2.2.3.9. Işık Değişkenliği Oranı [Beam Non-Uniformity Ratio (BNR)]	26
2.2.3.10. Etkin Işınım Alanı [Effective Radiating Area (ERA)]	27
2.2.3.11. Yarı Derinlik (Half Depth)	27
2.2.3.12. Ara Madde	27
2.2.3.13. Prob Hızı ve Açısı.....	27
2.2.4 Ultrasonun Etkileri	28
2.2.4.1. Termal Etkiler	28
2.2.4.2. Non-termal Etkiler	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. Kondrosit Hücrelerinin Sağlanması ve Özellikleri	30
3.2. Kondrosit Hücrelerinin Üretilmesi	30
3.3. Kondrosit Hücrelerinin Çalışmanın Yapılacağı Hücre Kültür Kaplarına Ekilmesi ve Üretilmesi	31
3.4. Terapötik Ultrasonun Kondrositlere Uygulanması	32
3.5. Hücre Lizatlarının Hazırlanması ve Total Protein Ölçümü.....	34
3.6. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) ile Proinflamatuvar Sitokin Ölçümleri.....	35
3.7. 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium-bromide (MTT) Hücre Viabilite Ölçüm Testi	35
3.8. Mikroskopik Analiz.....	36
3.9. İstatiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR	37
4.1. Terapötik Ultrasonun Kondrositler Üzerine Etkisi.....	37
A. MTT Testi ile Hücre Canlılığı ve Proliferasyonu Tayini	37
B. İnterlökin Seviyelerinin ELISA ile Tayini	38
C. Mikroskopik Analiz.....	48
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ.....	58
7. KAYNAKÇA	59
EKLER.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ACR: Avrupa Romatizma Cemiyeti

ADAMTS: Disintegrin ve Metalloproteinaz ile Trombospondin Motifleri

BCA: Bicinchoninic protein assay

BNR: Işık Değişkenliği Oranı

BSA: Sığır serum albumini

BSP: Kemik siyaloproteini

CGRP: Kalsitonin Geni ile ilişkili peptit

cm: santimetre

cm²: santimetre kare

CO₂: Karbondioksit

COMP: Kıkırdak oligomerik matriks proteini

COX-1: Siklooksijenaz 1

COX-2: Siklooksijenaz 2

C-RP: C reaktif protein

dk: Dakika

DMEM: Dulbecco' Modified Eagle Medium

DMOAD: Modifiye edici osteoartrit ilaçları

DMSO: Dimetil sülfoksit

DYKU: Düşük yoğunluklu kesikli ultrason

EDTA: Tripsin/etilendiamin tetraasetik asit

EHA: Eklem hareket açıklığı

ERA: Etkin Işınım Alanı

ESM: Ekstrasellüler Matriks

ESWT: Vücut Dışından Uygulanan Şok Dalga Tedavisi

EULAR: Avrupa Romatizma Birliği

FBS: Fötal buzağı serumu

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Komitesi

FGF: Fibroblast büyüme faktörü

g: Gram

GM-CSF: Granülosit-Makrofaj Klonal Stimüle Edici Faktör

HIFU: Yüksek yoğunluklu odaklanmış ultrason

HILT: Yüksek yoğunluklu lazer tedavisi

Hz: Hertz

IFC: İnterferansiyel Akım

IFN- γ : Interferon gama

IL: İnterlökin

IL-1Ra: İnterlökin 1 reseptör antagonisti

IL-1 β : İnterlökin 1 beta

iNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz

IR: Kızılötesi

KDD: Kısa Dalga Diatermi

kg: Kilogram

kHz: Kiloherertz

kW: Kilowatt

l: Litre

LIF: Lösemi inhibitör faktör

LLT: Düşük yoğunluklu lazer tedavisi

m: Metre

MAPK: Mitojen aktif protein kinaz

MHC: Major histokompatibilite Kompleksi

MHz: Megahertz

ml: Mililitre

mm: Milimetre

mm³: Milimetreküp

mM: Milimolar

ms: Milisaniye

MMP: Matriks Metalloproteinaz

mW/cm²: Miliwatt/ santimetre kare

NF-κB: Nükleer Faktör kappa B

ng/ml: Nanogram/mililitre

ng: Nanogram

NK: Doğal öldürücü

nm: Nanometre

NO: Nitrik oksit

NPY: Nöropeptit Y

NSAİİ: Non-steroidal Anti-inflamatuvar İlaç

OA: Osteoartrit,

OARSI: Uluslararası Osteoartrit Araştırma Topluluğu

PBS: Fosfat tamponlu salin

pEM: Pulsasyonlu manyetik alan

pg/ml: Pikogram/mililitre

pg: Pikogram

PGE₂: Prostaglandin E₂

PPI: Proton pompa inhibitörü

PZT: Kurşun zirkonyum titanat

RA: Romatoid Artrit

SNRI: Selektif Serotonin ve Noradrenalin Geri Alım İnhibitörü

SATA: Uzaysal Ortalama Geçici Ortalama Yoğunluğu

SATP: Uzaysal Ortalama Geçici Pik Yoğunluğu

TENS: Transkütanöz elektriksel sinir stimülasyonu

TGF- β : Dönüştürücü Büyüme Faktörü- beta

TIMP: Matriks metalloproteinaz doku inhibitörü

TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa

TRPV 1: Vaniloid bileşik reseptörü 1

U/ml: Ünite/mililitre

U: Ünite

US: Ultrason

VAS: Visüel analog skala

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

VIP: Vazoaktif İntestinal Peptit

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

W/cm²: Watt/ santimetre kare

W: Watt

WOMAC: Batı Ontario ve McMacter Üniversiteleri Osteoartrt İndeksi

µg/ml: Mikrogram/mililitre

µg: Mikrogram

µl: Mikrolitre



TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO 1. OSTEOARTRİT TEDAVİSİNDE KULLANILAN FİZİK TEDAVİ MODALİTELERİ.....	16
TABLO 2. OSTEOARTRİT TEDAVİSİNDE KULLANILAN FARMAKOLOJİK TEDAVİLER.....	21
TABLO 3. GRUPLAR ARASI % CANLILIK, ORTALAMA % CANLILIK DEĞERLERİ İLE ONE WAY ANOVA TEST SONUCUNA GÖRE ANLAMLILIK DEĞERİ.....	37
TABLO 4. % CANLILIK İÇİN TUKEY ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA TESTİNE GÖRE GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK DEĞERLERİ.....	37
TABLO 5. IL-1B İÇİN GRUPLARIN DEĞERLERİ, GRUPLAR ARASI ORTALAMA DEĞERLER VE GRUPLAR ARASI ONE WAY ANOVA TEST SONUCUNA GÖRE ANLAMLILIK DEĞERİ.....	39
TABLO 6. IL-1B İÇİN TUKEY ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA TESTİNE GÖRE GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK DEĞERLERİ	39
TABLO 7. IL-6 İÇİN GRUPLARIN DEĞERLERİ, GRUPLAR ARASI ORTALAMA DEĞERLER VE GRUPLAR ARASI ONE WAY ANOVA TEST SONUCUNA GÖRE ANLAMLILIK DEĞERİ.....	41
TABLO 8. IL-6 İÇİN TUKEY ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA TESTİNE GÖRE GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK DEĞERLERİ	41
TABLO 9. TNF-A İÇİN GRUPLARIN DEĞERLERİ, GRUPLAR ARASI ORTALAMA DEĞERLER VE GRUPLAR ARASI ONE WAY ANOVA TEST SONUCUNA GÖRE ANLAMLILIK DEĞERİ.....	43
TABLO 10. TNF-A İÇİN TUKEY ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA TESTİNE GÖRE GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK DEĞERLERİ	43
TABLO 11. IL-17 İÇİN GRUPLARIN DEĞERLERİ, GRUPLAR ARASI ORTALAMA DEĞERLER VE GRUPLAR ARASI ONE WAY ANOVA TEST SONUCUNA GÖRE ANLAMLILIK DEĞERİ.....	45
TABLO 12. IL-17 İÇİN TUKEY ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA TESTİNE GÖRE GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK DEĞERLERİ	45
TABLO 13. IL-32 İÇİN GRUPLARIN DEĞERLERİ, GRUPLAR ARASI ORTALAMA DEĞERLER VE GRUPLAR ARASI ONE WAY ANOVA TEST SONUCUNA GÖRE ANLAMLILIK DEĞERİ.....	47
TABLO 14. IL-32 İÇİN TUKEY ÇOKLU KARŞILAŞTIRMA TESTİNE GÖRE GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK DEĞERLERİ	47
TABLO 15. ULTRASON GRUPLARININ TEDAVİ SÜRESİNCE X4 BÜYÜTMEDEKİ FOTOĞRAFLARI.....	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL 1. KIKIRDAK DOKU TABAKALARI (18)	6
ŞEKİL 2. GRUPLAR ARASI % CANLILIK İFADELERİ.....	38
ŞEKİL 3. IL-1B DEĞERLERİNİN GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK İFADELERİ	40
ŞEKİL 4. IL-6 DEĞERLERİNİN GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK İFADELERİ	42
ŞEKİL 5. TNF-A DEĞERLERİNİN GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK İFADELERİ.....	44
ŞEKİL 6. IL-17 DEĞERLERİNİN GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK İFADELERİ	46
ŞEKİL 7. IL-32 DEĞERLERİNİN GRUPLAR ARASI ANLAMLILIK İFADELERİ	48

RESİMLER DİZİNİ

RESİM 1. KONDROSİT HÜCRESİ	30
RESİM 2. MEDİUM HAZIRLANMASI	31
RESİM 3. 96 KUYULU HÜCRE KÜLTÜR TABAKALARINA HÜCRELERİN EKİMİ.....	32
RESİM 4. ULTRASON CİHAZIMIZ	33
RESİM 5. ULTRASON TEDAVİSİNİN VERİLMESİ	34



1. GİRİŞ

Osteoartrit (OA), artrit en yaygın türü olmakla birlikte eklem kıkırdağının kaybı ve sinovyal inflamasyon ile karakterli eklemlerde şişlik, ağrı ve hareket açıklığı kaybına neden olan, ileri yaşlarda başlayan, dejeneratif süreçlerin söz konusu olduğu bir hastalıktır (1). OA, diğer eklem hastalıklarından 20. yüzyılın başında kemik dokudaki hipertrofik değişikliklerle ayrılmış ve bu değişikliklere dayanak oluşturularak ‘osteoartrit’ adı verilmiştir. Klinik tablo ‘artroz’ veya ‘osteoartroz’ isimleri ile anılmıştır (2).

Erişkin eklem kıkırdağı, kollajen, proteoglikan ve kollajen olmayan protein matriksinden oluşan ve içinde kondrositlerin hücresel bileşeni tamamladığı damar bulundurmeyen bir dokudur. Bu bağlamda kondrositlerin normal olarak bölünmemesine rağmen, belirli matriks proteinlerinin düşük frekanslı değiştirilmesiyle hücre dışı matriksi (ESM) korudukları varsayılmaktadır. Hücre fonksiyonunun kaybıyla, yaşlanma ve eklem hastalıkları sırasında bu denge bozulmakta ve matriksten kollajen ve proteoglikanların kaybolma hızı, yeni sentezlenen moleküllerin birikme hızını geçebilmektedir. Bu da dokudaki su içeriğinin azalması ve matriks bileşimindeki değişikliklere sebebiyet vermekte, en nihayetinde başlangıçta stabil bir doku olarak kabul edilen kıkırdağın artık kondrositlerde gen ekspresyonunu ve protein sentezini düzenleyen dış etmenlere yanıt verdiğini düşündürmektedir.

OA patogeneğinde inflamasyon, genetik yatkınlık, çevresel etkenler, travma ve biyokimyasal değişkenler rol almaktadır ve kanıtlar, OA’da kıkırdak ile kemik metabolizmasının değişip farklılaştığını, yıkım-onarım dengesinin onarım aleyhine döndüğünü göstermektedir (3,4).

Ortalama yaşam süresinin uzaması ve sonucunda yaşlı nüfusun artması, obezitenin ve sedanter yaşam tarzının yaygınlaşması gibi sebeplerle OA görülme sıklığı tedricen artmaktadır. Dünyanın çeşitli yerlerinde yapılmış epidemiyolojik araştırmalarda 65 yaş ve üstündeki kişilerin % 10 ila 30’unda semptomatik hale gelmiş diz OA’sı görüldüğü bildirilmektedir. Elli beş yaş ve üstü kişilerde ise klinik bulgu veren diz OA prevalansı % 13 olarak belirtilmiştir. Framingham OA çalışması verileri ise, prevalansı erkeklerde % 7, kadın cinsiyette ise % 11 olarak bildirmiştir. Türkiye’de yapılan bir prevalans çalışmasındaysa 50 yaş ve üstü erişkinlerde

semptomatik hale gelmiş diz OA yaygınlığı % 14.8 olup erkeklerde % 8, kadın cinsiyette ise % 22.5 olarak belirtilmiştir (5).

OA'da tedavi planı, hasta eğitimi, şikayetlerin kontrol altına alınması, hastalık ilerleyişinin sınırlandırılması, eklem fonksiyonlarının korunması ve iyileştirilmesi üzerine yapılmalıdır. Günümüzde OA'lı bir hastanın tedavisinde hedefler şunlardır: Ağrıyı azaltmak, fonksiyonelliği artırmak ve kartilaj hasarındaki progresyonu yavaşlatmak. Bu maksatla koruyucu ve deneysel yöntemler, farmakolojik tedavi ile cerrahi girişimler uygulanabilmektedir. Avrupa Romatizma Birliği (EULAR)'nce kalça ile diz OA'sı için oluşturulmuş şemalara göre tedavi, risk faktörleri (vücut kitle indeksi yüksekliği, fiziksel aktivite, mekanik faktörler), genel risk faktörleri (hastanın yaşı, yandaş hastalık durumu, çoklu ilaç kullanımı), sakatlık düzeyi ve ağrı, hasarın yeri ve düzeyi dikkate alınıp kişiye özel yapılmalıdır (6,7).

OA'da hasta eğitimi ve koruyucu önlemler, ekleme aşırı yüklenmeye neden olan etkenlerin bilinmesi, obezitenin engellenmesi ve ortadan kaldırılması ve fiziksel tıp ve rehabilitasyon uygulamaları gibi non-farmakolojik tedavi yöntemleri, parasetamol ve non-steroidal anti-inflamatuar (NSAİİ) ilaçlar gibi basit ağrı kesiciler, opioidler, intra-artiküler enjeksiyonlar ve viskosuplementasyon gibi farmakolojik tedavi modaliteleri ile cerrahi tedaviler yapılabilir.

Son yıllarda fizik tedavi ajanı olarak kullanılagelen ultrasonun (US) kıkırdak ve kemik dokusu üstündeki iyileştirici etkisi ile ilgili araştırmalar hızlanmıştır. Birçok in-vitro, in-vivo ve klinik araştırmayla US' un kıkırdak iyileşmesini pozitif yönde etkilediğini göstermiştir. Bunlar, özellikle düşük yoğunluklu US uygulamalarının kıkırdak doku üzerinde iyileştirici bir etki oluşturabileceğini düşündürmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Osteoartrit

OA, eklemlerin en sık görülen hastalığıdır. Sinsi gelişir ve zaman içinde yavaşça ilerlemektedir. Kıkırdak hasarı bu hastalığın temelini oluşturur. İlk yüzeysel başlayan kıkırdak fibrilasyon ve ülserasyonu zaman geçtikçe daha derin tabakalara ilerlemektedir. Kıkırdak defektleriyle birlikte subkondral kemik de etkilenebilmektedir. Bu durum neticesinde kemiksi çıkıntılar (osteofit) oluşur. Ayırteten fokal sinovyal membran inflamasyonu da gözlenir. Sinovyal hücreler ve kondrosit hücrelerinden salgılanmakta olan matriks metalloproteinazları (MMP) ve pro-inflamatuar mediyatörler kıkırdak hasarına sebebiyet veren önemli araçlar olarak gözükmektedir (8).

2.1.1. Osteoartrit Epidemiyolojisi

OA, yeryüzünde en sık görülen, fiziki soruna sebebiyet veren eklem sorunudur. Tüm ırkları ve her iki cinsiyeti de etkilemektedir. Elli beş yaş üzerindeki bireylerin % 80'inden fazlasında OA'ya dair radyografik bulgular saptanır. Etkilenen bireylerin % 20 kadarı ise belirgin özürdür (2).

Klinik ve radyografik taramalar, prevalansın 40'lı yaşlarda % 10 ve 60 yaş civarında % 50 oranının üstüne çıktığını göstermektedir. OA, insidansı yılda % 1.4, ilerleyen yaşlarda ise % 10'a dek yükselmektedir (2). Ülkemizde Çakır ve arkadaşlarının romatizmal hastalıkların prevalansını saptamayı amaç edinen çalışmalarında, OA prevalansının % 8.4 olduğu bildirilmiştir (9).

Artan yaşın, eller, kalçalar, dizler ve omurga dahil olmak üzere tipik olarak etkilenen eklemlerde OA için önemli bir riske neden olduğu kabul edilmektedir. Otuz yaşın altındaki kişilerde teşhis konulan nadir OA vakaları, neredeyse her zaman, önemli yapısal anormalliklere ve/veya eklem deformitelerine neden olan matriks genlerindeki mutasyonlardan kaynaklanır. İnsanlarda OA, genellikle hastalığın radyografik değişikliklerinin daha yaygın hale geldiği yaklaşık 50 yaşından sonra klinik bulgu verir hale gelir (10).

OA prevalans ve insidansının 30-65 yaş aralığında, 2 ila 10 kata kadar arttığı bildirilmektedir. Elli yaşına dek OA prevalansı çoğu eklemdede erkek cinsiyette daha

sık görülürken, elli yaşın üzerinde ise özellikle el, diz ve ayaklarda kadın cinsiyette daha sık görülmektedir (10).

2.1.2. Osteoartrit Patogenezi

OA, kıkırdak, kemik ve sinovyal dokularda çeşitli travmatik, mekanik, gelişimsel, metabolik ve genetik değişkenlerin etkisiyle oluşan, kıkırdak yapım-yıkımı arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıkan, morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin görüldüğü bir hastalıktır (11). Kıkırdak matriksinin bozulması, fibrilasyon ve çatlakların gelişmesine, büyük ülserasyonların ortaya çıkmasına ve eklemin tüm yüzeyinin kaybolmasına yol açar. Buna osteofit oluşumu ve subkondral plakanın kalınlaşması ile kemik değişiklikleri eşlik eder (12).

OA eklem ait tüm yapıları ve periartiküler yapıları etkilemektedir. Eski inanişâ göre OA' nın primer kıkırdak anormalliği fikri doğru değildir. Biyomarkırların salınımı göstermiştir ki örneğin diz OA' sı aslında erken döneminde inflamasyonla birlikte bozulmuş kemik ve kıkırdak metabolizmasıdır. Kemik siyoloprotein (BSP), kıkırdak oligometrik matriks proteini (COMP) ve C-reaktif protein (CRP) gibi markırlar daha radyografik anormallik gelişmeyen ağırlı hastalarda artmış şekilde bulunmuştur (14).

2.1.2.1. Eklem Kıkırdağı

Erişkin eklem kıkırdağının üçte ikisini kollajen oluşturur. Eklem kıkırdağı tip II, XI, IX şeklinde 3 ana fibriler kollajen yapıya ek olarak daha az miktarlarda tip III, VI, XII ve XIV kollajen içermektedir ve OA kıkırdağında tip III kollajen sentezleyen kondrosit kümeleri görülür (13).

Hücrelere yakın matriks bölgesel, biraz uzağındaki matriks ise bölgeler arası matriks olarak isimlendirilmektedir (13). Ekstrasellüler matriks, proteoglikan ve kollajen ağından oluşmaktadır. Proteoglikan ağı kompresyona dayanıklılığı sağlarken kollajen ağı ise gerilme gücünden sorumludur. Başlangıç aşamasında kondrositler artmış miktarda kıkırdak matriks molekülleri ve matriksi yıkımından sorumlu MMP' ler sentezlerler ancak bir süre sonra kondrositlerin matriks yapım fonksiyonları azalmaktadır. Bu durumun ilerlemesi neticesinde, interlökin-1 (IL-1) ve diğer inflamasyondan sorumlu sitokinlerle uyarılan katabolizmadan sorumlu proteinler ve anormal yük dağılımı sonucu kondrositlerin anabolik faaliyetlerinin de sonuç

vermemesi sebebiyle kıkırdakta fibrilasyon ve erozyon gelişir. Bunun sonucunda da kıkırdak doku altındaki kemik doku açığa çıkar (2).

Kıkırdağın ana bileşenleri olan agrekan ve tip 2 kollajenin yıkımından sorumlu mekanizmaların ortaya çıkarılması için yapılan çalışmalar sonucu yıkımda rol alan kollajenaz ve çok sayıda MMP tanımlanmasıyla patogeneizde önemli yol kat edilmiştir. Osteoartrit kıkırdakta MMP-1, 3, 9 ve 13' ün varlığı kanıtlanmıştır. MMP'leri sentezleyen hücreler, aynı anda dokuda MMP'leri inhibe eden ve doku matriks metalloproteinaz inhibitörü (TIMP) şeklinde isimlendirilen inhibitörlerin de üretilmesinden sorumludur (2). MMP biyolojik aktivitesi, TIMP spesifik doku inhibitörleri veya aktiviteleri ile fizyolojik olarak kontrol edilmektedir (12).

Nitrik oksit (NO), kıkırdakta pro-inflamatuar ve katabolik bir rol üstlenici gibi görünmektedir ve kondrosit ölümüne yol açan süreçlerde yer aldığı belirtilmektedir (15).

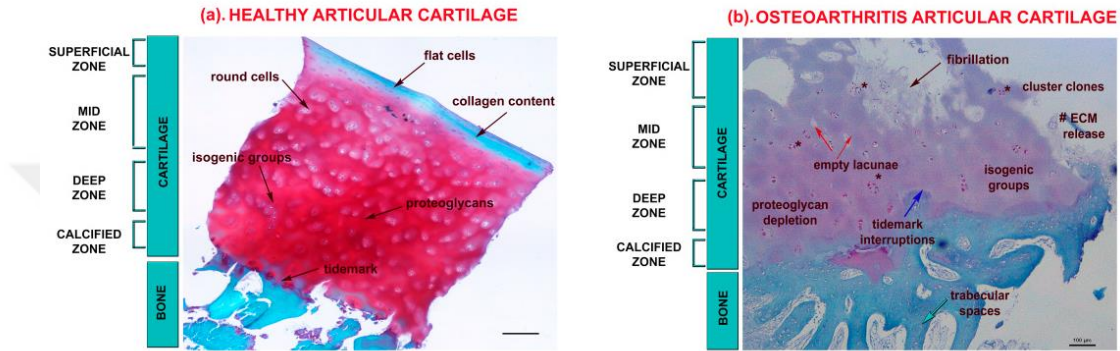
OA patogenezi mekanik yönden, mekanik etmenlerin tetiklediği biyokimyasal süreçlerin de eşlik ettiği bir eklem yetmezliği olarak düşünülebilir. Normalde eklemler yüklenme ve harekete dayanıklı yapılar olarak tanımlanabilir ve kondrositler, metabolik aktivitelerini sürdürebilmek için belirli intervallerle yüklenme ve hareket gibi mekanik uyarılara gereksinim duymaktadırlar. Kıkırdağın mekanik yüklenmelere karşı olan direnci, OA patogenezinde önemli bir yere sahiptir. Kondrositler mekanik yüklenmeyi, oluşan fiziksel ve kimyasal değişiklikler sonucunda algılayıp metabolizmayı düzenler. Kıkırdak hücre kültürlerinin kullanıldığı çalışmalarda, matriks yapımının aralıklı yüklenmeyle artıp sabit yüklenmeyle azaldığı ancak OA' lı kıkırdak dokuda bahsedilen anabolik yanıtın ve sürecin gelişemediği görülmüştür (2).

A. Eklem Kıkırdak Tabakaları

Kıkırdak, farklı işlevlere sahip dört bölgeye ayrılır: yüzeysel, orta veya geçiş, derin veya radyal ve kalsifiye kıkırdak bölgeleri. İlginç bir şekilde, ilk üç bölge arasında keskin bir sınır yoktur (16).

Yüzeysel tabaka, yassı disk şeklindeki kondrositler, düşük bir proteoglikan içeriği ve kıkırdağa karakteristik hiyalin opaklığını veren yoğun şekilde dizilmiş tek tip kollajen lifleri ihtiva eder. Bu tabaka subkondral kemikten serbest bırakıldığında eklem kıkırdağının kıvrılma eğilimini gösteren, gerilime dirençli bir hazne olarak

tanımlanmıştır. Orta tabakalarda kondrositler yuvarlak veya küresel bir şekil alır, proteoglikan içeriği artar ve kolajen lifleri yüzeysel ve derin katmanlar arasında eğik bir geçiş ağı sağlamak için kesişir hale gelmektedir. Derin tabaka, sütunlar halinde düzenlenmiş yuvarlak kondrositler, yüksek bir proteoglikan içeriği ve bir radyal kollajen ağı ile karakteristiktir. Kalsifiye tabaka ise, kalsifiye olmayan boşluklarda yuvarlak kondrositler, proteoglikanların yokluğu ve kalsifiye bir matrikse sabitlenmiş radyal kollajen lifleri ile karakterize edilmektedir (17).



Şekil 1. Kıkırdak Doku Tabakaları (18)

B. Ekstrasellüler Matriks Bileşenleri (ESM)

ESM, eklem kıkırdağına biyomekanik özellikler kazandıran karmaşık bir proteoglikanlar, kollajenler, su, mineraller ve fibröz proteinler ağıdır. Proteoglikanlar, dokudaki suyu ve tuzları çeken, ozmolariteyi ve basınç kuvvetine karşı direnci artırıp sağlayan, negatif yüklü moleküller olarak tanımlanabilirken kollajenler ise, eklem yüzeyine paralel olarak hareket eden ve kıkırdağın kayma stresine karşı direnç göstermesini sağlayan fibröz proteinlerdir. Sağlıklı insanlarda, eklem yüzeyinin yüzeysel fibrilasyonu ve fokal kusurlar, kendiliğinden düzelebilen ancak yaşlanma ile birikme eğiliminde olan yaygın fenomenlerdir. Hücre fonksiyonunun kaybıyla birlikte dokudaki su içeriğinin azalması ve matriks bileşenlerinin bileşimindeki değişiklikler daha sonra OA gelişimine yol açabilirler. Bu olaylar birbiriyle bağlantılıdır ve kıkırdak bozulmasında ilk tetikleyiciyi belirlemek imkansızdır (17).

Hiyalin kıkırdak, genetik olarak farklı en az beş tip kolajen molekülü; tip II, VI, IX, X ve XI içerir ve tip IX kollajen, kollajen yapısının yaklaşık % 1-2'sini oluşturur. Fetal hayatta oran daha fazla iken olgunlaşma neticesinde tip II kollajene göre oranı azalmaktadır (19). Tip IX kollajen, kovalent bağlar sayesinde tip II

kollajene bağlanıp böylelikle kıkırdak dokunun gerim gücü ve sertliğine katkı sağlar. Tip XI kollajenin ise, tip II kollajen liflerinin kalınlığının belirlenmesinde rol aldığı düşünülmektedir (3,18). Osteoartritik kıkırdakta kollajen liflerin boyu normale göre kısalır ve lif çapı azalarak sıkı yapısı gevşemektedir (20). OA kıkırdağında tip III kollajen sentezleyen kondrosit kümeleri görülmeye başlar (14). Normalde, enkondral kemikleşmeden sorumlu olan Tip X kollajen, osteoartritik kıkırdakta tekrar eksprese edilmeye başlar ve bu ekspresyon tamirle ilgili sürecin geliştiğini göstermektedir (21).

2.1.2.2. Subkondral Kemik

Subkondral kemik, OA'nın başlaması ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. 'Subkondral kemik' çeşitli şekillerde tanımlanmış olmasıyla birlikte, en sık olarak kalsifiye kıkırdağın distal kısmında bulunan osteokondral plaka ve subkondral plaka olarak isimlendirilen ince bir kortikal kemik tabakasından ve bitişik eklem kıkırdağından gelgit işareti ile ayrılan kalsifiye kıkırdak tabakasından oluşan kemik bileşeni şeklinde tarif edilebilmektedir (22,23).

Subkondral kemik, kıkırdağın altında bulunan ve subkondral plaka ile 6 mm'lik bir trabeküler kemik tabakasından oluşan bir kemik alanıdır. Subkondral kemik iki farklı anatomik yapıya ayrılabilir: subkondral kemik plakası ve subkondral trabeküler kemik. Subkondral kemik plakası, kalsifiye kıkırdağın hemen altında uzanan ince bir kortikal lameldir. Bu kortikal uç plakası aşılmaz bir yapı değildir, belirgin bir gözenekliliğe sahiptir. Eklem kıkırdağı ve subkondral trabeküler kemik arasında doğrudan bağlantı sağlayan kanallar tarafından çevrelenir. Çok sayıda arteriyel ve venöz damarların yanı sıra sinirler, kanallara nüfuz eder ve kalsifiye kıkırdağa küçük dallar gönderir. Subkondral plakadaki terminal kan damarları, derin kıkırdak tabakası ile doğrudan temas halindedir ve bu sayede kıkırdağa glikoz ve oksijen gereksinimlerinin yaklaşık % 50'sini sağlamaktadır. Kanalların dağılımı ve yoğunluğu sadece yaşlanmaya bağlı değil, aynı zamanda eklemlerin içinde ve arasında kıkırdak ve subkondral kemik yoluyla iletilen yüklenici kuvvetlerin büyüklüğüne de bağlı olmaktadır. Bu kanallar tercihen eklemin yoğun stres altındaki bölgelerinde fazlalaşmaktadır. Kortikal plakanın kalınlığına göre kanal şekli ve çapı da farklılık gösterebilir. Kanallar subkondral plakanın daha kalın olduğu bölgelerde

ağaç benzeri bir ağ oluşturur ve daha dardır. Plakanın daha ince olduğu yerlerde ise daha geniş ve ampullaya benzemektedirler (22,23).

Subkondral kemik dinamik yapıdadır ve eklem boyunca uygulanan mekanik kuvvetlere benzersiz şekilde uyarlanmıştır. Kemik yoğunluğu paternleri ve mekanik özelliklere ek olarak, subkondral kemik ayrıca trabeküler oryantasyonu ve ölçek parametrelerini ana stres ile kesin bir ilişki içinde dinamik olarak ayarlamaktadır. Mekanik stres ayrıca kemik modelleme ve yeniden şekillenme yoluyla subkondral kemiğin konturunu ve şeklini değiştirir (22).

OA'da eklem aşırı yüklenme nedeniyle subkondral kemik dansitesi ve sertliğinde artış olmakta ancak eklem yük dağılım kapasitesi azalmaktadır. Çoğu hayvan deneyi subkondral kemik dansitesindeki artışın erken dönemlerde geliştiğini ve akabinde tüm eklem boyunca kıkırdak kaybına dek sürecin ilerleme gösterdiğini bildirmiştir. İleri evreli OA' da subkondral skleroz ve kalsifiye dokuda da remodelling gelişmektedir. OA ilerledikçe de eklem kıkırdağındaki skleroza erozyonlar eşlik etmektedir. Ağırlık taşımakta olan eklemlerdeki mekanik stres subkondral kemik tabakasıyla kıkırdak dokuda mikrokırıkların gelişmesine yol açıp osteoartrit gelişimine katkı sağlayabilmektedir. Kıkırdak hasarı tedricen artar, bu da subkondral skleroz ve sertliğin artışı ile sonuçlanır. Subkondral kemik meydana gelen bu rekürren uyarılara, strese karşı dayanıklı olabilmek için, remodelling ve öncekine göre daha sert kemik dokusuyla yanıt verir lakin oluşan yeni kemiğin şok absorban özelliği azdır. Subkondral trabeküler kalınlık artışı her zaman artmış kemik mineralizasyonuna eşlik etmez ve dahası osteoid hacminde normal olmayan mineralizasyona sekonder artış görülebilir. Bu sebeple kimi araştırmacılar OA' yı metabolik kemik hastalığı olarak değerlendirirler. Çalışmalarda, subkondral kemik kalınlığıyla OA şiddeti arasında önemli bir ilişkinin varlığı gösterilmiştir. Kemik kalınlığının oluşum süresi araştırmalarda çeşitlilik göstermekle birlikte, bu kalınlaşma durumunun kıkırdağın kaybı için ön şart olduğu düşünülmektedir (24).

2.1.2.3. Sinovya

Sinovyal membranın hücresel elemanları, sinovyal sıvı bileşenlerinin temelidir; bu hücreler eklem yüzeylerinin benzersiz fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunmakta ve kondrosit aktivitesini modüle etmektedir. Sinovyal astar hücreleri tarafından üretilen iki önemli molekül olan lubrisin ve hiyalüronik asit, diartrodial

eklemlerdeki eklem kıkırdaklarının bütünlüğünü korumaya ve sürdürmeye yardımcı olmaktadır. Bu iki molekül birlikte, eklem yüzeyinde sürtünmeyi azaltıp ek olarak, lubrisin, eklem yüzeyinde proteinlerin patolojik birikimini engellemektedir (24,25).

Metabolik olarak yüksek düzeyde aktif hücreler (sinoviyositler) içeren sinovyal membran, hem kondrositleri sinovyal sıvı ve eklem boşluğu yoluyla beslediği hem de metabolitleri ve matriks bozunma ürünlerini ortadan kaldırdığı için fizyolojik olarak önem arz etmektedir. OA'da meydana gelen sinovyum iltihabı, görüntüleme, artroskopi veya histoloji ile tespit edilebilen sinovit ile sonuçlanır. Bununla birlikte, bu sinovyal inflamasyona rağmen, OA sinovyal sıvısındaki lökosit sayısı tipik olarak bir 'inflamatuvar' bozukluğu tanımlayan eşğin (mm^3 başına 2.000 hücre) altında olduğundan, OA genellikle non-inflamatuvar bir hadise olarak sınıflandırılmaktadır (26).

OA'da sinovyal iltihaplanma, kıkırdak ve kemik hasarı komşuluğundaki alanlarda görülür. Sinovyal zarda mononükleer hücre infiltrasyonu ve interlökin-1beta (IL-1 β), tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) gibi pro-inflamatuvar aracılardan üretimi gerçekleşmektedir (26).

Aktive olmuş sinovyum, kıkırdak hasarı oluşturan proteazları ve sitokinleri artırarak yanındaki kıkırdağın haraplanmasını hızlandırmaktadır. Kıkırdak yıkım ürünleri sinovyal hücrelerden kollajenaz ve farklı hidroliz sağlayan enzimlerin salınmasını uyarmakta ve sinovyal zarda vaskülogeneze sebebiyet vermektedir. İnflamasyondan sorumlu hücreler bir taraftan pro-anjiogenik faktörleri salgılamakta, diğer taraftan büyüme faktörlerinin üretilmesinden sorumlu diğer hücreleri de uyarmak suretiyle anjiogenezi kat kat hızlandırmaktadır. Öte yandan, anjiogeneze bağlı vasküler permeabilitede ve adezyon moleküllerinin salınmasındaki artışa sekonder inflamatuvar cevap artmaktadır (27).

2.1.2.4. Nöromüsküler Fonksiyon ve Proprioepsiyon

Diz osteoartriti (OA) olan hastalarda kuadriceps kas zayıflığı yaygın olarak bildirilmiştir. Zayıf kuadriceps kasları, hareket bozuklukları ile ilişkilidir ve hastalık insidansı ve OA'nın ilerlemesi için bir risk faktörü olabilir. Klinik önemine rağmen, diz OA' sındaki kuadriceps kas güçsüzlüğünün büyüklüğü ve mekanizmaları tam olarak karakterize edilmemiştir (28).

Propriosepsiyonun kabul edilmiş tek bir tanımı yoktur. Diz propriosepsiyonu, dizin çeşitli yapılarındaki proprioseptif reseptörlerden gelen afferent sinyallerin entegre edilmesinden kaynaklanır ve ayrıca eklem dışından gelen sinyallerden de etkilenir. Literatürde diz propriosepsiyonu ile ilgili varsayılan üç görev tanımlanmıştır. İlkin, proprioseptif bilginin refleks yanıtlar yoluyla dizi olası zarar verici ve aşırı hareketlere karşı korumak adına kullanıldığı, ikinci olarak, dizin statik postür sırasında stabilize edilmesi için diz eklemiminin proprioseptif doğruluğunun gerektiği ve nihayetinde üçüncü olarak da diz propriosepsiyonunun karmaşık hareket sistemlerini ve diz eklem hareketlerini eşgüdüm halinde yönetmede önemli bir yer tuttuğu düşünülmektedir (29).

OA'nın dejeneratif süreci, eklem ve periartiküler dokularda bulunan duyu reseptörlerinin bütünlüğünü ve işlevini etkileyebilir ve böylece afferent girdiyi değiştirebilmektedir. Sonuç olarak, proprioseptif yetenek tehlikeye girebilir ve refleks kas tepkisinde ve kas içiği duyarlılığında değişikliklere yol açarak eklem korumasını azaltabilmektedir. Proprioseptif duyu üzerindeki bu etkiler, kasların normal koordineli modellerinde hatalara neden olabilir ve şok zayıflamasına müdahale ederek fonksiyonel stabilitede bozulmalara neden olabilmekte ve bu anlamda, daha zayıf kas fonksiyonu, hastalığın şiddetine ve ilerlemesine katkıda bulunabilmektedir (30).

2.1.2.5. Sitokin, Kemokin ve Nöropeptitlerin OA ile ilişkisi

Eklem kıkırdak bütünlüğü, sitokin güdümlü anabolik ve katabolik süreçler arasındaki denge ile korunmaktadır. Bu mekanizmalardan herhangi birinin dengesindeki değişiklikler eklem içindeki yıkıcı sürece katkıda bulunabilir. Birçok araştırmacı, kıkırdak yıkımının tahrik edildiğini öne sürmektedir. Özellikle interlekin (IL)-1 ile, bu da daha sonra MMP' ler gibi ESM'yi parçalayan enzimlerin artan üretimiyle kıkırdak bozulmasına yol açmaktadır. MMP-1, 2, 3, 9 ve 13 dahil olmak üzere ESM bozulmasından sorumlu olan birkaç immünotip tanımlanmıştır ve bu enzimler, eklemlerin hem kolajenin hem de non-kollajen matriks bileşenlerinin bozulmasından sorumlu tutulmaktadır (31).

OA'nın gelişimi ve ilerlemesinin, hastalığın erken evrelerinde bile iltihaplanmayı içerdiğine inanılmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, tibiofemoral kıkırdak hasarının ilerlemesi ile reaktif veya inflamatuvar bir sinovyum varlığı

arasında açık bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, pro-inflamatuar sitokinler gibi salgılanan inflammatuar faktörler, OA'da yer alan eklem dokusunun bozulmuş metabolizmasının kritik aracılığı olarak görülebilir. IL-1 β , TNF- α ve IL-6, OA patofizyolojisinde rol alan ana pro-inflamatuar sitokinler gibi görünmektedir, ancak IL-15, 17, 18 ve 21, lösemi inhibitör faktör (LIF) ve kemokinler de dahil olmak üzere diğerleri de dahil edilmiştir (32).

Pro-inflamatuar sitokinlerin, aralarında IL-1 β ve TNF- α 'nın öne çıktığı bu hastalık sürecinin başlatılmasında ve gelişmesinde çok önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. IL-1 β , kırıkta yıkımı için son derece önemlidir, TNF- α ise inflammatuar süreci yönlendiriyor gibi görünmektedir. IL-1 β ve TNF- α , kondrositler ve sinovyal hücreler gibi eklem hücrelerini, IL-8, IL-6, LIF gibi diğer sitokinleri ve kendi üretimlerini üretmeleri için indükleyebilmekte ve ayrıca proteazları ve prostaglandin E₂ (PGE₂) üretimini uyarabilmektedir. IL-1 β ve TNF- α 'nın da in vitro osteoklastik aktiviteye katkı sağladığı gösterilmiştir. Öte yandan, kültürlenmiş sinovyal fibroblastlar kullanılarak, IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) ile IL-1 aktivitesini bloke etmenin, IL-6 ile IL-8 üretimini azalttığı, ancak TNF- α 'nın aktivitesini ise azaltmadığı gösterilmiştir. Diğer yandan, sinovyal hücrelere anti-TNF- α antikorlarının eklenmesi, IL-1, granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) ve IL-6 benzeri diğer pro-inflamatuar mediatörlerin üretimini ileri düzeyde azalttığı gösterilmiştir (33).

TNF- α , OA gelişiminde anahtar bir rol alan sitokin olarak kabul edilmektedir. Artan ekspresyonu hem de eklem dokuları üzerindeki etkileri çoğunlukla IL-1 β 'ninle örtüşür, muhtemeldir ki iki sitokinin sergilediği benzer hücre içi sinyallemeden kaynaklanmaktadır. Artmış TNF- α seviyeleri, sinovyal doku ve sıvıda ve kırıkta bulunmaktadır. Ek olarak, TNF- α , kırıkta hücre dışı matriks bileşenlerinin üretimini inhibe eder, çeşitli MMP'lerin ve disintegrin ve metallaproteinaz ile trombospondin motifleri (ADAMTS)'nin ekspresyonunu artırır ve çeşitli pro-inflamatuar sitokinlerin, NO ve PGE₂'nin üretimini indüklemektedir (34).

Diğer benzer pro-inflamatuar sitokinlerle sinerji içinde, IL-6'nın eklem kırıkta üzerindeki etkileri, tip II kollajen üretimini uyarmak ve MMP grubundan enzimlerin üretimini baskılamaktadır. IL-6'nın subkondral kemik tabakası üzerindeki etkilere aracılık etmede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (35).

IL-1 β , TNF- α ve IL-6 tarafından uyarılan osteoblastlar, bir IL-6 kaynağı haline gelmekte ve MMP' ler salgılamaktadır, böylece yakınlarda bulunan kıkırdak olumsuz yönde etkilemektedir. Aynı zamanda büyük miktarlarda PGE₂ üretmek için normal kıkırdak ve sinovyal hücreleri de uyarıp kollajenaz düzeylerini artırmaktadır. IL-6, osteoklast farklılaşmasını ve büyümesini uyarıp osteoklast oluşumunu destekleyerek ve osteoklast aktivitesini artırmakta, böylece eklem kıkırdakına zarar vermek için IL-1 β ve TNF- α ile sinerji içinde hareket etmektedir (35).

IL-15, pro-inflamatuar bir sitokin olarak OA inflamasyonuna katkıda bulunmaktadır. Biyokimyasal bir belirteç olarak potansiyel kullanımını inceleyen nispeten az sayıda çalışma yapılmıştır ve birkaç çalışma bunun bir prognostik faktör ve hastalık belirteci olabileceği öne sürülmektedir. Örneğin, diz ve el OA hastaları ve kontrolleri üzerinde yapılan bir çalışmada, IL-15'in başlangıçta OA için asemptomatik olan ve daha sonra bir dekattık izlemde değerlendirilen hastalarda OA gelişimini öngördüğü bulunmuştur. Ayrıca başlangıçta ve takipte, sağlıklı kontrollere kıyasla OA hastalarının serumundaki IL-15 seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir (36).

IL-17, kondrositlerde ve ve sinovyal fibroblastlarda MMP'lerin ve IL-1 β , IL-6 ile TNF- α benzeri diğer pro-inflamatuar mediatörlerin ekspresyonunu indükleyerek doku inflamasyonu ve yıkımına katılan pro-inflamatuar sitokin alt sınıfıdır. Bu, OA'da kıkırdak bozunmasına ve sinovyal infiltrasyona katkıda bulunabilmektedir. IL-17'nin sıçan kıkırdakının sentezini inhibe ettiği ve NO üretimini arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca, OA hastalarının kanında, sağlıklı kontrollere kıyasla IL-17 salgılayan hücrelerin oranının arttığı bildirilmiştir ve OA hastalarının sinovyal sıvısında da yüksek düzeyde IL-17 bulunmuştur (37).

IL-18, IL-1 ile yakından ilişkili bir pro-inflamatuar sitokindir. IL-18 seviyelerinin hem romatoid artrit (RA) hem de OA' daki hastalık aktivitesi ile korele olduğu bulunmuş, ancak RA sinovyal dokusunda IL-18 seviyeleri OA sinovyumundaki IL-18 düzeylerini aşmıştır ve IL-18 reseptörü yalnızca RA hastalarından elde edilen sinovyal mononükleer hücrelerde saptanmıştır. Bununla birlikte, kültürlenmiş kıkırdak ve kondrositlerdeki başlıca biyolojik aktivitesi MMP' lerin, siklooksijenaz-2 (COX-2)'nin ve indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS)' ın yukarı regülasyonu olan IL-1' den farklı olarak, IL-18' in, inflammatuar artropatilerin gelişiminde özellikle anahtar rolü olduğu düşünülmektedir; çünkü IL-12 ve IL-15

veya TNF- α ile kombinasyon halinde interferon-gamayı (IFN- γ) indükleyebilmektedir (38).

IL-32, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α dahil edilmekle birlikte inflamasyona katkı sağlayan diğer sitokinleri indükleyen bir pro-inflamatuar sitokindir. Son kanıtlar, IL-32'nin patojenlere karşı savunmada ve kronik inflamasyonun patogeneğinde önemli bir rolü olduğunu göstermekte olup anormal IL-32 ekspresyonu, RA ve inflammatuar bağırsak hastalıkları gibi çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir ve yakın tarihli bir çalışma, tip 1 diyabetin patogeneğinde IL-32'nin önemini vurgu yapmıştır (39).

IL-32, tipik bir pro-inflamatuar sitokin olarak işlev görür ve Nükleer Faktör-kappaB (NF- κ B) ve p38 mitojen aktif protein kinaz (p38MAPK) sinyal yolunu aktive eder. IL-32, RA hastalarının sinovyal doku biyopsilerinde yüksek oranda eksprese edilirken, OA'lı hastalardan alınan sinovyal dokularda IL-32 saptanmaz (40).

Gui ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise IL-32, RA sinovyal dokularında yüksek oranda eksprese edilirken, OA hastalardan elde edilen sinovyal dokularda zayıf şekilde eksprese edildiği belirtilmiştir (41).

OA' nın patogeneğinde görev alan anti-inflamatuar sitokin grubunun ana temsilcileri IL-4, IL-10 ve IL-13'tür (42).

IL-4, güçlü bir kondoprotektiftir. Birçok çalışmada, IL-4'ün, MMP' lerin salgılanmasını engelleyerek ve ayrıca OA'te görülebilen proteoglikan üretimindeki varyasyonu azaltarak, eklem kıkırdağındaki proteoglikanların bozunması üzerinde engelleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (42).

IL-10, monositik hücreler üzerinde majör etkileri olan en önemli anti-inflamatuar ve immünosupresif sitokinlerden biri olarak bilinmektedir. Hem spesifik hem de spesifik olmayan bağışıklıkta efektör fonksiyonlarından sorumlu olan monositlerin/makrofajların tüm fonksiyonlarını baskılamaktadır. Aslında, IL-10, major histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf II ve yardımcı uyarıcı moleküllerin ekspresyonunu ve en büyük inflammatuar özelliklere sahip araçlar olan IL-1 β ve TNF- α ' nın üretimini engeller (43).

IL-10, IL-1 β ve TNF- α ekspresyonu, MMP' lerin sentezi ve aynı zamanda PGE₂ salınımı üzerinde, eklem kıkırdağını dejeneratif süreçlerden koruma ile sonuçlanabilen bir inhibitör etki sağlamaktadır (44).

IL-13'ün OA'daki bağışıklık tepkisi, eklem kıkırdağı ve sinovyum hücreleri üzerindeki anti-inflamatuar ve kondoprotektif etkileri oldukça iyi anlaşılmıştır. OA

bağlamında IL-13' ün anti-inflamatuar etkisi, sinovyumda bulunan fibroblastlar açısından en önemli gibi görünmektedir. Bununla birlikte, anti-inflamatuar sitokinlerin salgılanmasının inhibisyonuna dayanan anti-inflamatuar özelliklerin, makrofajlar, monositler, B lenfosit, doğal öldürücü hücreler (NK) ve endotel hücreleri gibi hücrelerle de ilgili olduğu unutulmamalıdır (42).

Hem P maddesi hem de onun parçalarının, kondrositler üzerinde, hücre içi kalsiyumu harekete geçirip potasyum iletkenliğini artırarak kondrosit membran potansiyelini değiştirmesi beklenir, ancak bunun patofizyolojik temeli hala kurulamamıştır. Zar potansiyeli de kondrosit işlevine sıkı bir şekilde bağlı olduğundan, P maddesinin kondrosit işlevinde değişikliklere sebep olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, P maddesinin kondrositlerden PGE₂ salınımını artırdığı gösterilmiştir (45).

Kalsitonin geni ile ilişkili peptidin (CGRP) pro-inflamatuar etkilere sahip olduğu düşünülmektedir. RA'lı hastaların diz ekleminden alınan sinovyal sıvıda hem nöropeptid Y (NPY) hem de CGRP düzeylerinin sağlıklı kontrollere kıyasla yüksek olduğu belgelenmiştir. Bununla birlikte sinovyal sıvıda bulunan TNF- α ve IL-6 gibi sitokinler sinovyal hücrelerden nöropeptidlerin salınmasında rol oynayabilmekte ve dahası dokudaki nöropeptidlerin artan konsantrasyonları, bağışıklıkta rol alan hücrelerde sitokin üretimini uyarabilmektedir (46).

İnsanlardan alınan çeşitli eklem dokularında OA ağrısı ve CGRP protein seviyeleri arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir ve özellikle diz OA'lı hastalarda menisküslerin dışında ve ağırlı kalça OA'lı hastalarda eklem kapsülünde CGRP pozitif (CGRP+) sinir lifleri artmıştır. Ayrıca, OA hastalarının sinovyal dokusunda CGRP ekspresyonu da artmaktadır; bununla birlikte, sinovyal dokuda ağrı ve CGRP ekspresyonu arasındaki ilişki insan OA'sında henüz tam manada anlaşılmamıştır (47).

Vazoaktif intestinal peptit (VIP), immün regülatör, vazodilatör ve sekretagog olarak pleiotropik etkilere sahip bir nörotransmitterdir. Ayrıca, kemik metabolizmasını, sirkadiyen ritmi ve embriyo gelişimi düzenler ve bağışıklık modülatörü olarak önemli rol alır. Bunun yanında eklem iltihabını kontrol etmeye odaklanan VIP, TNF- α , IL-1 ve 6 gibi pro-inflamatuar mediatörlerin üretimini engelleyen bir makrofaj deaktive edici faktör olarak işlev gördüğü için dual bir rol oynayıp anti-inflamatuar sitokinlerin yapımını artırmaktadır (48).

Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β (TGF- β)' nın ESM sentezini uyardığı akut kırıkta yaralanmalı tavşan modellerinde in-vitro olarak değerlendirilmiştir. TGF- β ' nın kondrosit aktivitesini uyardığı ve IL-1'in katabolik aktivitesini ise azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca in-vitro TGF- β , kemik iliğinden türetilmiş mezenkimal kök hücrelerin kondrojenizini uyarmaktadır (49).

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), güçlü bir anjiyogenik faktör ve iskelet gelişimi ve kemik remodellinginde anjiyogenezin kritik bir düzenleyicisidir ve VEGF'nin OA patogeneğinde aktif bir rol aldığından kuşulanılmaktadır. VEGF aracılı anjiyogenez, vaskülogenez, damar permeabilitesini düzenleyip iskelet gelişiminde ve onarımda önemli görev üstlenmektedir. Bununla birlikte hem plazma hem de sinovyal sıvılardaki yüksek VEGF seviyelerinin, diz osteoartritinin radyografik şiddeti ile pozitif yönde korelasyon gösterdiğini destekler kanıtlar vardır, bu da OA kırıkta VEGF ekspresyonunun arttığını düşündürmektedir. Böylelikle subkondral kemikten eklem kırıkta damarların büyümesini uyarak OA ilerlemesine katkıda bulunabilmektedir (50).

2.1.3. Osteoartrit Tedavisi

OA, dejeneratif bir hadise olarak kabul edilmiştir. Terapötik hedefler klasik olarak ağrı ve fonksiyon kaybı gibi semptomları azaltmayı ve hastalığın daha fazla ilerlemesini sınırlandırmayı amaçlamıştır. OA'nın yönetimi şu şekilde ayrılabilir: Non- farmakolojik tedaviler, farmakolojik tedaviler ve cerrahi müdahaleler (51).

2.1.3.1. Non-farmakolojik tedavi

Non-farmakolojik tedaviler diyet, kilo verme, kara ve su içi egzersiz ile fiziksel tıp ve rehabilitasyon modalitelerinden oluşmaktadır (52).

2014 yılında yapılan bir kapsam incelemesinde kilo kaybının kadınlarda OA riskini azalttığı gösterilmiştir. 10 yıllık bir süre boyunca ağırlıkta 5,1 kg'lık bir azalmanın, kadınların semptomatik diz OA geliştirme olasılığını % 50 oranında azalttığı gösterilmiştir. Başlangıçvücut kitle kitlesi (VKİ) 25 kilogram/metre kare (kg/m^2)'den yüksek olan bireylerde kilo kaybı, OA riskinde önemli bir azalma ile ilişkilendirilmiştir. Bunun en önemli nedenlerinden biri, kilo kaybının eklem üstüne binen yükleri azaltması ile ilintisi olmasıdır (53).

Kilo kaybını kolaylaştırmak, eklem hareket açıklığını (EHA) korumak, kas gücünü artırmak, fonksiyonelliği iyileştirmek ve semptomları azaltmak için OA'da egzersizler reçete edilebilmektedir. Egzersiz yapabilen OA'lı kişilerin aerobik egzersiz programına katılmaları tavsiye edilmektedir. Ayrıca su içi egzersizler, vücudun kaldırma kuvveti dizin taşınması gereken basınç yükünü azalttığı için karada yapılan egzersize göre tercih edilebilmektedir (54).

Fizik tedavi modaliteleri (Tablo 1) osteoartritte sıklıkla uygulanmaktadır.

Tablo 1. Osteoartrit Tedavisinde Kullanılan Fizik Tedavi Modaliteleri

• Transkütanöz Elektriksel Sinir Stimülasyonu (TENS) • İnterferansiyel Akım • Yüzeyel Isıtıcılar • Soğuk Tedavisi • Terapötik Ultrason (US) • Kısa Dalga Diatermi (KDD) • Lazer • Manyetik Alan Tedavisi • Vücut Dışından Uygulanan Şok Dalga Tedavisi (ESWT) • İyontoforez ve Fonoforez • Balneoterapi

Transkutanöz elektriksel sinir stimülasyonu (TENS), akut ve/veya kronik ağrılı durumların tedavisinde başvurulmuş ucuz bir non-farmakolojik tedavi modalitesidir. TENS'in metodolojisi üzerine sistematik incelemeler yapılmıştır. Bazılarının TENS kullanımı için etkili olduğunu ve bazılarının hiç etkisi olmadığını göstermesi nedeniyle çelişmektedir. Bunun sebebi ise çalışmalara dahil edilen popülasyonun homojenliği, TENS dozu ve uygulama şekli (yani, TENS elektrotlarının yeri, sıklığı ve yoğunluğu) açısından tutarlılık olmayışıdır (55).

İnterferansiyel akımın (IFC) temel ilkesi, ilişkili sinirlerin düşük frekanslı elektriksel uyarımının önemli fizyolojik etkilerinden yararlanmaktır (56). IFC, transkutanöz uygulamalardan oluşur ve önemli analjezik özellikleri vardır. Stimülasyonu ağrı algısını kontrol etmektedir ve bazı çalışmalarda diz OA'lı hastalarda IFC kullanımının eklem ağrısını ve fonksiyonunu iyileştirdiğini göstermiştir (57). Örneğin, Atamaz ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmalarında

plaseboya nazaran, IFC tatbik edilen grupta 6 aylık izlem sonucunda asetaminofen alımının anlamlı olarak daha düşük saptanması, interferansiyel akımın ağrı üzerindeki etkisini destekler niteliktedir (58).

İn-vivo çalışmalar parafin banyosu tedavisinin eklem kapsülünde 7,5⁰C ve kasta 4,5⁰C sıcaklık artışlarına neden olduğunu göstermiştir. Bu sayede arteriyollerdeki düz kas liflerini gevşetme gibi lokal bir etki meydana gelir ve bu periferik kan damarlarında vazodilatasyona neden olur. Böylelikle hiperemi, doku sıvısının transdüksiyon ve lenf akımının artışı gerçekleşmektedir (59).

Aksoy ve arkadaşlarının semptomatik el OA hastalarında ev egzersizi ile parafin banyosunun kombine ettiği çalışmalarında kısa vadede parafinin ağrı kontrolü ve fonksiyonellikte artış sağladığı bildirilmiştir (60).

Fluidoterapi, kuru ısıtma sağlamakta olup bu ısıyı konveksiyon yoluyla yumuşak dokulara iletmektedir. Isıtma, kuru havada sentetik selüloz parçalar ile sağlanmaktadır. El OA olgularının tedavisinde parafin ve ultrasondan sonra en çok tercih edilen termal yöntemin fluidoterapi olduğu bildirilmektedir. Fluidoterapi ve parafin banyosunu karşılaştıran Öncel ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, her iki tedavinin de el OA hastalarında ağrı, kas kuvveti, fonksiyonel durum ve yaşam kalitesi üzerinde olumlu etkileri olduğu bulunmuştur (61).

Bir başka yüzeyel ısıtıcı olan kızılötesi tedavi (IR), 750 nanometre (nm) ile 1 mm dalga boyu aralığında, NO üretimini uyarabilmekte ve bu sayede inflamatuvar yanıtı, doku onarımını artırabilmektedir. IR, özellikle yüksek kollajen içeriğine sahip dokulardan emilmektedir (62). Stelian ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada diz ile kalça OA'sında IR terapisinin ağrıyı azaltıp eklem fonksiyonelliğinde pozitif yönde fayda sağladığı gösterilmiştir (63). Ancak bu sonuca karşın İsveç kaynaklı bir çalışmada, el OA olguları için IR tedavisinin etkinliği ile ilgili istatistiksel bir anlam elde edilememiştir (64).

Akut inflamasyonda soğuk uygulamalar iyi sonuç verebilmektedir. İhtiyaca göre 3 ila 4 saatte bir, 15 ila 20 dakika boyunca etkilenen bölgeye uygulanan buz paketleri veya buz masajından oluşmaktadır. Raynaud fenomeni, soğuğa karşı aşırı duyarlılığı ve kriyoglobulinemisi olan hastalar le iskemi veya vazospazm riski taşıyan hastalarda soğuk uygulamalar kontrendikedir (65). Ülkemizde yapılan diz OA' lı olguların alındığı bir çalışmada sıcak ve soğuk uygulamalar karşılaştırılmış, uygulama öncesi ve sonrası ağrı, yaşam kalitesi ve fonksiyonellik skorlanmıştır. Hem lokal sıcak hem de soğuk uygulamaların ağrı, fonksiyonel durum ve yaşam

kalitesinde hafif düzelme sağladığı ancak bu düzelmenin gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark yaratamadığı görülmüştür (66).

Terapötik US en yaygın ve sık kullanılan elektrofiziksel ajanlardan biridir. Altmış yılı aşkın bir süredir klinik kullanıma rağmen, ağırlı, kas ve iskelet yaralanmalı ve yumuşak doku lezyonu bulunan hastaları tedavi etmedeki etkinliği tartışmalıdır (67). Terapötik US, diz OA'sında termal etkileri sayesinde ağrıyı azaltmada ve fiziksel fonksiyonları iyileştirmede etkili olabilmektedir. Ayrıca US, kesikli modu ile non-termal etkileri için de kullanılabilir. Non-termal etkiler biyolojik, mekanik ve kimyasal olabilmektedir. Ayrıca, bazı çalışmalar, sürekli US ile karşılaştırıldığında, kesikli mod ve düşük yoğunlukta yapılan US' un ağrı sağaltımı üzerinde daha fazla etkili olduğunu bildirmiştir (68).

Kısa dalga diatermi (KDD), sürekli ya da darbe modda iletilen 27.12 MegaHertz (MHz)'de elektromanyetik radyasyon kullanan non-invazif bir tedavi yöntemidir. KDD, farmakolojik temelli ağrı tedavilerine bir alternatif veya yardımcı tedavi olma ve bunun yanında evde kullanılan bir ağrı tedavisi olma olasılığına sahiptir (69). Nugraha ve arkadaşlarının diz OA'lı hastaları ile yaptıkları çalışmada egzersiz ve KDD kombine edilmiş ve tedaviden hemen sonra ağrıda azalma ve fonksiyonellikte artış olduğu görülmüştür (70). Ayrıca Jan ve arkadaşlarının yapmış oldukları akut diz OA'lı hastaların alındığı bir çalışmada 10 seans kesikli KDD tedavisi sonucunda ultrasonografik olarak sinovitin gerilediği ve sinovyal kalınlığın azaldığı ortaya konulmuştur (71). Ancak Callaghan ve arkadaşlarının yaptıkları, sinoviti sintigrafik yöntemlere başvurarak değerlendirdikleri çalışmalarında ise, kesikli KDD tedavisinin yararlı bir etkisinin görülmediği bildirilmiştir (72).

Düşük yoğunluklu lazer tedavisi (LLLT), kas-iskelet ağrısının kontrolü ve inflamatuvar sürecin düzenlenmesi için kullanılan bir başka elektrofiziksel ajandır. IL1- β ve COX-2'yi azaltır, böylece PGE₂ seviyelerini düşürür, ayrıca fotokimyasal ve fotobiyolojik özellikler yoluyla osteoartrit sürecindeki osteomiyoartiküler değişikliklerin modülasyonunu sağlayıp kıkırdığın metabolizmasını değiştirir, proteoglikanların, mukopolisakkaritlerin ve kollajen liflerinin sentezini artırır, eklem dokusunun yapısal organizasyonunu ve böylelikle devam eden dejeneratif süreci iyileştirir. Böylece diz OA'lı hastalarda ağrıyı azaltır ve fonksiyonun iyileşmesini sağlamaktadır (57). Geçtiğimiz on yılda, yüksek yoğunluklu lazer tedavisi (HILT) yeni bir tedavi şekli olarak uygulanmaktadır. HILT tedavisinde, yüksek tepe gücüne yani 3 veya 1 kiloWatt'a (kW) sahip neodimyum katkılı itriyum alüminyum granat

lazerleri kullanmakta olup 1064 nm dalga boyuna sahip lazer, tedavinin etkinliğini sağlamak için radyasyonu derin dokuya iletir. Bu sayede HILT'in LLLT'ye göre avantaj sağlamaktadır ve daha yüksek çıkış gücü nedeniyle HILT daha derin dokuları uyarabilmektedir (73). Ancak literatürde yeterli düzeyde randomize kontrollü çalışma yoktur. Bu da hangi dozda veya sürede, eklem üzerine mi yahut sinirin uzanımı süresince mi uygulama yapılması ve dahası hangi alana uygulanması gerektiği hususunda kesin bir şey verememektedir.

Pulsasyonlu elektromanyetik alan tedavisi (pEM), 6 ila 500 Hertz (Hz) arasında değişen spektrumdaki frekansları kullanmaktadır. pEM tedavisi, kas-iskelet hastalıklarının tedavisi için non-invazif bir fizik tedavi ajanı olarak kabul edilmektedir (74). Özgüçlü ve arkadaşlarının diz OA'lı hastalarda yaptıkları plasebo kontrollü çift kör çalışmalarında, geleneksel fizik tedavi ajanlarına (sıcak paket, terapötik US ve egzersiz) pEM eklenmiştir. Hastalar 5 seans, seans başı 30 dakika (dk) şeklinde pEM tedavisi almış ve vizüel analog skala (VAS), Batı Ontario ve McMaster Üniversiteleri Osteoartrit İndeksi (WOMAC) ağrı, tutukluk ve fonksiyonellik skorlarında istatistiksel anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (75). Wuschech ve arkadaşlarının kısmi randomize plasebo kontrollü çalışmalarında ise diz OA'lı hastalar rastgele gruplara ayrılarak 18 gün, günde 2 kez 5'er dk'lık pEM tedavisi verilmiştir. Tedavi sonrası değerlendirmede WOMAC ağrı, sertlik ve günlük aktiviteler skorlarında istatistiksel anlamlı bir fark olduğu ortaya konulmuştur (76).

Vücut dışından uygulanan şok dalga tedavisi (ESWT), son yıllarda ağrı kesmek amacıyla kas-iskelet sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Non-invazif olup komplikasyon oranı düşüktür, hastaneye yatış gerektirmemekte olup diğer konservatif ve cerrahi yaklaşımlara nazaran düşük maliyetlidir (77). Hsieh ve arkadaşlarının 9 çalışma ve 705 hastayı inceledikleri bir meta-analiz çalışmasında ESWT'nin kontrol gruplarına göre tedaviden 2 hafta ve 6 ay sonra VAS skorları araştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma sağladığı ve ayrıca WOMAC fiziksel fonksiyonellik skorlarında tedaviden 4 ila 6 hafta sonra istatistiki bağlamda anlamlı bir azalmanın görüldüğü sonucuna varılmıştır (78). Wang ve arkadaşlarının meta-analizinde de 12 aylık kontroller neticesinde ESWT tedavisinin VAS skoru ve WOMAC fiziksel fonksiyon skoru üzerinde anlamlı iyileşmeler sağladığı bulunmuştur. Ancak, bununla birlikte, maksimum iyileşmeyi sağlamak için gerekmekte olan ESWT tedavi sıklığı ve dozu hususunda net bir görüş bulunmamaktadır (79).

Literatür incelemesi neticesinde OA' da iyonto ve fonoforez için yapılmış çalışma sayısının nispeten az olduğu görülmektedir. Doksan diz OA'lı fonoforez çalışmasında hastalar iki gruba ayrılmış ve ilk gruba konvansiyonel tedavi ve deksametazon fonoforez tedavisi, ikinci gruba ise aynı konvansiyonel tedavi ve terapötik US verilmiştir. Tedaviler neticesinde deksametazon fonoforez grubunda ağrı ve fonksiyonellikte daha belirgin düzelme olduğu görülmüştür (80). Ayrıca yakın tarihli bir sıçan çalışmasında katyonik ketoprofen kolin klorür ön-ilacı ve ketoprofen kullanılmıştır. Sıçan diz eklemine monosodyum iyodoasetat enjeksiyonu ile diz OA modeli oluşturulmuş ve ağrı ile inflamasyon düzeyleri araştırılmıştır. Ağrı, arka pençe ağırlık taşıma çalışması, inflamasyon ise diz çapı ile ölçülmüştür. Sıçan diz eklemine ketoprofen kolin klorürün anodal iyontoforezi ile tedavisi kontrol grubuna kıyasla önemli derecede ağrı ve inflamasyonda azalma gösterirken, ketoprofenin katodal iyontoforezinden elde edilen tedavi sonuçların kontrol grubundan farklı olmadığı görülmüştür (81).

Balneoterapi ve kaplıca tedavisinin etkinliğini inceleyen bir meta-analiz çalışmasında diz OA'lı hastaların yaşam kalitesinde anlamlı iyileşmeler olduğunu göstermiş. Ayrıca sınırlı mevcut veriler nedeniyle yeni araştırmalar ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır (82).

2.1.3.2. Farmakolojik Tedavi

OA' nın farmakolojik tedavisi, hastanın tedaviye cevabı ve uyumu, advers etkiler ile hastalığın gidişatına göre belirlenmektedir. OA'da süreci kesin olarak durdurucu ve/veya yavaşlatıcı özgün, köktenci bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. OA tedavisinde yer alan farklı birden fazla farmakolojik tedavi modalitesi (Tablo 2) yer almaktadır.

Tablo 2. Osteoartrit Tedavisinde Kullanılan Farmakolojik Tedaviler

- Asetaminofen (Parasetamol)
- Non-steroidal Anti-İnflamatuar İlaçlar (NSAİİ)
- Topikal NSAİİ ve Kapsaisin
- Opioid Analjezikler
- Serotonin ve Noradrenalin Geri Alım İnhibitörü (Duloksetin)
- İntra-artiküler Kortikosteroid Enjeksiyonu
- Hastalık Modifiye Edici Osteoartrit İlaçları
- İntra-artiküler Hyalüronik Asit Enjeksiyonu

Tarihsel olarak, asetaminofen OA'da hafif ila orta şiddette ağrı tedavisinde birinci basamak ajan olarak kullanılmıştır. Asetaminofenin etki mekanizması karmaşık olup hem periferik COX-1 ve 2 inhibisyonu hem de azalmış serotonerjik nöronal yolların bağımsız, merkezi uyarılabilirliğini, L-arginin/NO yolunun inhibisyonunu, endokannabinoid sistemin uyarılmasını ve anti-nosisepsiyon mekanizmalarını içerir (83).

Asetaminofen dünyada en yaygın kullanılan analjeziktir. Sözde etkinliği ve iyi güvenlik profili nedeniyle EULAR, Uluslararası Osteoartrit Araştırma Topluluğu (OARSI) ve Amerikan Romatoloji Cemiyeti (ACR)'nin ilk tavsiyelerinde temel tedavi olarak kabul edilmektedir (84).

Asetaminofenin standart dozajı, yetişkinlerde 3 gr/gün veya ağrı şiddetliyse veya 3 grama yanıt alınamıyorsa 4 gr/gün şeklindedir (85). Hepatotoksitesi ve aşırı doza bağlı karaciğer yetmezliği üzerindeki önemli yükü sebebiyle asetaminofen kullanımına ilişkin klinik endişeler duyulmaktadır (86).

Hem OARSI hem de EULAR kılavuzları, asetaminofen semptomları yeterince kontrol etmiyor ve inflamasyon belirtileri varsa non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlara (NSAİİ) geçilmesini önermektedir. NSAİİ'lerin kullanılması karar alındıktan sonra, OARSI ve EULAR kılavuzlarının her ikisi de en düşük etkili dozu ve artmış gastrointestinal riski olan hastalarda proton pompa inhibitörleri (PPI) gibi bir mide koruyucu ajanın düşünülmesini önermektedir. Ayrıca, kılavuzların

tümü, NSAİİ tedavisine başlandıktan sonra hastaların kişisel olarak izlenmesini de önermektedir (87).

NSAİİ'ler, prostaglandin, prostasiklin ve tromboksanların üretimi için hız sınırlayıcı olan COX enzimlerini inhibe etmektedir. Bu sebeple NSAİİ'lerin olumsuz gastrointestinal yan etkileri olabilmekte ve OA'yı tedavi ederken dozlarını azaltmak için çok sayıda çaba sarf edilmektedir. Bununla birlikte tedavi için tek ve en iyi NSAİİ belirlemek için yapılan kapsamlı bir meta-analiz çalışmasında, diklofenak 150 miligram/gün (mg/gün) dozunun, ağrıyı tedavi etmede ve kalça ve diz OA'sı için fonksiyonelliği iyileştirmede en etkili NSAİİ olduğu gösterilmiştir (86).

Topikal NSAİİ'ler, oral NSAİİ'lerle aynı etki mekanizmasıyla analjezi sağlamakta, ancak etkili aktivitenin uygulama bölgesiyle sınırlı olması amaçlanmaktadır. Bir jel veya yama formülasyonu ile NSAİİ maruziyeti, oral NSAİİ'lerden daha düşüktür (88).

Kapsaisin gibi topikal ajanlar, bazı ilaçların sistemik yan etkileri kabul edilemez olduğunda bir seçenek olarak düşünülebilmektedir. C tipi afferent liflerin vaniloid bileşik reseptörü 1' e (TRPV1) seçici olarak bağlanır ve sinaptik aralıkta P maddesini arttırmaktadır. Kapsaisin'in sürekli kullanımdan sonra hem P maddesinin nöronal tükenmesi hem de birincil afferent liflerin geri dönüşümlü ve seçici yıkımı nedeniyle kalıcı desensitizasyon ve analjezi meydana gelmektedir (89).

Tramadol, asetaminofen ve/veya NSAİİ'ler yeterli analjezik etki sağlamadığı zaman orta ila şiddetli akut ve kronik ağrının tedavisi için giderek daha fazla önerilen düşük seviyeli bir opioid ajandır (90). Önerilen tramadol dozu, gerektiğinde her 4 ila 6 saatte bir 50 ila 100 mg'dır. Günlük iki veya üç kez düzenli uygulama önerilmekte, ancak toplam günlük doz 400 mg'ı geçmemelidir. Yaşlı hastalar, gençlere nazaran daha uzun bir eliminasyon yarılanma ömrü ve dolayısıyla bir miktar yükselmiş serum tramadol konsantrasyonu sergileyebilmekte ve maksimum doz bu popülasyonda 300 mg olarak önerilmektedir (91).

Duloksetin, depresyon tedavisinde kullanılan selektif bir serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörüdür (SNRI). Kronik ağrı durumları ile serotonin ve norepinefrin sisteminin işlev bozukluğu arasındaki ilişki nedeniyle, duloksetin artık OA ağrısı, fibromiyalji, diyabetik periferik nöropatik ağrısı dahil olmak üzere kronik ağrı durumlarında yaygın olarak kullanılmaktadır ve çalışmalar, duloksetinin OA ağrısının tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir (92,93).

Diz OA sebebiyle VAS skoru orta ya da ileri düzeyde olan ancak oral tedaviye cevap alınamayan hastalara intra-artiküler kortikosteroid enjeksiyonları uygulanabilmektedir. Bu grup ilaçlar ağrı ve inflamasyonun sağaltımı için verilebilmektedir. İntra-artiküler uygulamalarda kontrendikasyon oluşturabilecek haller dikkatlice değerlendirilmeli, uygulamanın aseptik bir şekilde yapılmasına özenilmeli ve sene içinde aynı ekleme 3 veya 4 kereden fazla yapılmamalıdır. Semptomlarda hızlı bir düzelme sağlayan bu grup ilaçların VAS skoru için kısa süreli (1 ila 4 hafta) etki etmesi mükerrer enjeksiyon ihtiyacını ortaya çıkarmakta ve bu sebeple uzun vadeli olarak OA tedavisinde yetersiz gibi gözükmektedir. OA alevlenmelerinin sağaltımında kısa süreyle kullanımı uygundur. Ağırılık taşımakta olan eklemlere yapılan girişimlerden sonra üç gün müddetle istirahat edilmesi enjeksiyonun etkinliğini artırabilmektedir (94,95).

ESM ve kondrositlere yönelik denemeler, kartilajda katabolizma ve anabolizma homeostazisini dengelemek amaçlı olmuştur. Bu yönde ESM'yi ve kondrositleri koruyarak yıkımı yavaşlatan, modifiye eden maddelere 'Kartilaj/Kondrosit Koruyucu Ajanlar' denilmektedir ve histopatolojik düzeydeki iyileşmenin klinik yansıması hastalık semptomlarının baskılanmak suretiyle klinik iyileşmenin sağlanması şeklindedir ve bu nedenle semptomatik iyileşme de sağlayan bu moleküller, hastalık modifiye edici osteoartrit ilaçları (DMOAD) başlığı altında toplanmaktadır. Bu grup ilaçlara hiyaluronan, glukozamin, sülfatlanmış polisakkaritler ve kondromukoproteinler, metilsülfonilmetan ve diaserin örnek verilebilmektedir (96).

Intra-artiküler hiyalüronik asit enjeksiyonu, intra-artiküler kortikosteroidlerle ilişkili sistemik yan etkiler olmaksızın semptomatik fayda sağlayan alternatif bir lokal tedavi seçeneği sunmaktadır. Çok sayıda randomize kontrollü çalışma ve meta-analiz, bu tedavinin etkililiğini ve güvenliğini, değerlendirmeye çalışmıştır. İntra-artiküler hyaluronik asit enjeksiyonunun ağrı ve eklem fonksiyonu üzerinde olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (97).

2.1.3.3. Cerrahi Tedaviler

Eklem ağrısının diğer yöntemlere karşı yanıtız kaldığı durumlarda cerrahi müdahaleler gündeme gelebilmektedir. OA'da elektif ortopedik cerrahi için primer neden şiddetli ve kontrol altına alınamayan ağrılardır. Sekonder neden ise kaybolan

eklem fonksiyonunun yeniden kazandırılması şeklindedir. Uygulanan cerrahi yöntemler; eklem farelerinin eksizyonu, eklemin stabilize edilmesi, eklemdaki kuvvetlerin yeniden düzenlenmesi ve eklem artroplastisidir. Artroskopik girişim ise genellikle ayırıcı tanıya yönelik yapılmaktadır (2).

Osteoartrit uzun süredir bilinen, patogenezi aydınlatılmaya çalışılan bir hastalıktır ve müdahaleler OA'yı kesin olarak tedavi etmede yetersiz kalmaktadır. Hastalar ağrı ve fonksiyonellikte azalmaya maruz kalmaktadırlar. OA tedavisinde son zamanlarda US uygulamalarının kondrositler üzerinde anti-inflamatuar ve proliferasyonu artırıcı etki sağlayabileceği birçok hücre ve hayvan deneyi sayesinde kanıtlanmıştır. Fizik tedavi modalitesi olarak günlük pratikte sıklıkla başvurduğumuz terapötik US' un, kondrosit hücrelerinde inflamasyonu azaltıp proliferasyonu artırıyor olması OA tedavisi için yeni bir umut oluşturabileceğini düşündürmektedir. Anılan fizik tedavi modalitesinin kondrositler üzerinde anti-inflamatuar ve proliferatif etkisi, yapılan birçok araştırma ile ortaya konulmaya çalışılmış fakat yeterli kanıt düzeyi elde edilememiştir.

2.2. Terapötik Ultrason

2.2.1. Ultrasonun Tarihçesi

Ultrasonun terapötik uygulamaları, görüntüleme tekniği olarak faydalanılmasından önce gelmektedir. 1927 yılında ultrasonun biyolojik sistemlerde kalıcı değişiklikler yaratabileceği kabul edilmiş ve bu tarih ultrason tedavisinin başlangıcı olarak kabul edilebilmektedir. Ultrasonik enerjinin emilimi, doku ısınmasına yol açar ve bu, birçok koşulda terapötik amaçla kullanılmaktadır. Daha yakın zamanlarda ise, ultrason dokudan geçerken oluşan non-termal etkilerden de fayda sağlanabileceği anlaşılmıştır (98).

2.2.2. Ultrason Dalgalarının Fiziksel Özellikleri

Ultrason, insan işitme aralığının yani geleneksel olarak 20 kiloHertz (kHz) üzerindeki frekanslarda yayılan mekanik bir dalgaya karşılık gelmektedir. Ultrason ve ses dalgaları sıvılar, gazlar ve katılarda yayılmaktadır (99).

Çoğu tıbbi ultrason ekipmanı, 1 ila 15 MHz arasındaki ultrasonik frekans aralığında çalışmaktadır. Örneğin; terapötik (fizik tedavi, yüksek frekans odaklı ultrason ve ablasyon) uygulamaları 1 MHz civarında çalışırken, abdominal, obstetrik

ve jinekolojik ultrasondaki ve ekokardiyografideki çoğu tanısal uygulama için frekans aralığı genellikle 2.5 ile 7.5 MHz arasındadır, tiroid ve göz gibi yüzeysel vücut parçaları ve ultrasonun vücuda çok derinlemesine nüfuz etmesinin gerekli olmadığı uygulamalar için ise 7.5–15 MHz aralığında daha yüksek ultrasonik frekanslar kullanılabilir (100).

US, probundaki kristallere yüksek frekansta alternatif akımın verilmesi ile oluşmaktadır. Kristal, piezoelektrik özellikli bir maddeden oluşmakta olup ses enerjisini elektrik enerjisine dönüştürmektedir. Kristallerden alternatif elektrik akımı geçtiğinde özgül frekansta titreşim oluşmakta ve bu amaçla kuvarz ve sentetik kurşun zirkonyum titanat (PZT) kullanılabilir (100). Kristal, yüksek frekanslı elektrik enerjisi verilmesi sonucunda şeklen değişikliğe uğrayarak US probunda titreşim oluşturur. US dalgaları kaynaktan çıktıktan sonra öncesinde konverjan daha sonra da diverjan yayılım özelliği göstermektedir. Konverjan bölge yakın alan (Fresnel bölgesi), diverjan bölge de uzak alan (Fraunhofer bölgesi) olarak adlandırılmaktadır. Ultrason ışınlarının karışması yakın alanda ultrason yoğunluğunda çeşitliliğe sebebiyet vermektedir. Uzak bölgede ise ışınlar daha az dağılıp US yoğunluğunda daha muntazam bir dağılımla sonuçlanmaktadır (101).

2.2.3. Terminoloji

2.2.3.1. Güç (Power)

Birim zamandaki ses enerjisi miktarı olup birimi Watt'tır(W).

2.2.3.2. Şiddet-Yoğunluk (Intensity)

US probunun birim alanının üretilen güç olarak tanımlanabilir. Birimi Watt/santimetre² (W/cm²)' dir. Tanısal amaçlı ultrason yoğunlukları genellikle 0.0001-0.05 W/cm² arasındadır. Bu, terapötik (0,5 ila 3 W/cm²) veya cerrahi amaçlı ultrasona (>10 W/cm²) uygulamaları için gereken yoğunluktan önemli derecede daha azdır (102).

2.2.3.3. Uzaysal Ortalama Geçici Yoğunluğu (SATA)

Kesikli modda tedavi esnasındaki ortalama gücü, uzaysal ortalama geçici yoğunluğu ifade etmektedir (101).

2.2.3.4. Uzaysal Ortalama Geçici Pik Yoğunluğu (SATP)

Kesikli modda tedavi süresince maksimum gücü, uzaysal ortalama geçici pik yoğunluğu temsil etmektedir ve SATP değerinin görev döngüsü ile çarpımı SATA'yı vermektedir (101).

2.2.3.5. Frekans

Her bir saniyede tamamlanan dalga dizilerinin sayısı olup birimi MegaHertz (MHz)'dir. US' nun prob bölümünde 1 ya da 3 MHz titreşim oluşturan titreşim kaynağı bulunmaktadır. Frekans ultrasonun dokulara penetrasyonunu belirlemektedir (101).

2.2.3.6. Devamlı (Continious) Ultrason

US enerjisi tedavi süresi boyunca üretilmektedir.

2.2.3.7. Kesikli (Pulsed) Ultrason

Tedavi esnasında US üretimi aralıklı olarak kesilip tekrar verilmektedir.

2.2.3.8. Görev Döngüsü (Duty Cycle)

US üretimi yapılan sürenin toplam tedavi süresine oranlanmasıdır. Örneğin sürekli US uygulamasında bu oran 1:1 yani %100'dür. Görev döngüsü %10 olan kesikli US 'da cihaz 1 milisaniye (ms) boyunca US enerjisi üretirken 9 ms süresince üretmez.

2.2.3.9. Işık Değişkenliği Oranı [Beam Non-Uniformity Ratio (BNR)]

Spasyal maksimal yoğunluğun, spasyal ortalama yoğunluğa oranı olarak açıklanabilir. US ışınları uzunlamasına aks boyunca bağdaşık olarak uzanmamaktadır. US probunun yüzeyinden uzaktaki noktalarda diğerlerine nazaran daha yoğundur. Işınının değişkenliği, böylelikle dokuda oluşabilecek en yüksek şiddet BNR ile belirlenmektedir. Bu oran yüksek olduğu takdirde doku hasarı riski de yüksek olmaktadır. Pratikte 1:1 oranını elde etmek imkan dahilinde değildir ve birçok US cihazında bu oran 5:1 ila 6:1 aralığındadır. En iyi cihazlarda ise 2:1 oranındadır. Amerikan Gıda ve İlaç Komitesi (FDA), US cihazlarında probun

maksimal BNR değerinin ifade edilmesi şartını koşmuştur. Yüksek BNR ile ilişkili olan yüksek pik yoğunlukları US tedavisi sonrasında oluşan ağrı ve rahatsızlık hissinin çoğundan sorumlu tutulmaktadır. Bu gibi durumlara mahal vermemek maksadıyla, tedavi esnasında US probunun devamlı olarak hareketi önerilmektedir (101).

2.2.3.10. Etkin Işınım Alanı [*Effective Radiating Area (ERA)*]

US tedavisinde toplam enerji, uygulanan probun etkin ışınlama alanıyla (ERA) ilintidir. US kullanılmak suretiyle tedavi edilecek uygun alan ERA'nın iki ila üç katıdır. Bu fikri desteklemek adına yapılan bir araştırmada 1,5 W/cm², 1 MHz ve 10 dk süreyle US uygulaması sonrası kasta ulaşılan pik sıcaklık ölçülmüş ve tedavi alan 20 kişi olmak üzere 2 ve 6 ERA'lık iki grup belirlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında 2 ERA'lık grupta 3,6°C' lik artış saptanırken, 6 ERA'lık grupta ise 1,1°C' lik artış olduğu görülmüştür. Varılan sonuç US'un küçük sahaların tedavisinde daha etkili olduğunu gösterir nitelikte olmuştur (101).

2.2.3.11. Yarı Derinlik (*Half Depth*)

Örneğin yumuşak dokuda 3 MHz'de yarı derinlik değeri (yani yüzey enerjisinin yarısının ışında kaldığı derinlik) 1.5-2.0 santimetre (cm)'dir. Akut ödematöz tedavide 3 MHz' lik bir frekans da 1 MHz' den daha güvenilirdir, çünkü frekans artarsa stabil olmayan kavitasyon riski azalacaktır (103).

2.2.3.12. Ara Madde

Ses dalgasının biyolojik dokuya doğru bir şekilde ulaşması için prob ile hastaya temas eden kısım arasındaki hava tabakasını ortadan kaldırmak mecburidir, çünkü hava ultrasonik dalganın neredeyse tamamını yansıtır. Bu sorun ara madde ile aşılır (104).

2.2.3.13. Prob Hızı ve Açısı

Uygulama yapılacak dokuya US dalgasının belirli bir açı ve hızla girmesi sonucunda farklı açı ile yansıma, dağılım ve absorpsiyon oluşmasının US etkinliğini değiştirdiği bildirilmiştir (101,105).

2.2.4 Ultrasonun Etkileri

US uygulaması ile çok sayıda biyofiziksel etki ortaya çıkmaktadır. Yüzeyel ve derin dokularda termal etkiler ortaya çıkarabilirken non-termal etkilere de sebebiyet verebilmektedir. Bu olayların birbirinden ayrı olarak meydana geldiği düşüncesi yanlıştır. Gerçekte tamamiyle saf bir termal veya non-termal etki eldesi olası gibi görünmemektedir. Sürekli US'un temel etkisi ısıtmak iken bu esnada non-termal etkiler de oluşabilmektedir. Kesikli US ise non-termal etkilere yol açarken az miktarlarda da olsa dokularda sıcaklık artışına neden olabilmektedir.

2.2.4.1. Termal Etkiler

US dalgaları su içeriği fazla olan dokularda (örneğin yağ dokusu) düşük oranda emilirken, kollajenden zengin dokularda (örneğin tendon, iskelet kası, ligament) yüksek oranlarda emilir. US yağ doku veya ciltte belirgin bir sıcaklık artışı oluşturmada tendonlar, kaslar, eklem kapsülleri, periost, kortikal kemik ve diğer bazı derin dokuları terapötik aralıkta ısıtabilmektedir (101).

Isıtma, hücresel enzimatik aktiviteyi, kan akımını, hücre zarının esneyebilirliği ve permeabilitesini artırarak bir dereceye kadar faydalı olabilmektedir. Termal faydalanım fizik tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak sıcaklık belirli bir süre boyunca belirli bir seviyeyi aşarsa, yüksek yoğunluklu odaklanmış ultrason (HIFU) gibi uygulamalara yol açan non-reversibl etkiler meydana gelebilmektedir. Sıcaklık, eğer uyarıcı seviyeyi aşarsa hücreler (neoplastik hücreler dahil) azalmış aktivite göstermeye başlar. Sıcaklık 43-50 °C aralığına daha da yükseltirirse, hücrelerin çoğu apoptoza girer ve 50 °C'nin üzerinde genellikle hücrelerin nekrozu meydana gelir (106).

Uygulanan yoğunluk ve süre, dokuların su içeriği, uygulanan frekans, ortaya çıkan sıcaklık miktarını değiştiren etkenler olarak sıralanabilir. Dokulara verilen enerji miktarını arttırabilmek adına, uygulama süresini ve yoğunluğunu arttırmak ve frekansı azaltmak gerekebilir. Bunun devamlı olarak hareketi de ısı dağılımının daha bağdaşık olmasını sağlamaktadır. Şayet US yoğunluğu fazla yüksek veya frekansı düşük ise hastalar genellikle periosttaki aşırı sıcaklık artışı hasebiyle ağrıdan yakınabilmektedir. Bu hallerde yanık gibi durumların oluşmaması için yoğunluğun azaltılması gerekebilir.

2.2.4.2. Non-termal Etkiler

Kavitasyon, durgun dalgalar, mekanik deformasyon, akım ve şok dalgalarını içeren non-termal etkiler hücre membran permeabilitesini ve fonksiyonelliğini değiştirmesi hasebiyle değerlidir. Kavitasyon, ultrasonun bir sıvıdan geçip ritmik olarak titreşim yaratırken belli büyüklükte (stabil kavitasyon) ve daha da büyüyerek hızla kollabe olan (non-stabil kavitasyon) küçük kabarcıklar üretmesi ile oluşur. Bu iki durumda da yüksek basınç ve ısı oluşarak doku bozulması meydana gelebilmektedir. Sesin meydana getirdiği bu basınç asimetrisi, metabolik aktiviteyi değiştiren ve doku hasarına neden olan ortam hareketlerini (akım, mikroakım) meydana getirmektedir. Durgun dalgalar ise sesin süperpozisyonu ile meydana gelip yarım dalga boyu aralıklarıyla düşük ve yüksek basınç sabit bölgeleri üretmektedir (107).

US'un non-termal etkisiyle kollajen sentezini, hücresel difüzyonu, ESM düzenlenmesini, iyileşmeyi düzenlediği bilinmektedir ve US'un kesikli modda çalıştırılması inflamasyon ve ağrının azaltılmasına yardımcı olmaktadır (108–110).

Ayrıca terapötik US'un non-termal etkisinin doku iyileşmesi üzerindeki faaliyetlerini ortaya koymak amacıyla birçok laboratuvar çalışması yapılmıştır. US'un fibroblast sentezini artırdığı, protein sentezini indüklediği, hücre proliferasyonunu artırdığı, anjiyogenezi desteklediği bildirilmektedir. Bunun yanında, ortaya çıkan bu etkilerin in-vivo ortamlarda da oluşup oluşmayacağı hususunda belirsizlik söz konusudur. Kimi bilim insanları ise, örneğin kavitasyon gibi olguların in-vivo ortaya çıkmadığını ileri sürmüştür (111–115).

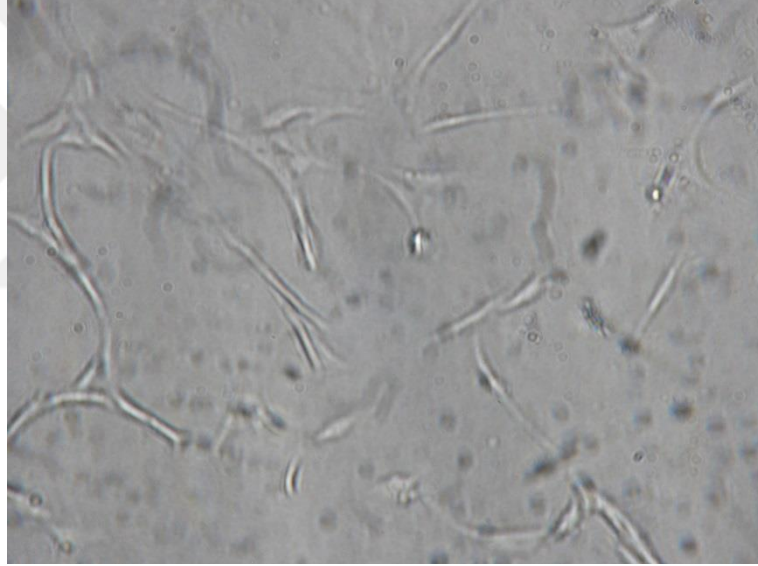
Düşük yoğunluklu kesikli ultrason (DYKU), 3 W/cm^2 'den daha az yoğunluğa sahip ve kesikli modda çıkışa sahip özel bir ultrason türüdür ve yaygın olarak kullanılan DYKU parametreleri, 1.5 MHz frekans, % 20'lik bir görev döngüsü, 1000 Hz'lik bir darbe tekrarlama frekansı ve 0.03 ila 1 W/cm^2 'lik bir yoğunluğu içermektedir. DYKU'nun klinik deneyimler ve araştırmalar için yaygın olarak kullanılan umut verici bir fizik tedavi modalitesi olduğu kanıtlanmıştır. Doku iyileşmesini destekleme, inflamasyonu ve ağrıyı azaltma, vasküler yapım ve doku yenilenmesini hızlandırma ile hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını destekleme üzerindeki birçok faydasından ileri gelmektedir (116).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

“İnsan osteoartritlik kondrosit kültüründe terapötik ultrasonun hücre proliferasyonu ve pro-inflamatuar interlökin seviyeleri üzerine etkileri” isimli çalışmamız Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’nun 4.6.2021 tarihli onayı ile Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Kondrosit Hücrelerinin Sağlanması ve Özellikleri

Çalışmamız, osteoartritli insan kaynaklı hücre (HC-OA 402OA-05a) üzerinde yapıldı. Hücre Sigma&Aldrich firmasından temin edildi. Osteoartritli kondrosit hücre hattı 56 yaş, beyaz ırka mensup diz osteoarriti olan bir kişiden elde edilmiştir.



Resim 1. Kondrosit Hücresi

3.2. Kondrosit Hücrelerinin Üretilmesi

Hücre hattının temel besi yeri formüle Dulbecco’ Modified Eagle Medium (DMEM) idi. Bu besiyeri % 10 (v/v) oranında ısı yardımıyla inaktive edilmiş fetal buzağı serumu (FBS) ve 5 milimolar (mM) glutamin, 100 ünite /mililitre (U/ml) penisilin, 100 (mikrogram/mililitre) µg/ml streptomisin, 1 mM sodyum piruvat ile modifiye edildi. On üç ml DMEM besi yeri 75 cm²’lik hücre kültür kabı içerisine eklenip 30 dk süresince % 5 karbondioksit (CO₂) ihtiva eden 37°C sıcaklıktaki inkübatörde doyuruldu. Ekimden sonra kültür ortamı 37°C, % 5 CO₂ ihtiva eden

inkübatörde üreme için bırakıldı. Besiyeri 48-72 saat aralıklarla değiştirildi. Değişim esnasında 75cm²'lik hücre kültür kabının hücreleri ihtiva eden yüzeyi 4 ml fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkandıktan sonra 13 ml DMEM besi yeri, hücre kültür kabı üstüne tekrar eklendi. Bütün şartlar steril bir ortamda yürütülebilmek için Class II emniyet kabini içinde yapıldı.

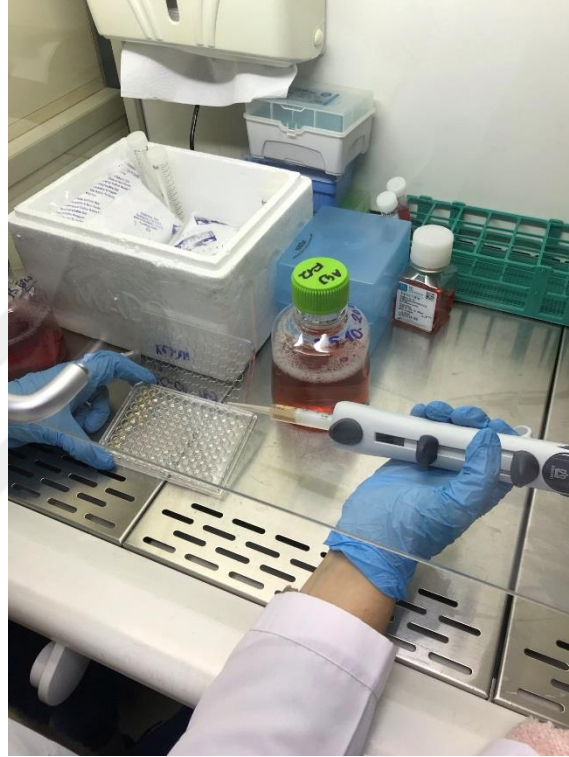


Resim 2. Medium Hazırlanması

3.3. Kondrosit Hücrelerinin Çalışmanın Yapılacağı Hücre Kültür Kaplarına Ekilmesi ve Üretilmesi

Osteoartritlik kondrositler hücre kültür kaplarına ekildiği esnada sterilityi sağlayabilmek adına Class II emniyet kabini içinde çalışıldı. İlk hücre kültür kabı içerisindeki mevcut besiyeri atıldı. Hücreleri içeren kültür kabının yüzeyi 3 kere 4 ml PBS ile yıkandı. Bir ml tripsin/etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) (% 0.005/0.53 mM) hücreleri yüzeyden kaldırabilmek maksadıyla hücre kültür kabına eklenerek 4 ila 6 dk 37⁰C de inkübe edilmek suretiyle hücreler serbest hale geçtikten sonra tripsin aktivitesini sonlandırmak amacıyla üzerine 5 ml DMEM besi yeri eklenerek süspanse edildi. Hücreler ve besi yeri hücre kültür kabından 15 ml polipropilen tüpün içine

alındı ve daha sonra tüp soğutmalı santrifüj cihazının içinde 400 devirde 10 dakika santrifüje tabi tutuldu. Santrifüj sonrası hücreler polipropilen tüpün altında toplandığından tüpün içerisindeki besiyeri dökülerek 1 ml DMEM besi yeri tüpe eklenip süspanse edildi. Tripan mavisi yardımıyla viabilitesi ve sayısı belirlenen hücreler canlılık >% 97 ise hücre sayısı $10^5/\text{ml}$ olacak şekilde besi yeriyle tamamlandı. Çalışmaların yapılacağı 75 cm^2 'lik hücre kültür kaplarına ve 96 kuyulu hücre kültürü tabakalarına ekimi yapıldı.



Resim 3. 96 Kuyulu Hücre Kültür Tabakalarına Hücrelerin Ekimi

3.4. Terapötik Ultrasonun Kondrositlere Uygulanması

Çalışmalarımız iki safhada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada 75 cm^2 'lik dokuz hücre kültür kabı kontrol (kapalı mod), sürekli (0.1 W/cm^2 - 1 MHz % 100 görev döngülü) ve kesikli (0.1 W/cm^2 - 1 MHz % 20 görev döngülü) ultrason grubu olmak üzere üçerli üç gruba ayrıldı. İkinci aşamada ise 96 kuyulu hücre kültür kapları kontrol, sürekli ve kesikli ultrason grubu olarak isimlendirildi.

Çalışma için günlük pratiğimizde terapötik amaçla kullandığımız Chattanooga Group marka ve 2776 modelli US cihazı (ABD-2012) kullanıldı. Bu ultrason cihazıyla en düşük 0.1 W/cm^2 yoğunlukta US uygulaması yapılabilmektedir.

Cihaz 0.1 W/cm^2 , 1 MHz yoğunluk ve frekansında kontrol (kapalı mod), sürekli ve kesikli (% 20 görev döngülü) olmak üzere üç farklı modda çalıştırılması planlandı.

Ultrason probu, duracağı açı da göz önünde bulundurularak cam akvaryum yaptırıldı. Prob akvaryum içindeki yerine oturtulup steril edildikten sonra sabitlendi. Akvaryum içine 37^0C steril distile su, işaretli yere dek koyuldu. Daha önce yeri belirlenmiş alana strafor yardımıyla 75 cm^2 'lik hücre kültür kapları sabitlendi, hücre kültür kabı ile prob arası mesafe 15 cm olarak belirlenerek ultrason cihazı çalıştırıldı. İlk olarak sürekli mod daha sonra kesikli modda her bir işlem için 10 dk ultrason tedavisi verildi. Kontrol grubunun hücre kültür kapları ise ultrason cihazı kapalı modtayken akvaryum üstüne sabitlenerek 10 dk bekletildi. Her aşamadan sonra termometre yardımıyla su sıcaklığı kontrol edildi. Düşüş görüldüğü takdirde su tahliye edilip yerine sıcak su eklendi, dinlenmesi beklenip tekrar 37^0C steril distile su sıcaklığı sağlandı. Bu deney düzeneği Tien ve arkadaşlarının çalışmasındaki düzenek örnek alınarak tasarlandı (117).

75 cm^2 'lik hücre kültür kaplarına US uygulamasından sonra 96 kuyulu hücre kültür tabakalarına geçildi ve strafor yardımıyla desteklenen tabakalar sürekli, kesikli ve kontrol (kapalı mod) gruplarına ayrılarak 10 dk tedavi aldı. Tüm tedaviler 10 gün sürdü. Her aşamadan sonra tedavisi biten gruplar inkübatöre bırakıldı.



Resim 4. Ultrason Cihazımız



Resim 5. Ultrason Tedavisinin Verilmesi

3.5. Hücre Lizatlarının Hazırlanması ve Total Protein Ölçümü

İnkübasyonlar neticesinde hücrelerin yapışık halde olduğu hüce kültür kabı yüzeyinden kaldırmak maksadıyla kaplara tripsin (1 ml % 0.25) eklenerek çok kısa bir süre sonra hafif çırpma hareketleri yardımıyla hücrelerin serbest kalması sağlandı. Süspansiyonlar pipet aracılığıyla toplanarak kapaklı tüpler içinde 25°C sıcaklıkta, 400 devirde ve 5 dk süreyle santrifüj edilip pelet elde edildi. Hücre peleti PBS ile yıkanıp tekrar santrifüj edildikten sonra üzerine hücre lizis tamponu konuldu. Lizis tampon karışımı şunlardan oluşmaktaydı: % 1 Triton X-100 (v/v), 50 mM HEPES bafır pH 7.2, 10 mM EDTA, 100 mM NaH₂PO₄·2H₂O, % 8 oranında proteaz inhibitör kokteyli (aprotinin, PMSF, leupeptin, NaF). Deterjanda çözünmeyen proteinler 12 000, 4°C’de 10 dk süreyle santrifüj neticesinde uzaklaştırılarak supernatant elde edildi. Supernatantların içerdiği protein düzeyleri standart olarak sığır serum albumini kullanmak suretiyle Bradford metoduyla yapılacaktı (118).

Total protein ölçümü için Bicinchoninic (BCA) Protein Assay Kit kullanıldı. Standart protokole göre hareket edilerek godeler isimlendirildi. Son gode hariç her godeye ml’ de 2 miligram (mg) standart BSA (Sığır serum albumini) solüsyonu eklendi ve seri dilüsyon yapıldı. 96 kuyulu hücre kültür tabakalarına 10 mikrolitre (µl) godelerde elde edilen sıvı ve üzerilerine de protein lizatları eklendi. Üzerlerine ise çalışma solüsyonu konuldu ve 30 dk inkübatöre bırakılarak 562 nanometre (nm)’de Epoch Biotek ELISA reader aracılığıyla okuma işlemi yapıldı.

3.6. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) ile Proinflamatuvar Sitokin Ölçümleri

IL-1 β , 6, 17, 32 ve TNF- α proinflamatuvar sitokinlerinin ölçümleri hazır ticari ELISA kitleri kullanılarak yapılmıştır.

Godeler hazırlanarak her proinflamatuvar sitokin için ayrı ayrı isimlendirildi. Total protein ölçümünde hazır olarak bekletilen 120 μ l ,standart dilüent‘ godelere bırakıldı. Bundan sonraki işlemde her ticari kit içinden çıkan ,standart‘ ilk godeye bırakılarak diğer godelere (son gode hariç) de seri dilüsyon işlemi gerçekleştirildi. 25⁰C’de ve çalışılacak kadar (her bir hücre kültür kabından elde edilen lizatlar duplike çalışılacak şekilde [Lizat A ve Lizat B]) ELISA stribi çıkarıldı. Her kuyucuk için 50 μ l standart, 40 μ l hücre lizatı ardından da 10 μ l anti-body eklendi. Bu aşamalardan sonra son gode hariç Streptavidin HRP maddesi eklenerek 60 dk inkübatöre bırakıldı. Daha önceden 500 mL distile su için 20 ml wash buffer eklenerek hazırlanmış çözelti ile kuyular yıkandı.

Tüm bu aşamalardan sonra her kuyucuğa ticari kit içinden çıkan solution A ve B isimli maddeler 50 μ l eklendi. 10 dk 37⁰C’de inkübatöre bırakıldı. Tüm pro-inflamatuvar sitokinler için bu aşamalar ayrı ayrı gerçekleştirildi ve 450 nm’de Epoch Biotek ELISA reader aracılığıyla ayrı ayrı okuma işlemi yapıldı.

3.7. 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium-bromide (MTT) Hücre Viabilite Ölçüm Testi

Her bir kuyucuğa 20 μ l MTT boyası (5 mg/ml) eklendi. Hücreler 37⁰C’de 2 saat inkübasyona bırakıldı. İki saatin sonunda hücrelerden MTT boyası uzaklaştırılmış ve her kuyucuğa 200 μ l Dimetil sülfoksit (DMSO) eklenip 10 dk daha inkübasyon sağlanmıştır. Renk değişimi, ELISA plaka okuyucusunda 570 nm dalga boyu ile belirlendi. US tedavisi almayan (kontrol) grubu hücre viabilitesi % 100 olarak kabul edilmiş deney hücrelerinin viabilite oranları % olarak ifade edilmiştir (119).

MTT temelli kolorimetrik çalışma, in-vitro hücre proliferasyonu ve sitotoksite değerlendirmesi için yararlı bir yöntem olarak tanımlanmıştır. MTT testinin hem mevcut hücre sayısına hem de hücre başına mitokondriyal aktiviteye bağlı bilgiler sunduğu önemlidir. Mikrotitre kuyularında büyüyen canlı hücrelerin

sayısı, çalışmanın hızı, kolaylığı, güvenlik ve maliyeti açısından avantaj sağlayan otomatik bir tarama spektrofotometresi olarak tanımlanabilmektedir (120).

3.8. Mikroskopik Analiz

Araştırmada hücre kültürlerinde hücre sayımı ve canlı/ölü oranları inverted mikroskopta hücre kültüründe deneyimli biyokimya uzmanı tarafından yapıldı. Mikroskopik görüntüler dijital fotoğraf makinesi ile fotoğraflandı.

3.9. İstatiksel Analiz

Deneyi için her grup üçe ayrılmış, ELISA deneyi için her grup da üç alt gruba ayrıştırılmıştı. Her grup iki kere çalışılarak altı farklı sonuç elde edilmiştir. MTT deneyi içinse deney grupları üçe ayrılarak çalışıldı ve 96 kuyudan elde edilen değerlerin ortalaması alındı. Çalışmamızda elde edilen verilerin istatiksel analizinde “GraphPad PRISM Version 8.0.1” programı kullanılmıştır. Grup içi ve gruplar arası çoklu değişkenleri karşılaştırabilmek adına ‘One way anova ve Tukey çoklu karşılaştırma testi’ kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Terapötik Ultrasonun Kondrositler Üzerine Etkisi

A. MTT Testi ile Hücre Canlılığı ve Proliferasyonu Tayini

Sonuçlara bakıldığından sürekli ve kesikli ultrason grupları arasında anlamlı bir fark olmamakla birlikte iki tedavi grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı bir farkın tedavi grupları lehinde olduğu görüldü. Kontrol grubuna göre sürekli ultrason grubunda canlılık artış p değeri ≤ 0.0001 ve kontrol grubuna göre kesikli ultrason grubu arasındaki canlılık artışı p değeri ise ≤ 0.001 olarak bulunmuştur. MTT testinin hücresel proliferasyonu da göstermesi hasebiyle yukarıdaki bilgileri proliferasyon açısından da yorumlamak mümkündür. İlgili veriler aşağıda Tablo 3,4 ve Şekil 2 üstünde gösterilmiştir.

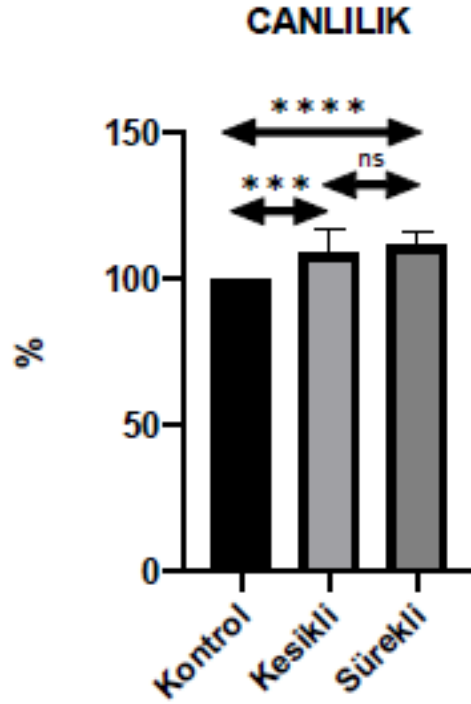
Tablo 3. Gruplar Arası % Canlılık, Ortalama % Canlılık Değerleri ile One Way Anova Test Sonucuna Göre Anlamlılık Değeri

	% Canlılık												Ort.
Ko.	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Kes.	110,105	109,962	102,321	96,648	105,157	115,149	102,894	102,321	109,957	108,430	113,011	128,719	100,359
Sür.	111,448	108,684	115,556	107,339	109,002	111,866	109,193	105,812	113,229	113,884	110,148	121,156	102,870
p Değeri													<0.0001

Ko.: Kontrol US Grubu Kes.: Kesikli US Grubu Sür.: Sürekli US Grubu Ort.: Ortalama

Tablo 4. % Canlılık İçin Tukey Çoklu Karşılaştırma Testine Göre Gruplar Arası Anlamlılık Değerleri

	Kontrol ile Kesikli Grup Arası	Kontrol ile Sürekli Grup Arası	Sürekli ile Kesikli Grup Arası
Gruplar Arasındaki p Değerleri	0,0009	<0.0001	0,4295



Şekil 2. Gruplar Arası % Canlilik İfadeleri

(ns: $p > 0.05$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, **** $p \leq 0.0001$)

B. İnterlökin Seviyelerinin ELISA ile Tayini

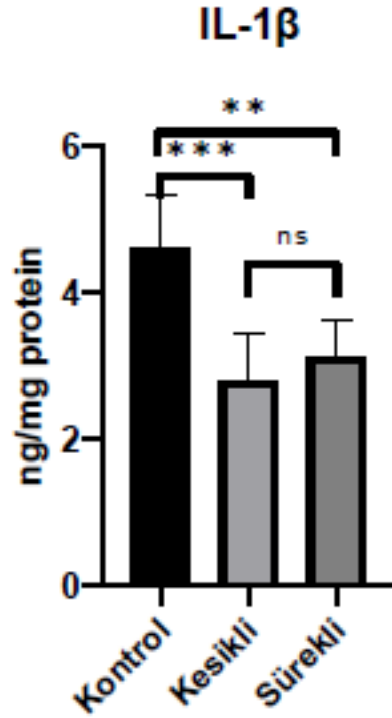
IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-17 ve IL-32 olmak üzere 5 ayrı pro-inflamatuar sitokin analiz edilmiştir. IL-1 β sonuçlarında kontrol grubu ile kesikli ultrason grubu arasında kesikli ultrason lehine anlamlı azalma olduğu görülmüştür. ($p \leq 0.001$) Sürekli ultrason ve kontrol grubu arasındaki sonuca bakılır ise sürekli ultrason grubu lehine anlamlı azalma olduğu görülmüştür. ($p \leq 0.01$) Ancak iki tedavi grubu arasında anlamlı bir fark görülemedi.

Tablo 5. IL-1 β İçin Grupların Değerleri, Gruplar Arası Ortalama Değerler ve Gruplar Arası One Way Anova Test Sonucuna Göre Anlamlılık Değeri

	Lizat₁ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₁ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₂ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₂ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₃ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₃ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Ortalama (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)
Kontrol Grubu	3,659	4,210	5,169	5,477	5,066	4,039	4,603
Kesikli Grup	2,926	2,482	3,465	1,686	3,348	2,809	2,786
Sürekli Grup	3,455	2,387	2,713	3,179	3,682	3,348	3,127
<i>p</i> Değeri							0,0004

Tablo 6. IL-1 β İçin Tukey Çoklu Karşılaştırma Testine Göre Gruplar Arası Anlamlılık Değerleri

	Kontrol ile Kesikli Grup Arası	Kontrol ile Sürekli Grup Arası	Sürekli ile Kesikli Grup Arası
Gruplar Arasındaki <i>p</i> Değerleri	0,0004	0,0028	0,6248



Şekil 3. IL-1 β Değerlerinin Gruplar Arası Anlamlılık İfadeleri

(ns: $p > 0.05$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$)

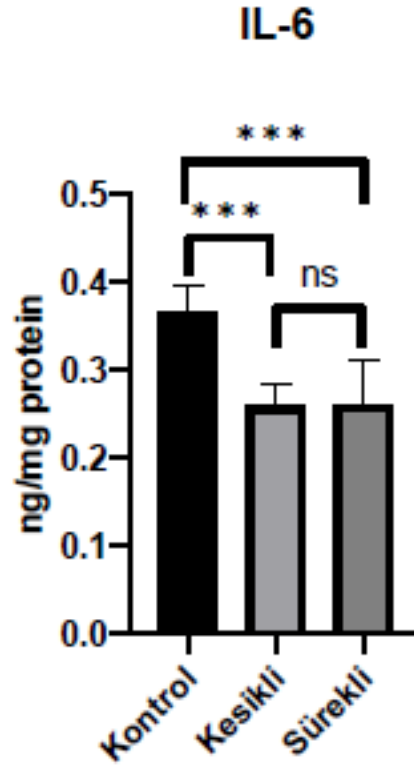
IL-6 seviyelerinde ise sürekli ultrason grubuyla kontrol grubu arasında anlam bağlamında fark olduğu görülmüş, bu farkın sürekli grup lehine olduğu anlaşılmıştır. ($p \leq 0.001$). Aynı durumun kesikli ultrason grubu ile kontrol grubu karşılaştırılmasında da olduğu anlaşılmıştır. ($p \leq 0.001$) Ancak sürekli ve kesikli ultrason grubu arasında anlamlı bir fark olduğu söylenememektedir.

Tablo 7. IL-6 İçin Grupların Değerleri, Gruplar Arası Ortalama Değerler ve Gruplar Arası One Way Anova Test Sonucuna Göre Anlamlılık Değeri

	Lizat₁ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₁ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₂ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₂ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₃ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₃ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Ortalama (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)
Kontrol Grubu	0,399	0,403	0,358	0,325	0,370	0,336	0,365
Kesikli Grup	0,275	0,245	0,241	0,237	0,249	0,300	0,257
Sürekli Grup	0,230	0,210	0,348	0,230	0,276	0,264	0,259
p Değeri							0,0002

Tablo 8. IL-6 İçin Tukey Çoklu Karşılaştırma Testine Göre Gruplar Arası Anlamlılık Değerleri

	Kontrol ile Kesikli Grup Arası	Kontrol ile Sürekli Grup Arası	Sürekli ile Kesikli Grup Arası
Gruplar Arasındaki p Değerleri	0,0004	0,0005	0,9960



Şekil 4. IL-6 Değerlerinin Gruplar Arası Anlamlılık İfadeleri

(ns: $p > 0.05$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$)

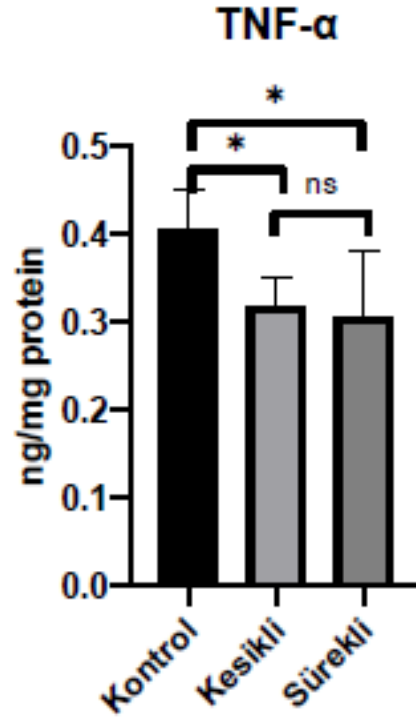
TNF- α sonuçlarında ise IL-1 β ve IL-6'ya benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Sürekli ultrason grubu ve kontrol grubu arasında sürekli grup lehinde azalma olduğu görülmüştür ($p \leq 0.05$). Kesikli ultrason ve kontrol grubu karşılaştırıldığında ise azalma anlamlı ve kesikli grup lehinedir ($p \leq 0.05$). Ancak kesikli ve sürekli ultrason grubu arasında anlamlı bir farktan bahsetmek mümkün değildir.

Tablo 9. TNF- α İçin Grupların Değerleri, Gruplar Arası Ortalama Değerler ve Gruplar Arası One Way Anova Test Sonucuna Göre Anlamlılık Değeri

	Lizat₁ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₁ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₂ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₂ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₃ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₃ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Ortalama (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)
Kontrol Grubu	0,476	0,429	0,395	0,344	0,395	0,389	0,404
Kesikli Grup	0,269	0,300	0,344	0,349	0,309	0,335	0,317
Sürekli Grup	0,259	0,225	0,374	0,264	0,291	0,416	0,304
<i>p</i> Değeri							0,0102

Tablo 10. TNF- α İçin Tukey Çoklu Karşılaştırma Testine Göre Gruplar Arası Anlamlılık Değerleri

	Kontrol ile Kesikli Grup Arası	Kontrol ile Sürekli Grup Arası	Sürekli ile Kesikli Grup Arası
Gruplar Arasındaki <i>p</i> Değerleri	0,0311	0,0135	0,9055



Şekil 5. TNF- α Değerlerinin Gruplar Arası Anlamlılık İfadeleri

(ns: p > 0.05, * p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01, *** p ≤ 0.001)

IL-17 ile ilgili sonuçlara bakılacak olursa kontrol grubuna kıyasla hem sürekli hem de kontrol grubunda azalma olmasına karşın, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aynı şekilde kesikli ve sürekli grup arasındaki ilişkiye bakılacak olursa sürekli gruptaki IL-17 miktarındaki azalma görülmekte ancak aralarında istatistiksel bir anlam bulunmamaktadır.

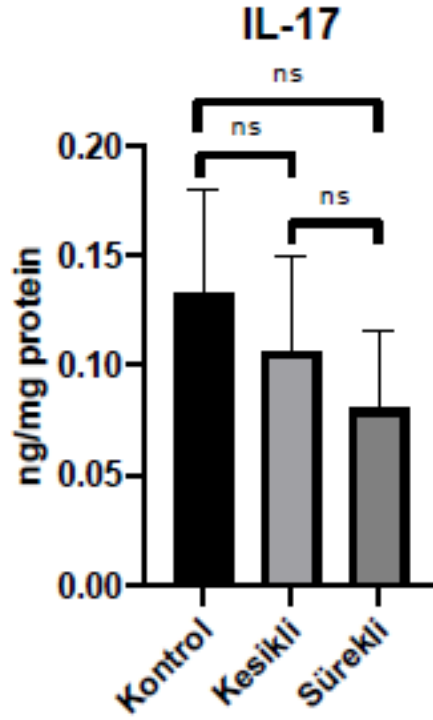
Tablo 11. IL-17 İçin Grupların Değerleri, Gruplar Arası Ortalama Değerler ve Gruplar Arası One Way Anova Test Sonucuna Göre Anlamlılık Değeri

	Lizat₁ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₁ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₂ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₂ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₃ A (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Lizat₃ B (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)	Ortalama (protein başına düşen oran) (ng/mg protein)
Kontrol Grubu	0,087	0,196	0,071	0,157	0,135	0,151	0,132
Kesikli Grup	0,087	0,139	0,040	0,085	0,135	0,151	0,106
Sürekli Grup	0,148	0,052	0,054	0,085	0,060	0,080	0,079
p Değeri							ns

ns: $p > 0.05$

Tablo 12. IL-17 İçin Tukey oklu Karşılaştırma Testine Göre Gruplar Arası Anlamlılık Değerleri

	Kontrol ile Kesikli Grup Arası	Kontrol ile Sürekli Grup Arası	Sürekli ile Kesikli Grup Arası
Gruplar Arasındaki p Değerleri	0,5271	0,1063	0,5385



Şekil 6. IL-17 Değerlerinin Gruplar Arası Anlamlılık İfadeleri

(ns: $p > 0.05$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$)

IL-32 düzeylerinde ise IL-17'ye benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kontrol grubuna göre sürekli ve kesikli ultrason grubunda istatistiksel olarak anlam ifade etmeyen bir azalma görülmüş. Sürekli ultrason grubundaki azalma da kesikli ultrasona göre mevcut olup istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir.

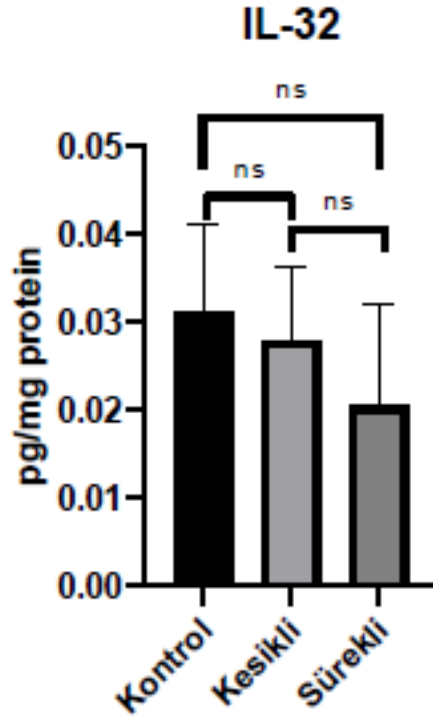
Tablo 13. IL-32 İçin Grupların Değerleri, Gruplar Arası Ortalama Değerler ve Gruplar Arası One Way Anova Test Sonucuna Gore Anlamlılık Değeri

	Lizat₁ A (protein başına düşen oran) (pg/mg protein)	Lizat₁ B (protein başına düşen oran) (pg/mg protein)	Lizat₂ A (protein başına düşen oran) (pg/mg protein)	Lizat₂ B (protein başına düşen oran) (pg/mg protein)	Lizat₃ A (protein başına düşen oran) (pg/mg protein)	Lizat₃ B (protein başına düşen oran) (pg/mg protein)	Ortalama (protein başına düşen oran) (pg/mg protein)
Kontrol Grubu	0,048	0,037	0,025	0,023	0,025	0,025	0,030
Kesikli Grup	0,026	0,020	0,022	0,034	0,040	0,021	0,027
Sürekli Grup	0,014	0,007	0,037	0,009	0,025	0,028	0,020
p Değeri							ns

ns: p > 0.05

Tablo 14. IL-32 İçin Tukey Çoklu Karşılaştıırma Testine Göre Gruplar Arası Anlamlılık Değerleri

	Kontrol ile Kesikli Grup Arası	Kontrol ile Sürekli Grup Arası	Sürekli ile Kesikli Grup Arası
Gruplar Arasındaki p Değerleri	0,8504	0,2024	0,4397



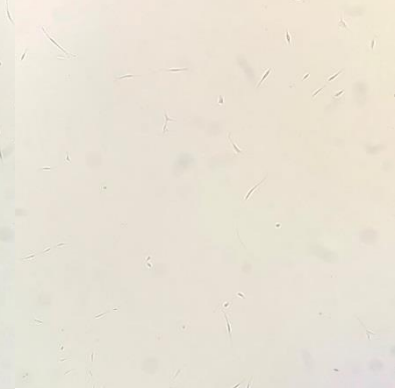
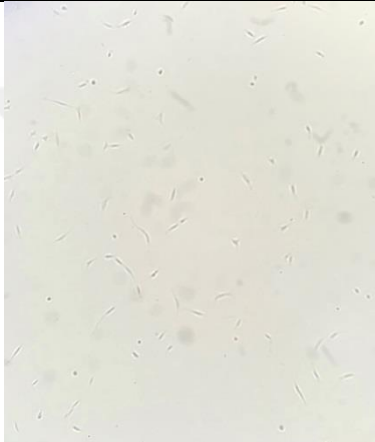
Şekil 7. IL-32 Değerlerinin Gruplar Arası Anlamlılık İfadeleri

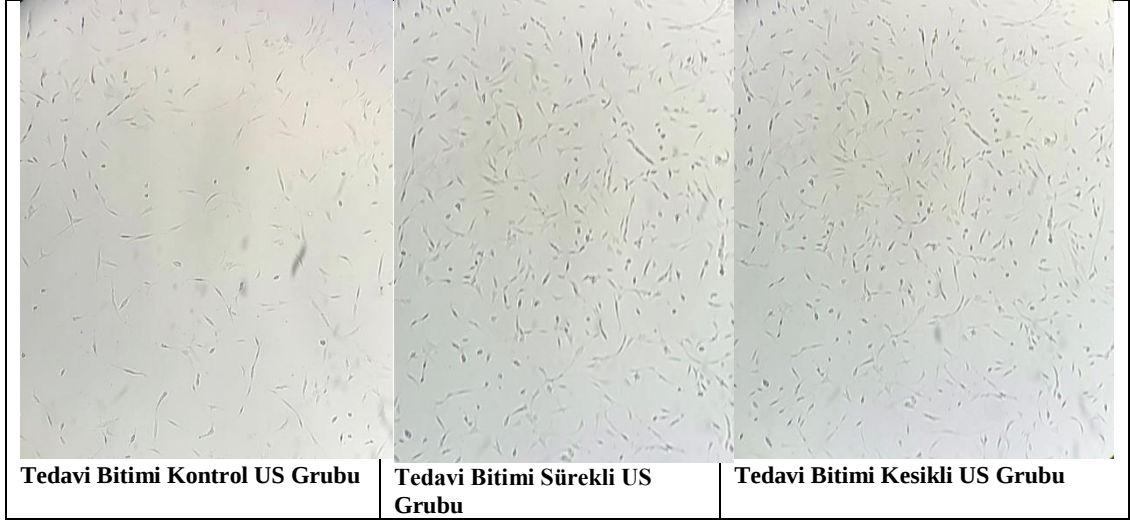
(ns: $p > 0.05$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$)

C. Mikroskopik Analiz

Tedavi bitiminden sonra hücre lizatları hazırlama aşamasından hemen önce kontrol, sürekli ve kesikli ultrason tedavisi gruplarından alınan örnek Neubauer lamına koyulup tripan mavisi eklendi. Sonuç olarak kontrol grubunda her alanda 4, kesikli ve sürekli ultrason grubunda ise her alanda 8 hücre görüldü. Mevcut veri ultrason tedavisi alan grupta hücre sayısının arttığını kantitatif olarak göstermiştir. Tablo 15 ise kalitatif olarak hücre organizasyonunun tedavi boyunca ne kadar değiştiğini göstermektedir.

Tablo 15. Ultrason Gruplarının Tedavi Süresince x4 Büyütmedeki Fotoğrafları

		
Tedavi Öncesi Kontrol Grubu	Tedavi Öncesi Sürekli US Grubu	Tedavi Öncesi Kesikli US Grubu
		
Tedavi Sonrası 1. Gün Kontrol US Grubu	Tedavi Sonrası 1. Gün Sürekli US Grubu	Tedavi Sonrası 1. Gün Kesikli US Grubu
		
Tedavi Sonrası 5. Gün Kontrol US Grubu	Tedavi Sonrası 5. Gün Sürekli US Grubu	Tedavi Sonrası 5. Gün Kesikli US Grubu



5. TARTIŞMA

Osteoartrit en sık görülen eklem hastalığıdır. Yaş ilerledikçe fonksiyonel kısıtlılık ve ağrının en sık sebeplerinden biri haline gelmektedir. Patogenezinde genetik yatkınlık, çevresel etmenler, travma, kıkırdak hasarı ve subkondral kemikteki değişiklikler olmakla birlikte sinovyal inflamasyon da suçlanmaktadır. Tedavisinde ise asetaminofen gibi analjezik, NSAİİ gibi analjezik, anti-inflamatuar ilaçlar, viskosuplementasyon, SNRI, opioid gibi medikal seçenekler kullanılmaktadır. Medikal tedavi modaliteleri ile semptomlarda iyileşme sağlanamayıp günlük yaşam aktivitelerinde bozulma gelişmiş ileri evreli OA olgularındaysa cerrahi aklı gelmektedir. OA tedavisinde nispeten geniş bir spekturumda farmakolojik ve non-farmakolojik tedavi modalitesi mevcut olmasına karşın, hastalığı kontrol altında tutmayı amaçlamış ve kanıt düzeyi yüksek bir tedavi yöntemi henüz mevcut değildir. Bu sebeple hastalığı kontrol altında tutmayı amaçlamakta olan tedavi seçenekleri halen araştırılmaktadır. OA tedavisinde non-farmakolojik modaliteler içinde bulunan terapötik ultrason uygulamasıyla ilgili birçok çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. Ancak US'un non-termal etkisinin hastalığı modifiye eden özelliğinin olup olmadığına dair henüz yeteri kadar kanıt elde edilememiştir. Ultrasonun düşük yoğunlukta ve kesikli biçimde uygulandığında hücre proliferasyonunu uyarıp pro-inflamatuar sitokinleri azaltabileceği düşünülmektedir. Ancak henüz ultrasonun bu etkilerini değerlendirmek maksadıyla yapılan çalışmalarda bir standart bulunmamaktadır. Bu sebeple çalışmamız terapötik ultrasonun kondrosit proliferasyonu ve pro-inflamatuar sitokinlerin üstündeki etkilerini ortaya çıkarmak maksadıyla oluşturulmuştur.

Literatür taraması neticesinde düşük yoğunluklu terapötik ultrason ile ilgili yapılan çalışmalarda hücrelerin canlılığı, proliferasyonu, matriks sentezi, kollajen miktarı, gen ekspresyonu ve pro ve anti-inflamatuar sitokinlerin araştırıldığı görülmüştür. Ancak incelenen birçok çalışmada görülmektedir ki kullanılan ultrason yoğunlukları, frekansları, uygulama şekli ve mesafesi gibi çeşitlilikler mevcuttur. Örneğin de Oliviera ve arkadaşlarının çalışmalarında çeşitli yoğunluk ve görev döngülerindeki DYKU'nun karşılaştırıldığı fibroblast hücre kültürü deney düzeneğinde hücreler 24.,48. ve 72. saatlerde ultrasona 2 dk tabi tutulmuş ve her tedaviden sonra canlılığa bakılmıştır. Özellikle 48. saatten sonra bakılan viabiliteye göre % 10 görev döngülü 0.5 W/cm² yoğunlukta kesikli ultrason grubu diğer

gruplara göre üstün bulunmuştur (121). Bir diğer fibroblast kültüründe yapılan çalışmada ise kültürlenmiş fibroblastlar 5 gruba ayrılmış, 24.,48.,72. ve 96. saatte çeşitli DYKU yoğunluklarıyla tedavi edilmiştir. Sonuç olarak % 20 görev döngülü 0.6 W/cm^2 yoğunluktaki US tedavisi sonrası hücre proliferasyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (122). Mostafa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarında insan gingival fibroblast hücreleri kullanılmış, 24 saatlik kültür sonrası 1.5 MHz , $30 \text{ miliWatt/santimetre}^2$ (mW/cm^2) yoğunluk ve frekansta kontrol, 5 dk ve 10 dk'lık tedavi grubu olmak üzere 28 gün boyunca tedavi verilmiştir. MTT testi ile hücre canlılığına bakıldığında ise gruplar arasında herhangi bir anlamlı fark görülememiştir (123). Leung ve arkadaşlarının insan periost hücrelerinde yaptıkları çalışmalarında ise hücreler kültürlendikten sonra 2. ve 4. günler sırasıyla 5,10 ve 20 dk'lık 30 mW/cm^2 DYKU tedavisi verilmiştir. Hücre canlılığı ve proliferasyonu MTT testi ve ayrıca hücre proliferasyonu timidin birleştirme deneyi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar ise DYKU' nun canlı hücre sayısını ve proliferasyonunu etkilemediği yönünde bulunmuştur (124). Benzer bir çalışmada insan osteoartrit eklem kıkırdığı eksplantları kullanılmış, düşük yoğunluklu ultrason 0 (kontrol), 40, 200, 500 ve 700 mW/cm^2 olan 1 MHz frekansında sürekli mod kullanılarak ardışık olarak 7 gün boyunca her gün 10 dk tedavi edilmiştir. Hücre proliferasyonu timidin birleştirme deneyi yardımıyla çalışılmış gruplar arası hücre proliferasyonu bağlamında anlamlı sonuç elde edilememiştir. Ancak 200 mW/cm^2 yoğunlukta tip II kollajen ve proteoglikan gen ekspresyonu açısından bu yoğunluğun indükleyebilir yoğunluk olduğu sonucuna varılmıştır (125). Düşük yoğunluklu sürekli ultrasonun kullanıldığı bir başka çalışmada ise insan osteoartrit kondrosit hücreleri alginat boncuklarına kültürlenmiş. 0, 100, 200, 300 mW/cm^2 yoğunlukta sürekli modda 15 gün ve günde 10 dk tedavi edilmiştir. Hücreler 2, 7 ve 15. günlerde izlenmiştir. Neticede tripan mavisi ile ölü ve canlı hücre tayini yapıldığında 15. günden sonra hücre canlılığının anlamlı bir şekilde indüklendiği ve bunun en çok 200 mW/cm^2 dozunda olduğu gözlenmiş. Ancak timidin birleştirme deneyi sonucunda hücre proliferasyonu üstünde 7.gün itibariye anlamlı bir fark görülmediği sonucuna varılmıştır (126). Neonatal ratlardan elde edilen kondrositlerin kullanıldığı bir başka deneyde ise hücreler kültürlendikten sonra 0, 50 ve 120 mW/cm^2 , 1 MHz sürekli ultrason günde 10 dk, 5 gün tedavi edilmiş ve 1,3 ve 5. günlerde proliferasyona timidin birleştirme deneyi ile bakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre proliferasyon zamanla artmış ancak gruplar arasında istatistiksel bağlamda bir fark görülememiştir. Aynı durum

proteoglikan sentezi için de geçerli olup sentez zamanla artmış ancak gruplar arası istatistiksel anlamda fark görülemediği (127). Suzuki ve arkadaşları ise çalışmalarında sıçan klonal hücrelerini kullanmış, pasajlamalar sonrası 96 kuyulu hücre kültür tabakalarına ekmiştir. 30 mW/cm², 1.5 MHz DYKU 14 gün süreyle, günde 20 dk hücrelere 3-4 milimetreden (mm) uygulanmıştır. MTT testi benzeri farklı bir kolorimetrik yöntem ile hücre canlılığı tayin edilmiştir. Tedavi alan ve almayan grup arasında canlılık ilişkisi açısından fark görülmemiştir (128). Lim ve arkadaşlarının çalışmalarında ise alveolar kemikten türetilen mezenkimal kök hücreleri kullanılmış. 50 mW/cm², 1 MHz yoğunluk ve frekansında ancak farklı görev döngülü (% 20 ve % 50) DYKU kullanılmıştır. Günlük 10 dk tedavi neticesinde %20 görev döngülü grubun diğer gruba nazaran daha fazla çoğaldığı ve farklılaştığı görülmüştür (129). Kobayashi ve arkadaşlarının deneylerinde ise insan nükleus pulposus hücreleri kullanılmıştır. Hücreler alt gruplara ayrılarak kontrol, 7.5, 15, 30, 60 ve 120 mW/cm² olarak isimlendirilmiş ve anılan dozlarda 1.5 MHz frekansında DYKU tedavisi verilmiştir. Sonuçlarına bakıldığında hücre proliferasyonu ile ilgili gruplar arası fark görülmediği, kontrol grubuna kıyasla tedavi gruplarında proteoglikan miktarı açısından yukarı regülasyonun söz konusu olduğu ve son olarak da verilen tedavinin önemli ölçüde büyüme faktörleri ve reseptörlerinin gen ekspresyonunu uyardığı görülmüştür (130). 1 MHz, 30 mW/cm² 1:4 görev döngülü DYKU tedavisinin 6 gün, günde 15 dk olarak sementoblastik farklılaşma gösteren periodontal ligament hücrelerine uygulandığı çalışmada Inubushi ve arkadaşları hücre proliferasyonu açısından kontrole göre anlamlı bir fark görememiş ancak bunun yanında tip I kollajen gen ekspresyonunun kontrole göre önemli ölçüde arttığını tespit etmiştir (131). İnsan kemik mezenkimal kök hücresinin kullanıldığı çalışmada ise tedavi grupları 0, 30, 40, 50, 60, ve 80 mW/cm² olarak gruplandırılmış ve bu gruplara 5, 10 ve 20 dk, 4 gün tedavi uygulanmıştır. Neticede maruz kalma süresi günde 5 ya da 10 dk olduğunda hücrelerin çoğalmasının teşvik edildiği, 50 veya 60 mW/cm² DYKU maruziyetinin, diğer DYKU grupları ile karşılaştırıldığında, belirgin olarak proliferasyonu tetiklediği görülmüştür. Ayrıca hücreler 20 dk süreyle DYKU aldığında 50 mW/cm² veya daha yüksek yoğunluklarda hücre büyümesinin inhibe olduğu gösterilmiştir (116). Total diz artroplasti operasyonundan elde edilen osteoartritik kondrositlerle yapılan bir çalışmada ise 30 mW/cm² yoğunlukta 6 gün, günde 20 dk DYKU bu hücrelere uygulanmış ve netice olarak kondrosit proliferasyonunu ve matriks üretiminin uyarıldığını göstermişlerdir (132). Sang ve

arkadaşlarının yaptıkları çalışmada fare kondrosit hücreleri kullanılmış ve hücreler DYKU ile ya 50 mW/cm² ya da 100 mW/cm² ile 10 dk süreyle tedavi edilmiştir. Hücreler 0., 24., 48., 72. ve 96. saatlerde değerlendirilerek DYKU maruziyetinden sonra kondrosit hücre sayısının, kontrole kıyasla arttığı sonucuna varılmıştır ve ayrıca farelerin sinovyal sıvısındaki IL-6, 8 ve TNF- α düzeylerinin DYKU ile belirgin azaldığı gösterilmiştir (133). Deney düzeneğimizin de örnek alındığı çocuk yaş grubu polidaktili hastalarının ameliyat materyallerinden elde edilen kondrosit hücrelerine 18, 48, 72 ve 98 mW/cm², 1 MHz ve 20 dakika, 14 gün DYKU uygulanmıştır. Hücre proliferasyonu, tip II kollajen ve agrekan sentezi değerlendirilmiştir. Tedavi sonunda gruplar arasında hücre proliferasyonu açısından anlamlı bir fark görülmediği ama tip II kollajen sentezi bağlamında özellikle 48 mW/cm² yoğunlukta istatistiksel olarak anlamlı bir artış elde edildiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca 98 mW/cm² dozunda zamana bağlı olarak istatistiksel bağlamda agrekan sentezini artırdığı sonucu elde edilmiştir (117). Nishikori ve arkadaşlarının tavşanlardan elde edilen kondrosit hücrelerinde yaptıkları çalışmalarında ise tripan mavisi ile ölü/canlı hücre sayısı tayin edilmesi planlanmış ve 2 haftalık 30 mW/cm² yoğunluk, 1.5 MHz frekansta ve 20 dk/gün DYKU tedavisi için deney düzeneği hazırlanmıştır. İki haftalık tedavi neticesinde kontrol grubuna göre tedavi edilen grup arasında canlı hücre sayıları açısından anlamlı fark görülmemekle birlikte kondroitin sülfat düzeyleri açısından deney grubu lehine anlamlı bir artış olduğu görülmüştür (134). Sığır kondrositlerinin kullanıldığı diğer bir çalışmada ise 30, 100, 200 ve 300 mW/cm² yoğunluklarda, 1 MHz DYKU tedavisinin sülfatlanmış glikozaminoglikan (GAG) sentezi üzerine etkileri araştırılmıştır. İlgili hücrelere günde 20 dk, 5 gün tedavi verildikten sonra hücre canlılığına bakıldığında 30 ve 100 mW/cm² yoğunluklarda canlılık üzerine bir etki görülmediği, 200 ve 300 mW/cm² yoğunluklarda ise önemli ölçüde canlılığın yitirildiği görülmüştür. Ayrıca GAG düzeyi üzerinde 30 ve 100 mW/cm² yoğunluklu DYKU'nun etkisi olmadığı görülmüştür (135). Park ve arkadaşlarının 3 boyutlu OA modellemesinde 30 mW/cm², 1.5 MHz yoğunluk ve frekansta düşük yoğunluklu sürekli ultrasonun etkileri çalışılmış. IL-1 ile muamele edilen kültür ortamında ultrason tedavisi 5 gün uygulanmış ve tripan mavisi ile hücre canlılığı, agrekan gen ekspresyonu, MMP-1 ve 13 ile TGF- β 1 ve 3 salınımı kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Hücre canlılığı ve sayısı iki grup arasında istatistiksel bağlamda anlamlı değilken MMP-1 aşağı regülasyonu kontrole kıyasla ultrason grubunda anlamlı olarak bulunmuştur. MMP-

13 için ise anlamlılık olmadığı sonucuna varılmıştır. Yine aynı şekilde agrekan gen ekspresyonu açısından gruplar arasında fark görülememiştir. Sonuç olarak sürekli düşük yoğunluklu ultrasonun kondroprotektif etkileri olabileceği sonucuna varılmıştır (136). Sekino ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalarında ise DYKU uygulamasının kondrositlerde MMP-13 düzeylerini azalttığı ve ek olarak ESM rejenerasyonunu indüklediği gösterilmiştir (137). Ek olarak fibroblast benzeri sinovisitler üzerinde DYKU etkilerinin çalışıldığı bir deneyde, IL-1 β ile muamele edilen hücrelerde NO, MMP-1 ve 3 ile PGE₂'nin indüklenebileceği ve bu indüksiyonun DYKU ile NF- κ B üstünden ortadan kaldırılabilceği gösterilmiştir (138). Fibroblast hücrelerinin kullanıldığı düşük yoğunluklu sürekli ultrason deneyinde gruplar kontrol, 1 MHz frekansta 0.2 W/cm² ile 0.5 W/cm², 3 MHz frekansta ise 0.2 W/cm² ile 0.5 W/cm² olarak ayrıştırılmış ve 24 ila 48 saat ultrason tedavisi uygulanmıştır. MTT testi ile hücre canlılığı ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) IL-6 ve VEGF gen ekspresyonu incelenmiştir. 0.5 W/cm²- 3 MHz grubunda hücre proliferasyonunun arttığı ve IL-6 gen ekspresyonunun azaldığı, VEGF'nin ise arttığı gözlenmiştir (139). İnsan osteoblast, fibroblast ve monositlerinin kullanıldığı bir diğer çalışmada düşük yoğunluklu sürekli ultrason ve DYKU çeşitli dozlarda (5, 15, 30 ve 50 mW/cm²), su içi 5 cm mesafeden tatbik edilmiş ve hücre proliferasyonu ve ELISA ile TNF- α , IL-1 β , 6 ve 8 ile VEGF ve fibroblast büyüme faktörü (FGF) düzeyleri çalışılmıştır. Sürekli ve DYKU'nun hücre proliferasyonunu uyardığı, tüm hücre tiplerinde hafif bir IL-1 β artışı sağladığı ancak IL-6 ve TNF- α açısından fark oluşmadığı, özellikle osteoblastlarda IL-8 ve FGF üretimin arttığı, üç hücre tipinde de VEGF düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir (112). Fibroblastlarda yapılan bir başka çalışmada ise MTT ile canlılık, akım sitometri ile de çeşitli pro ve anti-inflamatuar sitokinler değerlendirilmiştir. DYKU'nun uygulandığı bu deneyde, gruplar kontrol, 0.2 W/cm²-% 10 görev döngülü ve 0.2 W/cm²-% 20 görev döngülü olarak üçe ayrılmıştır. Her gruba 24., 48. ve 72. saatlerde 2 dk ultrason tedavisi verilmiştir. MTT testi ile canlılık tayin edilmiş ve 48. saatte canlılık, IL-6 ve VEGF düzeylerinin özellikle 0.2 W/cm²-% 10 görev döngülü modda belirgin olarak arttığı sonucuna varılmıştır (140).

Literatürde terapötik ultrasonla ilgili ülkemiz ve dünyada yapılmış in-vivo çalışmalar da mevcuttur. Taşçıoğlu ve arkadaşlarının 90 diz OA hastalı kesikli ve sürekli ultrasonu değerlendirdikleri plasebo kontrollü çift kör randomize kontrollü çalışmalarında hastalar üç gruba ayrılmış ve ilk gruba 2 W/cm² sürekli, ikinci gruba

aynı yoğunluk ancak % 20 görev döngülü kesikli ultrason ve üçüncü gruba ise kapalı modda ultrason tedavisi verilmiştir. Tedaviler günde 5 dk ve 10 iş günü şeklinde sürmüş ve sonuçta kesikli ve sürekli ultrason grubundaki VAS skoru açısından kontrol grubuna nazaran anlamlı iyileşmeler görülmüştür. Ayrıca kesikli ultrason grubunda anlamın sürekli gruba göre daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır. WOMAC skoru açısından ise kesikli ultrason grubunda kontrole oranla anlamlı bir azalma varken sürekli grupta bundan bahsetmek mümkün olmamıştır (141). Rodríguez-Grande ve arkadaşlarının diz OA'lı hastalarda yaptıkları % 20 görev döngülü, 2.2 W/cm² yoğunluktaki 10 gün terapötik ultrason tedavisinin etkilerinin değerlendirildiği çalışmada, ultrasonun 5. günden itibaren ağrı düzeyinin önemli miktarda azaldığı ve bu azalışın tedavi bitimine kadar sürmesi hasebiyle diz OA tedavisinde ultrason tedavisinin önerilebileceği sonuca varmıştır (142). Ülkemizde diz OA'lı hastalarda yapılan 10 gün, günde 4 ve 8 dk 1 MHz, 1.5 W/cm² yoğunluktaki ultrasonun konvansiyonel fizik tedavi modalitelerine eklenmesinin sonuçlarının değerlendirildiği çalışmada VAS, WOMAC, Lequesne özürölülük anketi ve Beck depresyon ölçeği kullanılmıştır. Tedavi sonrası hastalarda bu değerlendirme yöntemlerinin düzeldiği, özellikle 8 dk'lık tedavi alan grupta ağrı düzeyinde düzelme ve günlük yaşam aktivitelerini gerçekleştirmede daha iyi sonuçlar elde ettiğii gösterilmiştir (143). Köybaşı ve arkadaşlarının kalça OA'lı hastaları değerlendirip standart fizik tedavi yöntemlerine ultrason tedavisinin eklenmesinin kısa ve uzun vadeli etkinliğini değerlendirdiği çalışmalarında 1 MHz ve 1 W/cm² frekans ve yoğunlukta 10 gün ve günde 10-15 dk sürekli ultrason tedavisi kullanılmış ve neticede ultrasonun uzun dönemde ağrı, fiziksel ve fonksiyonel durum üzerinde etkili olduğu sonucuna varmıştır (144).

Çalışmamızın kısıtlılığından bahsetmek gerekirse, in-vitro şartlarda yapılan bir çalışma olması nedeniyle elde edilen verilerin hemen her zaman in-vivo şartlara uyarlanması hususunda zorluklar yaşanabilmektedir. Ancak çıkan sonuçların in-vivo şartlar ve dolayısıyla klinisyen için yol gösterici olması muhtemeldir.

Yapılan in-vivo ve in-vitro çalışmalar göstermektedir ki kullanılan ultrasonun yoğunluk, frekans, ara madde, uygulama mesafesi ve yöntemleri açısından farklılıkları mevcuttur. Bu farklılıklar da amaçların aynı olduğu farklı sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır. Bu sebeptendir ki osteoartrit tedavisi için kullanılmak istenen ultrason terapisi üstünde fikir birliğı oluşmamıştır. Fikir birliğı oluşmaması ve osteoartrit ile ilgili hücrel süreçlerin daha iyi anlaşılması adına su içi kesikli ve

sürekli düşük yoğunlukta terapötik ultrasonun değerlendirildiği çalışmamız pro-inflamatuar interlökin seviyelerine bu denli geniş yer vermesi ve elde edilen sonuçların anlam ifade etmesi nedeniyle önem arz etmekte olup gelecekteki in-vivo ve in-vitro çalışmalara ilham olacaktır.



6. SONUÇ

Osteoartrit bilinen en sık eklem hastalığı olmakla birlikte hastalık seyri ve patogenezi ve tedavi yöntemleri açısından soru işaretleri taşımaktadır. Derin ısıtıcı vasfında olan terapötik ultrasonun kesikli ve sürekli mod ve düşük yoğunluklarda hastalık seyrine faydalar sağlayacağı, inflamatuvar süreçleri azaltıp durduracağı ve bu sayede hastalığı modifiye edeceği düşünülmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmamız inflamatuvar süreçlerin, düşük yoğunluklu terapötik ultrason tedavisi ile azaltılabileceğini ortaya koymuştur. Ancak optimal yoğunluk, frekans ve süre açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu açıktır.



7. KAYNAKÇA

1. Musumeci G, Aiello FC, Szychlinska MA, Di Rosa M, Castrogiovanni P, Mobasher A. Osteoarthritis in the XXIst century: risk factors and behaviours that influence disease onset and progression. *Int J Mol Sci* 2015;16(3):6093–112.
2. Atay MB. Osteoartrit. Beyazova. In: Beyazova M, Kutsal YG (ed). *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon*. 2. Baskı, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 2011: 2533-61.
3. Rahmati M, Nalesso G, Mobasher A, Mozafari M. Aging and osteoarthritis: Central role of the extracellular matrix. *Ageing Res Rev* 2017;40:20–30.
4. Tosun B, Nuray CAN, Tunay S, Doğan BEK, Başbozkurt M, Nursemin ÜNAL. Diz osteoartriti olan hastaların yaşam kalitesinin ve etki eden parametrelerin belirlenmesi. *Duzce Medical Journal* 2016;18(3):83–90.
5. Bilge A, Ulusoy RG, Üstebay S, Öztürk Ö. Osteoartrit. *Osteoartrit Kafkas Journal of Medical Sciences* 2018;8(1):133–42.
6. Gök H. Osteoartritin Tedavisi. In: Ataman Ş, Yalçın P (ed). *Romatoloji*. 1. Baskı, MN Medikal & Nobel, Ankara, 2012: 709-20.
7. Demiriz Y, Sarıkaya S. Diz Osteoartriti Hastalarında Tanı Ve Kılavuzlar Işığında Güncel Tedavi. *Medical Journal Of Western Black Sea* 2021;5(2):115–24.
8. Ling SM, Rudolph K. Osteoartrit. In: Susan J, Clifton O, Bingham MJ, Marcic MD, Iversen V, Ruffing A, (ed.), Dinç A, (çev. ed.), *Romatizmal Hastalıklarda Klinik Tedavi*. 3. Baskı, Romatoloji Araştırma ve Eğitim Derneği, Ankara, 2007;127–35.
9. Çakır N, Pamuk ÖN, Derviş E, Imeryüz N, Uslu H, Benian Ö, et al. The prevalences of some rheumatic diseases in western Turkey: Havsa study. *Rheumatol Int* 2012;32(4):895–908.
10. Loeser RF. Aging processes and the development of osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2013;25(1):108–13.
11. Michael JW-P, Schlüter-Brust KU, Eysel P. The epidemiology, etiology, diagnosis, and treatment of osteoarthritis of the knee. *Dtsch Arztebl Int* 2010;107(9):152–62.

12. Soyocak A, Turgut Coşan D, Özgen M, Kurt H, Şahin Mutlu F. Primer diz osteoartrit hastalarında VEGFA ve HIF1-A gen ekspresyon seviyelerinin araştırılması. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2020; 13(1): 97-106.
13. Martel-Pelletier J. Pathophysiology of osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage 1998;6(6):374–6.
14. Heinegård D, Lorenzo P, Saxne T. Çev: Turan Y, Eklem Kıkırdağı, In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, (ed.), Arasıl T, Duruöz T, Dinçer K, Uğurlu H, Şenel K, (çev. ed.), Romatoloji. 4. Baskı, Rotatıp Kitabevi, Ankara, 2011: 79–89.
15. Vuolteenaho K, Moilanen T, Knowles RG, Moilanen E. The role of nitric oxide in osteoarthritis. Scand J Rheumatol 2007;36(4):247–58.
16. Martel-Pelletier J, Boileau C, Pelletier JP, Roughley PJ. Best Practice and Research: Clinical Rheumatology. Cartilage in normal and osteoarthritis conditions 2008;22:351–84.
17. Poole CA. Articular cartilage chondrons: form, function and failure. J Anat 1997;191 (Pt 1):1–13.
18. Roseti L, Desando G, Cavallo C, Petretta M, Grigolo B. Articular cartilage regeneration in osteoarthritis. Cells 2019;8(11):1305.
19. Wu JJ, Woods PE, Eyre DR. Identification of cross-linking sites in bovine cartilage type IX collagen reveals an antiparallel type II-type IX molecular relationship and type IX to type IX bonding. J Biol Chem 1992;267(32):23007–14.
20. Cremer MA, Rosloniec EF, Kang AH. The cartilage collagens: a review of their structure, organization, and role in the pathogenesis of experimental arthritis in animals and in human rheumatic disease. J Mol Med 1998;76(3–4):275–88.
21. Sandell LJ, Aigner T. Articular cartilage and changes in arthritis: cell biology of osteoarthritis. Arthritis Research & Therapy 2001;3(2):1–7.
22. Li G, Yin J, Gao J, Cheng TS, Pavlos NJ, Zhang C, et al. Subchondral bone in osteoarthritis: insight into risk factors and microstructural changes. Arthritis Res Ther 2013;15(6):223.
23. Henrotin Y, Pesesse L, Sanchez C. Subchondral bone and osteoarthritis: biological and cellular aspects. Osteoporos Int 2012;23 Suppl 8(S8):S847-51.

24. Carlson CS, Loeser RF, Jayo MJ, Weaver DS, Adams MR, Jerome CP. Osteoarthritis in cynomolgus macaques: a primate model of naturally occurring disease. *J Orthop Res* 1994;12(3):331–9.
25. Scanzello CR, Goldring SR. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. *Bone* 2012;51(2):249–57.
26. Sellam J, Berenbaum F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6(11):625–35.
27. Bonnet CS, Walsh DA. Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44(1):7–16.
28. Berger MJ, McKenzie CA, Chess DG, Goela A, Doherty TJ. Quadriceps neuromuscular function and self-reported functional ability in knee osteoarthritis. *J Appl Physiol* 2012;113(2):255–62.
29. Knoop J, Steultjens MPM, van der Leeden M, van der Esch M, Thorstensson CA, Roorda LD, et al. Proprioception in knee osteoarthritis: a narrative review. *Osteoarthritis Cartilage* 2011;19(4):381–8.
30. Garsden LR, Bullock-Saxton JE. Joint reposition sense in subjects with unilateral osteoarthritis of the knee. *Clin Rehabil* 1999;13(2):148–55.
31. Hulejová H, Barešová V, Klézl Z, Polanská M, Adam M, Šenolt L. Increased level of cytokines and matrix metalloproteinases in osteoarthritic subchondral bone. *Cytokine* 2007;38(3):151–6.
32. Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Pelletier J-P, Fahmi H. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2011;7(1):33–42.
33. Martel-Pelletier J. Cytokines and their role in the pathophysiology of osteoarthritis. *Front Biosci* 1999;4(4):d694-703.
34. van den Bosch MHJ, van Lent PLEM, van der Kraan PM. Identifying effector molecules, cells, and cytokines of innate immunity in OA. *Osteoarthritis Cartilage* 2020;28(5):532–43.
35. Wang T, He C. Pro-inflammatory cytokines: The link between obesity and osteoarthritis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2018;44:38–50.
36. Mabey T, Honsawek S. Cytokines as biochemical markers for knee osteoarthritis. *World J Orthop* 2015;6(1):95–105.

37. Lee YH, Song GG. Association between IL-17 gene polymorphisms and circulating IL-17 levels in osteoarthritis: a meta-analysis. *Z Rheumatol* 2020;79(5):482–90.
38. Malemud CJ. Anticytokine therapy for osteoarthritis: evidence to date: Evidence to date. *Drugs Aging* 2010;27(2):95–115.
39. de Albuquerque R, Komsí E, Starskaia I, Ullah U, Lahesmaa R. The role of Interleukin-32 in autoimmunity. *Scand J Immunol* 2021;93(2):e13012.
40. Hong J, Bae S, Kang Y, Yoon D, Bai X, Chan ED, et al. Suppressing IL-32 in monocytes impairs the induction of the proinflammatory cytokines TNF α and IL-1 β . *Cytokine* 2010;49(2):171–6.
41. Gui M, Zhang H, Zhong K, Li Y, Sun J, Wang L, et al. Clinical significance of interleukin-32 expression in patients with rheumatoid arthritis. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2013;31(1):73–8.
42. Wojdasiewicz P, Poniatowski ŁA, Szukiewicz D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators Inflamm* 2014;2014:561459.
43. Sabat R. IL-10 family of cytokines. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010;21(5):315–24.
44. Silawal S, Willauschus M, Schulze-Tanzil G, Gögele C, Geßlein M, Schwarz S. IL-10 could play a role in the interrelation between diabetes mellitus and osteoarthritis. *Int J Mol Sci* 2019;20(3):768.
45. Sutton S, Clutterbuck A, Harris P, Gent T, Freeman S, Foster N, et al. The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis. *Vet J* 2009;179(1):10–24.
46. Gatenholm B, Brittberg M. Neuropeptides: important regulators of joint homeostasis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2019;27(3):942–9.
47. Takano S, Uchida K, Inoue G, Minatani A, Miyagi M, Aikawa J, et al. Increase and regulation of synovial calcitonin gene-related peptide expression in patients with painful knee osteoarthritis. *J Pain Res* 2017;10:1099–104.
48. Jiang W, Wang H, Li Y-S, Luo W. Role of vasoactive intestinal peptide in osteoarthritis. *J Biomed Sci* 2016;23(1):63.
49. Civinini R, Nistri L, Martini C, Redl B, Ristori G, Innocenti M. Growth factors in the treatment of early osteoarthritis. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2013;10(1):26–9.

50. Yuan Q, Sun L, Li J-J, An C-H. Elevated VEGF levels contribute to the pathogenesis of osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord* 2014;15(1):437.
51. Chikanza I, Fernandes L. Novel strategies for the treatment of osteoarthritis. *Expert Opin Investig Drugs* 2000;9(7):1499–510.
52. Yusuf E. Pharmacologic and non-pharmacologic treatment of osteoarthritis. *Curr Treatm Opt Rheumatol* 2016;2(2):111–25
53. Bliddal H, Leeds AR, Christensen R. Osteoarthritis, obesity and weight loss: evidence, hypotheses and horizons-a scoping review. *Obesity reviews* 2014;15(7):578–86.
54. Hunter DJ, Eckstein F. Exercise and osteoarthritis. *Journal of anatomy* 2009;214(2):197–207
55. Vance CGT, Dailey DL, Rakel BA, Sluka KA. Using TENS for pain control: the state of the evidence. *Pain Manag* 2014;4(3):197–209.
56. Shah N, Sheth M. Role of Interferential Therapy in Osteoarthritis Knee-A Narrative Review. *Journal of Evidence-Based Physiotherapy and Research* 2017;1(1):12–6.
57. Alqualo-Costa R, Thomé GR, Perracini MR, Liebano RE. Low-level laser therapy and interferential current in patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial protocol. *Pain Manag* 2018;8(3):157–66
58. Atamaz FC, Durmaz B, Baydar M, Demircioglu OY, Iyiyapici A, Kuran B, et al. Comparison of the efficacy of transcutaneous electrical nerve stimulation, interferential currents, and shortwave diathermy in knee osteoarthritis: a double-blind, randomized, controlled, multicenter study. *Arch Phys Med Rehabil* 2012;93(5):748–56.
59. Dilek B, Gözüml M, Şahin E, Baydar M, Ergör G, El O, et al. Efficacy of paraffin bath therapy in hand osteoarthritis: a single-blinded randomized controlled trial. *Arch Phys Med Rehabil* 2013;94(4):642–9
60. Aksoy MK, Altan L. Short-term efficacy of paraffin therapy and home-based exercise programs in the treatment of symptomatic hand osteoarthritis. *Turkish Journal of Physical Medicine and Rehabilitation* 2018;64(2):108–13.
61. Öncel A, Küçükşen S, Ecesoy H, Sodalı E, Yalçın Ş. Comparison of efficacy of fluidotherapy and paraffin bath in hand osteoarthritis: A randomized controlled trial. *Archives of Rheumatology* 2021;36(2):201–9.

62. Usman Z, Maharaj SS, Kaka B. Effects of combination therapy and infrared radiation on pain, physical function, and quality of life in subjects with knee osteoarthritis: A randomized controlled study. *Hong Kong Physiother J* 2019;39(2):133–42.
63. Stelian J, Gil I, Habot B, Rosenthal M, Abramovici I, Kutok N, et al. Improvement of pain and disability in elderly patients with degenerative osteoarthritis of the knee treated with narrow-band light therapy. *J Am Geriatr Soc* 1992;40(1):23–6.
64. Stange-Rezende L, Stamm TA, Schiffert T, Sahinbegovic E, Gaiger A, Smolen J, et al. Clinical study on the effect of infrared radiation of a tiled stove on patients with hand osteoarthritis. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 2006;35(6):476–80.
65. Leslie M. Knee osteoarthritis management therapies. *Pain Management Nursing* 2000;1(2):51–7.
66. Aciksoz S, Akyuz A, Tunay S. The effect of self-administered superficial local hot and cold application methods on pain, functional status and quality of life in primary knee osteoarthritis patients. *J Clin Nurs* 2017;26(23–24):5179–90.
67. Robertson VJ, Baker KG. A review of therapeutic ultrasound: effectiveness studies. *Phys Ther* 2001;81(7):1339–50.
68. Cakir S, Hepguler S, Ozturk C, Korkmaz M, Isleten B, Atamaz FC. Efficacy of therapeutic ultrasound for the management of knee osteoarthritis: A randomized, controlled, and double-blind study. *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation* 2014;93(5):405–12.
69. Wang H, Zhang C, Gao C, Zhu S, Yang L, Wei Q, et al. Effects of short-wave therapy in patients with knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Rehabil* 2017;31(5):660–71.
70. Nugraha DA, Haryadi RD, Cahyono S. Direct effect of short wave diathermy therapy and exercise with quadriceps bench against knee osteoarthritis patients with functional capabilities. *J Phys Conf Ser* 2019;1146:012013.
71. Jan M-H, Chai H-M, Wang C-L, Lin Y-F, Tsai L-Y. Effects of repetitive shortwave diathermy for reducing synovitis in patients with knee osteoarthritis: an ultrasonographic study. *Phys Ther* 2006;86(2):236–44.

72. Callaghan MJ, Whittaker PE, Grimes S, Smith L. An evaluation of pulsed shortwave on knee osteoarthritis using radioleucoscintigraphy: a randomised, double blind, controlled trial. *Joint Bone Spine* 2005;72(2):150–5.
73. Wyszzyńska J, Bal-Bocheńska M. Efficacy of high-intensity laser therapy in treating knee osteoarthritis: A first systematic review. *Photomed Laser Surg* 2018;36(7):343–53.
74. Wang T, Xie W, Ye W, He C. Effects of electromagnetic fields on osteoarthritis. *Biomed Pharmacother* 2019;118(109282):109282.
75. Özgüçlü E, Cetin A, Cetin M, Calp E. Additional effect of pulsed electromagnetic field therapy on knee osteoarthritis treatment: a randomized, placebo-controlled study. *Clin Rheumatol* 2010;29(8):927–31.
76. Wuschech H, von Hehn U, Mikus E, Funk RH. Effects of PEMF on patients with osteoarthritis: Results of a prospective, placebo-controlled, double-blind study: Effects of PEMF on Patients With Osteoarthritis. *Bioelectromagnetics* 2015;36(8):576–85.
77. Zhao Z, Jing R, Shi Z, Zhao B, Ai Q, Xing G. Efficacy of extracorporeal shockwave therapy for knee osteoarthritis: A randomized controlled trial. *Journal of Surgical Research* 2013;185(2):661–6.
78. Hsieh C-K, Chang C-J, Liu Z-W, Tai T-W. Extracorporeal shockwave therapy for the treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis. *Int Orthop* 2020;44(5):877–84.
79. Wang YC, Huang HT, Huang PJ, Liu ZM, Shih CL. Efficacy and safety of extracorporeal shockwave therapy for treatment of knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Pain Med* 2020;21(4):822–35.
80. Mehrotra DS, Tripathi DVK. Assessment of role of Dexamethasone phonophoresis in patients with knee osteoarthritis: A clinical study. *Int J Orthop Sci* 2020;6(3):857–9.
81. Lobo S, Yan G. Evaluation iontophoretic delivery of a cationic ketoprofen prodrug for treating nociceptive symptoms in monosodium iodoacetate induced osteoarthritic rat model. *Int J Pharm* 2019;569(118598):118598.
82. Antonelli M, Donelli D, Fioravanti A. Effects of balneotherapy and spa therapy on quality of life of patients with knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatol Int* 2018;38(10):1807–24.

83. Majeed MH, Sherazi SAA, Bacon D, Bajwa ZH. Pharmacological treatment of pain in osteoarthritis: A descriptive review. *Curr Rheumatol Rep* 2018;20(12):88.
84. Richette P, Latourte A, Frazier A. Safety and efficacy of paracetamol and NSAIDs in osteoarthritis: which drug to recommend? *Expert Opin Drug Saf* 2015;14(8):1259–68.
85. Bertin P, Keddad K, Jolivet-Landreau I. Acetaminophen as symptomatic treatment of pain from osteoarthritis. *Joint Bone Spine* 2004;71(4):266–74.
86. Trivedi S, Fang W, Ayyalasomayajula I, Vangsness CT. Pharmacotherapeutic considerations and options for the management of osteoarthritis in women. *Expert Opin Pharmacother* 2020;21(5):557–66.
87. Berenbaum F. New horizons and perspectives in the treatment of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2008;10 Suppl 2(Suppl 2):S1.
88. Altman RD, Barthel HR. Topical therapies for osteoarthritis. *Drugs* 2011;71(10):1259–79.
89. Guedes V, Castro JP, Brito I. Topical capsaicin for pain in osteoarthritis: A literature review. *Reumatol Clín (Engl Ed)* 2018;14(1):40–5.
90. Musich S, Wang SS, Schaeffer JA, Slindee L, Kraemer S, Yeh CS. Safety events associated with tramadol use among older adults with osteoarthritis. *Popul Health Manag* 2021;24(1):122–32.
91. Katz WA. Pharmacology and clinical experience with tramadol in osteoarthritis. *Drugs* 1996;52(Supplement 3):39–47.
92. Gao S-H, Huo J-B, Pan Q-M, Li X-W, Chen H-Y, Huang J-H. The short-term effect and safety of duloxetine in osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2019;98(44):e17541.
93. Blikman T, Rienstra W, van Raaij TM, ten Hagen AJ, Dijkstra B, Zijlstra WP, et al. Duloxetine in OsteoArthritis (DOA) study: study protocol of a pragmatic open-label randomised controlled trial assessing the effect of preoperative pain treatment on postoperative outcome after total hip or knee arthroplasty. *BMJ Open*. 2016;6(3):e010343.
94. Bellamy N, Campbell J, Robinson V, Gee T, Bourne R, Wells G, et al. Intraarticular corticosteroid for treatment of osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;(2): CD005328.

95. Raynauld J-P, Buckland-Wright C, Ward R, Choquette D, Haraoui B, Martel-Pelletier J, et al. Safety and efficacy of long-term intraarticular steroid injections in osteoarthritis of the knee: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2003;48(2):370–7.
96. Meray J, Günendi Z, Osteoartritte Hastalık Modifiye Eden İlaçlar. *Turkish Journal Of Geriatrics /Türk Geriatri Dergisi* 2011;14(Suppl 1):73-77.
97. Honvo G, Reginster J-Y, Rannou F, Rygaert X, Geerinck A, Rabenda V, et al. Safety of intra-articular hyaluronic acid injections in osteoarthritis: Outcomes of a systematic review and meta-analysis. *Drugs Aging* 2019;36(Suppl 1):101–27.
98. Ter Haar G. Therapeutic applications of ultrasound. *Progress in biophysics and molecular biology* 2007;93(1–3):111–29.
99. Laugier, P. Quantitative Ultrasound Instrumentation for Bone In Vivo Characterization. In: Laugier P, Häiat G(eds), *Bone Quantitative Ultrasound*. First Edition, Springer, Dordrecht, 2011; 47–71.
100. O'Brien WD Jr. Ultrasound-biophysics mechanisms. *Prog Biophys Mol Biol*. 2007;93(1–3):212–55.
101. Tuna H. Tedavi Edici Ultrasonun Etkin Kullanımında Kalibrasyon Çalışmalarının Önemi. *Turkish Journal of Physical Medicine & Rehabilitation/Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi* 2011;57(2):94-100.
102. Ng KY, Liu Y. Therapeutic ultrasound: its application in drug delivery. *Medicinal research reviews* 2002;22(2):204–23.
103. Nussbaum E. The influence of ultrasound on healing tissues. *Journal of Hand Therapy* 1998;11(2):140–7.
104. Casarotto RA, Adamowski JC, Fallopa F, Bacanelli F. Coupling Agents in Therapeutic Ultrasound: Acoustic and Thermal Behavior. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 2004;85(1):162–5.
105. Guirro R, Serrão F, Elias D, Bucalon AJ. Calibration of therapeutic ultrasound equipment. *Physiotherapy* 1997;83(8):419–22.
106. Snehota M, Vachutka J, Ter Haar G, Dolezal L, Kolarova H. Therapeutic ultrasound experiments in vitro: Review of factors influencing outcomes and reproducibility. *Ultrasonics* 2020;107(106167):106167.
107. Basford JR, Baxter GD. Fizik Tedavi Ajanları Çev: Alacaoğlu Karakaş M, Evcik D. In: Frontera WR, Basford JR, Bockenek WL, Chae J, Robinson

LR. (ed.) Arasıl T. (çev. ed.), De Lisa'nın Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon İlkeleri ve Uygulamaları. 1. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2021;1166–1167.

108. Yeğin T, Altan L, Kasapoğlu Aksoy M. The effect of therapeutic ultrasound on pain and physical function in patients with knee osteoarthritis. *Ultrasound Med Biol* 2017;43(1):187–94.

109. Ulus Y, Tander B, Akyol Y, Durmus D, Buyukakıncak O, Gul U, et al. Therapeutic ultrasound versus sham ultrasound for the management of patients with knee osteoarthritis: a randomized double-blind controlled clinical study. *Int J Rheum Dis* 2012;15(2):197–206.

110. Alfredo PP, Junior WS, Casarotto RA. Efficacy of continuous and pulsed therapeutic ultrasound combined with exercises for knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Clin Rehabil* 2020;34(4):480–90.

111. Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *Phys Ther* 2001;81(7):1351–8.

112. Doan N, Reher P, Meghji S, Harris M. In vitro effects of therapeutic ultrasound on cell proliferation, protein synthesis, and cytokine production by human fibroblasts, osteoblasts, and monocytes. *J Oral Maxillofac Surg* 1999;57(4):409–19.

113. Young SR, Dyson M. Macrophage responsiveness to therapeutic ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 1990;16(8):809–16.

114. Young SR, Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis. *Ultrasound Med Biol* 1990;16(3):261–9.

115. Naito K, Watari T, Muta T, Furuhashi A, Iwase H, Igarashi M, et al. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) increases the articular cartilage type II collagen in a rat osteoarthritis model. *Journal of Orthopaedic Research* 2010;28(3):361–9.

116. Xie S, Jiang X, Wang R, Xie S, Hua Y, Zhou S, et al. Low-intensity pulsed ultrasound promotes the proliferation of human bone mesenchymal stem cells by activating PI3K/Akt signaling pathways. *J Cell Biochem* 2019;120(9):15823–33.

117. Tien YC, Lin SD, Chen CH, Lu CC, Su SJ, Chih TT, et al. Effects of pulsed low-intensity ultrasound on human chondrocytes. *Ultrasound Med Biol* 2008;34(7):1174–81.

118. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72(1-2):248-54.
119. Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *Journal of immunological methods* 1986;89(2):271-7.
120. Wan H, Williams R, Doherty P, Williams DF. A study of the reproducibility of the MTT test. *J Mater Sci Mater Med* 1994;5(3):154-9.
121. Oliveira PDD, Oliveira DA, Martinago CC, Frederico RCP, Soares CP, Oliveira RFD. Effect of low-intensity pulsed ultrasound therapy on a fibroblasts cell culture. *Fisioterapia e Pesquisa* 2015;22:112-8.
122. de Oliveira RF, Pires Oliveira DAA, Soares CP. Effect of low-intensity pulsed ultrasound on 1929 fibroblasts. *Archives of Medical Science* 2011;7(2):224-9.
123. Mostafa NZ, Uludağ H, Dederich DN, Doschak MR, El-Bialy TH. Anabolic effects of low-intensity pulsed ultrasound on human gingival fibroblasts. *Arch Oral Biol* 2009;54(8):743-8.
124. Leung KS, Cheung WH, Zhang C, Lee KM, Lo HK. Low intensity pulsed ultrasound stimulates osteogenic activity of human periosteal cells. *Clin Orthop Relat Res* 2004;418(418):253-9.
125. Min BH, Woo JI, Cho HS, Choi BH, Park SJ, Choi MJ, et al. Effects of low-intensity ultrasound (LIUS) stimulation on human cartilage explants. *Scand J Rheumatol* 2006;35(4):305-11.
126. Choi BH, Woo J-I, Min B-H, Park SR. Low-intensity ultrasound stimulates the viability and matrix gene expression of human articular chondrocytes in alginate bead culture. *J Biomed Mater Res A* 2006;79(4):858-64.
127. Parvizi J, Wu CC, Lewallen DG, Greenleaf JF, Bolander ME. Low-intensity ultrasound stimulates proteoglycan synthesis in rat chondrocytes by increasing aggrecan gene expression. *J Orthop Res* 1999;17(4):488-94.
128. Suzuki A, Takayama T, Suzuki N, Sato M, Fukuda T, Ito K. Daily low-intensity pulsed ultrasound-mediated osteogenic differentiation in rat osteoblasts. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2009;41(2):108-15.
129. Lim K, Kim J, Seonwoo H, Park SH, Choung P-H, Chung JH. In vitro effects of low-intensity pulsed ultrasound stimulation on the osteogenic

differentiation of human alveolar bone-derived mesenchymal stem cells for tooth tissue engineering. *Biomed Res Int* 2013;2013:269724.

130. Kobayashi Y, Sakai D, Iwashina T, Iwabuchi S, Mochida J. Low-intensity pulsed ultrasound stimulates cell proliferation, proteoglycan synthesis and expression of growth factor-related genes in human nucleus pulposus cell line. *European Cells and Materials* 2009;17:15–22.

131. Inubushi T, Tanaka E, Rego EB, Kitagawa M, Kawazoe A, Ohta A, et al. Effects of ultrasound on the proliferation and differentiation of cementoblast lineage cells. *J Periodontol* 2008;79(10):1984–90.

132. Korstjens CM, Rijt RHH, Albers GHR, Semeins CM, Klein-Nulend J. Low-intensity pulsed ultrasound affects human articular chondrocytes in vitro. *Medical and Biological Engineering and Computing* 2008;46(12):1263–70.

133. Sang F, Xu J, Chen Z, Liu Q, Jiang W. Low-Intensity Pulsed Ultrasound Alleviates Osteoarthritis Condition Through Focal Adhesion Kinase-Mediated Chondrocyte Proliferation and Differentiation. *Cartilage* 2021;13:196-203.

134. Nishikori T, Ochi M, Uchio Y, Maniwa S, Kataoka H, Kawasaki K, et al. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on proliferation and chondroitin sulfate synthesis of cultured chondrocytes embedded in Atelocollagen[®] gel. *J Biomed Mater Res* 2002;59(2):201.

135. Vaughan NM, Grainger J, Bader DL, Knight MM. The potential of pulsed low intensity ultrasound to stimulate chondrocytes matrix synthesis in agarose and monolayer cultures. *Med Biol Eng Comput* 2010;48(12):1215–22.

136. Park K, Hoffmeister B, Han DK, Hasty K. Therapeutic ultrasound effects on interleukin-1 β stimulated cartilage construct in vitro. *Ultrasound in medicine & biology* 2007;33(2):286–95.

137. Sekino J, Nagao M, Kato S, Sakai M, Abe K, Nakayama E, et al. Low-intensity pulsed ultrasound induces cartilage matrix synthesis and reduced MMP13 expression in chondrocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;506(1):290–7.

138. Zhang N, Xu B, Xing R, Zhang L, Mao J, Wang P, et al. Low-intensity pulsed ultrasound inhibits IL-1 β -induced inflammation of fibroblast-like synoviosytes via NF- κ B pathway. *Appl Acoust* 2020;167(107384):107384.

139. Bertin LD, Poli-Frederico RC, Pires Oliveira DAA, Oliveira PD, Pires FB, Silva AFS, et al. Analysis of cell viability and gene expression after continuous

ultrasound therapy in L929 fibroblast cells. *Am J Phys Med Rehabil* 2019;98(5):369–72.

140. de Oliveira Perrucini PD, Poli-Frederico RC, de Almeida Pires-Oliveira DA, Dragonetti Bertin L, Beltrão Pires F, Shimoya-Bittencourt W, et al. Anti-inflammatory and healing effects of pulsed ultrasound therapy on fibroblasts. *Am J Phys Med Rehabil* 2020;99(1):19–25.

141. Tascioglu F, Kuzgun S, Armagan O, Ogutler G. Short-term effectiveness of ultrasound therapy in knee osteoarthritis. *J Int Med Res* 2010;38(4):1233–42.

142. Rodríguez-Grande E-I, Osma-Rueda J-L, Serrano-Villar Y, Ramírez C. Effects of pulsed therapeutic ultrasound on the treatment of people with knee osteoarthritis. *J Phys Ther Sci* 2017;29(9):1637–43.

143. Yıldırım MA, Uçar D, Öneş K. Comparison of therapeutic duration of therapeutic ultrasound in patients with knee osteoarthritis. *J Phys Ther Sci* 2015;27(12):3667–70.

144. Köybaşı M, Borman P, Kocaoğlu S, Ceceli E. The effect of additional therapeutic ultrasound in patients with primary hip osteoarthritis: a randomized placebo-controlled study. *Clin Rheumatol* 2010;29(12):1387–94.

EK-3: İntihal Oranımız

ORIGINALITY REPORT

9%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet	803 words — 6%
2	acikerisim.aku.edu.tr Internet	73 words — 1%
3	www.thefreelibrary.com Internet	72 words — 1%
4	www.immunohorizons.org Internet	52 words — < 1%
5	acikerisim.sakarya.edu.tr Internet	35 words — < 1%
6	dergipark.org.tr Internet	17 words — < 1%
7	www.mdpi.com Internet	16 words — < 1%
8	jitc.bmj.com Internet	15 words — < 1%
9	www.science.gov Internet	13 words — < 1%

10	Jan Dommerholt, David G. Simons. "Myofascial Pain Syndrome—Trigger Points", Journal of Musculoskeletal Pain, 2009 Crossref	12 words — < 1%
11	cms.galenos.com.tr Internet	9 words — < 1%
12	nardus.mpn.gov.rs Internet	9 words — < 1%
13	www.tftr.org.tr Internet	9 words — < 1%
14	Aydogan, Seda. "Diz Osteoartriti Olan Hastalarda Lazer Tedavisinin Etkinligi", Marmara Universitesi (Turkey) ProQuest	8 words — < 1%
15	edoc.ub.uni-muenchen.de Internet	8 words — < 1%
16	www.freepatentsonline.com Internet	8 words — < 1%
17	Bulur, Atilla. "Tnf-a Bloker Tedavisi Baslanan Romatoid Artrit Hastalarinda Tedavi oncesi ve Tedavi Sonrasi Multiplex Laboratuvar Yontemi Ile olculen Sitokin ve Kemokin Duzeyleri Ile Klinik Seyir ve Tedavi Yaniti Arasindaki Iliskinin Degerlendirilmesi", Marmara Universitesi (Turkey), 2021 ProQuest	7 words — < 1%
18	Avci, Nalan. "Magnezyum sullfat lyontoforezinin Diz Osteoartritine Etkileri", Marmara Universitesi (Turkey) ProQuest	6 words — < 1%