



T.C.

ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA MONOSODYUM İODOASETAT İLE
İNDÜKLENEN DENEYSEL TEMPOROMANDİBULAR EKLEM
OSTEOARTRİTİ MODELİNDE ALENDRONATIN TERAPÖTİK
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

ELİF ACIBADEM KURMAZ

ADYAMAN

2022



T.C.

ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA MONOSODYUM İODOASETAT İLE
İNDÜKLENEN DENEYSEL TEMPOROMANDİBULAR EKLEM
OSTEOARTRİTİ MODELİNDE ALENDRONATIN TERAPÖTİK
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

ELİF ACIBADEM KURMAZ

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. GÜNAY YAPICI YAVUZ

DOÇ. DR. AYDIN KESKİNRÜZGAR

ADİYAMAN

2022

Bu Uzmanlık Tezinin etik kurul onayı Adıyaman Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma
Laboratuvarı Deneysel Etik Kurulundan alınmıştır. (Tarih:05.03.2020)



UZMANLIK TEZİ TUTANAĞI

Adıyaman Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında Doç. Dr. Günay YAPICI YAVUZ ve Doç. Dr. Aydın KESKİNRÜZGAR danışmanlığında Dt. Elif ACIBADEM KURMAZ tarafından hazırlanan “**Sıçanlarda Monosodyum İodoasetat İle İndüklenen Deneysel Temporomandibular Eklem Osteoartriti Modelinde Alendronatın Terapötik Etkisinin Değerlendirilmesi**” adlı tez çalışması 23/05/2022 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası tarafımızca yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında Uzmanlık Tezi olarak başarılı bulunmuş ve kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Dilek Aynur ÇANKAL

Üye : Prof. Dr. Cüneyt YILMAZER

Üye : Doç. Dr. Mahmut KOPARAL

Üye : Doç. Dr. Aydın KESKİNRÜZGAR

Üye (Tez Danışmanı) : Doç. Dr. Günay YAPICI YAVUZ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım

Prof. Dr. Cüneyt YILMAZER
Diş Hekimliği Fakültesi
Dekan V.

Uzmanlık Tezi

Adıyaman 2022

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tezimin planlanması ve yürütülmesinin her aşamasında bana yol gösteren ve destek olan Sayın Doç. Dr. Günay YAPICI YAVUZ ve Doç. Dr. Aydın KESKİNRÜZGAR Hocam'a,

Tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Dilek Aynur ÇANKAL Hocam'a,

Tezimin histolojik bölümünde büyük desteği olan Doç. Dr. Zehra BOZDAĞ Hocam'a,

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile mesleğimizin şekillenmesinde emeği olan, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı değerli öğretim üyeleri hocalarıma,

Asistanlığım süresince huzurlu bir çalışma ortamını paylaştığım asistan ve hemşire arkadaşlarım ile diğer yardımcı sağlık personeline,

Beni yetiştirip bugünlere getiren ve hakkını asla ödeyemeyeceğim değerli aileme ve tüm desteğiyle yanımda olan eşime teşekkür ederim.

Arş. Gör. Dt. Elif ACIBADEM KURMAZ

ÖZET

Amaç: TME osteoartriti günümüzde sık görülen dejeneratif bir eklem hastalığıdır. Çalışmamızın amacı kemik ve kıkırdak doku üzerinde koruyucu etkisi olan ve osteoartritte görülen inflamasyonun azalmasına yardımcı olan alendronatın eklem içi enjeksiyonunun TME osteoartritinde etkisinin değerlendirilmesidir.

Materyal ve Metot: Çalışmada toplam 24 adet Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar çalışma, kontrol, salin ve sham olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Çalışma, kontrol ve salin grubundaki ratlara deneyin birinci günü osteoartrit oluşumunu indüklemek amacıyla 1 mg MİA 40µl salin içinde çözündürülerek eklem içine enjekte edildi. Dördüncü haftanın sonundan itibaren haftada bir kez olacak şekilde 4 hafta boyunca çalışma grubuna eklem içi 0.1 mg alendronat 0.02 ml uygulaması yapıldı. Salin grubuna ise aynı miktar ve rejimde salin eklem içi enjeksiyonla uygulandı. Yapılan tüm işlemler bilateral olarak uygulandı. 12. haftanın sonunda denekler sakrifiye edilerek deney sonlandırıldı. Sakrifikasyon sonrası ratların mandibulaları total olarak rezeke edilerek çıkarıldı. Mandibular kondil dokuları histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Total osteoartrit skorlaması sonuçlarına göre çalışma grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Salin grubu ile kontrol grubu arasında ve salin grubu ile çalışma grubu arasında ise anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Sham grubu ile diğer tüm gruplar arasında ise anlamlı fark mevcuttu ($p<0.05$).

Sonuç: Alendronatın eklem içi enjeksiyonunun TME osteoartriti üzerinde olumlu sonuçları bulunmaktadır. Ayrıca alendronatın osteoartrit oluşturulmuş eklem yüzeylerindeki kıkırdak doku dejenerasyonunu ve matriks proteinlerinin kaybını azaltıcı etkileri olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Temporomandibular eklem osteoartriti, Bifosfonatlar, Alendronat, Eklem içi enjeksiyon

ABSTRACT

Aim: TMJ osteoarthritis is a common degenerative joint disease today. The aim of our study is to evaluate the effect of intraarticular injection of alendronate, which has a protective effect on bone and cartilage tissue and helps reduce inflammation in TMJ osteoarthritis.

Material and Method: A total of 24 Wistar Albino rats were used in the study. Rats were divided into 4 groups as study, saline, control and sham. The rats in the study, saline and control groups were injected intraarticularly by dissolving 1 mg of MIA in 40µl of saline to induce osteoarthritis on the first day of the experiment. From the end of the fourth week, 0.1 mg alendronate was dissolved in 0.02 ml saline and administered intraarticularly to the study group weekly for 4 weeks. In the saline group, the same dose and regimen of saline was administered by intraarticular injection. All procedures were performed bilaterally. At the end of the 12th week, all groups were sacrificed and the experiment was terminated. After sacrifice, the mandibles of the rats were completely resected and removed. Mandibular condyle tissues were examined histopathologically.

Results: According to the results of total osteoarthritis scoring, a significant difference was found between the study group and the control group ($p<0.05$). No significant difference was found between the saline group and the control group, and between the saline group and the study group ($p>0.05$). There was a significant difference between the sham group and all other groups ($p<0.05$).

Conclusion: Intraarticular injection of alendronate was found to have positive results on TMJ osteoarthritis. In addition, it is seen that alendronate has effects on reducing cartilage tissue degeneration and loss of matrix proteins in osteoarthritis-induced joint surfaces.

Keywords: Temporomandibular joint osteoarthritis, Bisphosphonates, Alendronate, Intraarticular injection

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
İÇİNDEKİLER.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Temporomandibular Eklem Anatomisi	3
2.1.1. Mandibular Kondil	4
2.1.2. Glenoid Fossa ve Artiküler Eminens	4
2.1.3. Eklem Diski	4
2.1.4. Sinoviyal Sıvı.....	4
2.1.5. Ligamentler	5
2.1.6. Damarlanma	6
2.1.7. İnnervasyon.....	6
2.1.8. Çiğneme Kasları.....	6
2.2. Temporomandibular Eklem Histolojisi	7
2.3. Temporomandibular Eklem Düzensizlikleri.....	8
2.3.1. Temporomandibular Eklem Osteoartriti	12
2.4. Bifosfonatlar ve Etki Mekanizmaları	19
2.4.1. Alendronat	21
3. MATERYAL VE METOT	24
3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması	24
3.2. TME İçi Enjeksiyon Yöntemi.....	25

3.3. TME Osteoartriti Oluşturma Protokolü.....	26
3.4.TME İçi Enjeksiyonda Kullanılan İlaçlar.....	27
3.5. Deneklerin Sakrifikasyonu	28
3.6. Histopatolojik İnceleme	28
3.7. İstatistiksel Analiz.....	30
4. BULGULAR	32
4.1. Histopatolojik Bulgular	32
4.1.1. Çalışma Grubu	32
4.1.2. Kontrol Grubu	34
4.1.3. Salin Grubu	36
4.1.4. Sham Grubu	38
4.2. Histopatolojik Bulguların İstatistiksel Analizi.....	40
4.2.1. Yapısal Değişiklik Açısından Grupların Karşılaştırılması.....	41
4.2.2. Hücresel Değişiklik Açısından Grupların Karşılaştırılması.....	42
4.2.3. Safranin O Boyanma Açısından Grupların Karşılaştırılması	43
4.2.4. Tidemark Düzenliliği Açısından Grupların Karşılaştırılması	45
4.2.5. Total Modifiye Mankin Skor Açısından Grupların Karşılaştırılması	46
5. TARTIşMA	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	56
KAYNAKLAR.....	57
EKLER	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADAMTS	Trombospondin motifli disintegrin benzeri matriks metalloproteinaz
BT	Bilgisayarlı tomografi
DD	Disk deplasmanı
HA	Hyaluronik asit
IL	İnterlökin
KIBT	Konik ışınlı bilgisayarlı tomografi
MİA	Monosodyum iodoasetat
MMP	Matriks metalloproteinaz
NSAİD	Non-steroidal antienflamatuar ilaçlar
RANKL	Nükleer faktör kappa-B ligandın reseptör aktivatörü
TMD	Temporomandibular eklem düzensizlikleri
TME	Temporomandibular eklem
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Temporomandibular eklemin anatomik yapısı (1)	3
Şekil 2. Alendronatın kimyasal yapısı (57)	21
Şekil 3. Alendronatın hücre içi biyokimyasal etkisi (60).....	23
Şekil 4. Enjeksiyon yerinin belirlenmesi a) Dış kulaktan 5 mm anteriordaki noktanın belirlenmesi, b) Inferiora doğru 3 mm’lik mesafedeki noktanın belirlenmesi	26
Şekil 5. Enjeksiyon yönü ve açısı	26
Şekil 6. Eklem içi enjeksiyonda kullanılan ilaçlar a) Monosodyum iodoasetat, b) Alendronat	28
Şekil 7. Çalışma grubuna ait histolojik görüntüde gözlenen yüzey değişiklikleri, hücresel değişiklikler ve Safranin O boyanma derecesi a) Hematoksilen-Eozin, b) Safranin O boyama.....	33
Şekil 8. Kontrol grubuna ait histolojik görüntüde yapısal değişiklikler, hücre değişiklikleri ve Safranin O boyanma derecesi. a) Hematoksilen-Eozin boyanma, b) Safranin O boyanma.....	35
Şekil 9. Salin grubuna ait histolojik görüntüde gözlenen yüzeysel değişiklikler, hücre değişiklikleri ve Safranin O boyanma derecesi. a) Hematoksilen-Eozin boyanma, b) Safranin O boyanma.....	37
Şekil 10. Sham grubuna ait histolojik görüntüde normal sağlıklı kondil yapısı ve Safranin O boyanma derecesi. a) Hematoksilen-Eozin boyanma, b) Safranin O boyanma.....	39
Şekil 11. Grupların yapısal değişiklik skorlarının karşılaştırılması.....	42
Şekil 12. Grupların hücresel değişiklik skorlarının karşılaştırılması	43
Şekil 13. Grupların Safranin O boyanma skorlarının karşılaştırılması	44
Şekil 14. Grupların tidemark düzenliliği skorlarının karşılaştırılması.....	46
Şekil 15. Grupların total modifiye Mankin skorlarının karşılaştırılması	47

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Temporomandibular eklem düzensizliklerinin sınıflandırılması	9
Tablo 2. Çalışma grupları ve yapılan uygulamalar	25
Tablo 3. Modifiye Mankin Skorlaması	30
Tablo 4. Grupların deskriptif sonuçları	40
Tablo 5. Bağımsız değişkenlerin çoklu karşılaştırılması.....	40
Tablo 6. Yapısal değişiklik sonuçlarının karşılaştırılması.....	41
Tablo 7. Hücrel değişiklik sonuçlarının karşılaştırılması.....	43
Tablo 8. Safranin O Boyanma sonuçlarının karşılaştırılması	44
Tablo 9. Tidemark düzenliliği sonuçlarının karşılaştırılması	45
Tablo 10. Total modifiye Mankin skor sonuçlarının karşılaştırılması	47

1. GİRİŞ

Temporomandibular eklem (TME), mandibula kondili ile temporal kemikteki glenoid fossa arasında bulunan vücuttaki en karmaşık eklemlerden birisidir. Çiğneme ve konuşma gibi günlük hayatta çok sık kullanılan fonksiyonların gerçekleşmesini sağlamaktadır ve bu nedenle oldukça sık kullanılır. TME; eklem diski, ligamentler, sinoviyal sıvı gibi birçok yapıdan meydana gelmektedir. Bu yapılarda meydana gelen bozukluklar ve eklem hareketini etkileyen rahatsızlıklar TME düzensizlikleri (TMD) olarak adlandırılmaktadır (1,2).

TMD, çevre kasların rahatsızlıklarından TME içi düzensizliklere kadar birçok şekilde karşımıza çıkmaktadır. Özellikle TME içi düzensizliklerden redüksiyonlu ve redüksiyonsuz disk deplasmanları oldukça sık karşılaşılan rahatsızlıklardandır (3). Hastaların alışkanlıkları, stres düzeyi ve rahatsızlığın ilerlemesine bağlı olarak bu rahatsızlıklar ileri dönemde eklemdeki kemik ve kıkırdak dokunun yapısının bozulup dejenere olmasıyla karakterize TME osteoartriti tablosuna dönüşebilmektedir. TME osteoartriti oldukça ağrılı, hastanın günlük yaşam kalitesini olumsuz etkileyen bir tablodur (4).

TME osteoartriti tedavisinde ise koruyucu yöntemlerden ileri cerrahilere kadar çeşitli tedavi seçeneklerine başvurulmaktadır. Bu yöntemler içinde artrosentez ve TME içi enjeksiyonlar oldukça sık başvurulmuş minimal invaziv tedavi yöntemlerindendir. Özellikle TME içi enjeksiyon yöntemleri çeşitli ajanların terapötik etkilerinden faydalanmak amacıyla sık tercih edilmektedir. Bu amaçla hyaluronik asit ve kortikosteroidler sık kullanılan ajanlardır (5).

Bifosfonatlar, çeşitli kemik metabolizma hastalıklarının tedavisinde özellikle kemik rezorpsiyonunu engellemek ve bazı malignitelerin kemik metastazını önlemek amacıyla sıklıkla kullanılan ilaçlardır (6,7). Bifosfonatlar kemik dokuya oldukça yüksek afinite ile bağlanırlar ve yarılanma ömürleri yaklaşık 10 yıldır. Özellikle osteoklastlara etki ederek kemik rezorpsiyonunu inhibe ederler. Bununla beraber bifosfonatların gastrointestinal rahatsızlıklar ve çenelerde osteonekroza neden olmak gibi yan etkileri mevcuttur (6,8).

Alendronat nitrojen içerikli olan bifosfonatlardan olup özellikle osteoporoz ve Paget hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır. Osteoklastlara afinitesi osteoblastlara

oranla 10 kat fazladır. Kemik turn over hızını düşürürler ve rezorpsiyonu engellerler. Yarılanma ömrü de yaklaşık 10.5 yıl olarak gösterilmektedir (6,9).

Bifosfonatların tüm bu işlevleri ile ilgili olarak literatürde kemik ve kıkırdak doku üzerindeki etkilerinin incelendiği birçok çalışma mevcuttur. Genel olarak bifosfonatların in-vitro ve hayvan çalışmalarında kemik ve kıkırdak doku üzerinde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (10–14). Osteoartrit tabiatı itibarı ile kemik ve kıkırdak dokuda dejenerasyon ve kayıpla karakterize bir hastalıktır.

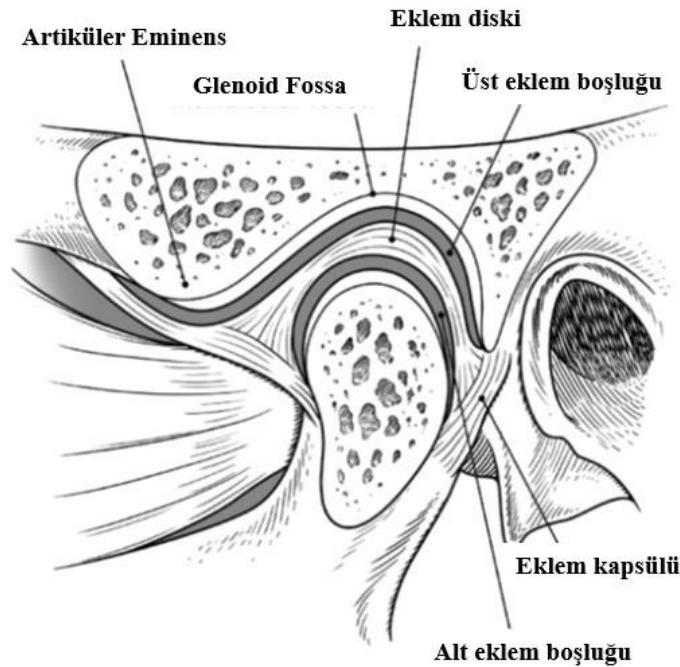
Tüm bu bilgiler ışığında bifosfonatların kemik ve kıkırdak dokudaki koruyucu etkilerinin TME osteoartriti tedavisinde etki gösterebileceğine dair bir öngörümüz oluştu ve deneysel olarak oluşturulmuş TME osteoartritinde eklem içi enjeksiyonla uygulanan alendronatın terapötik etkisini değerlendirmeyi amaçladık. Yaptığımız literatür taramasında bu konu ile oldukça sınırlı sayıda çalışma yapıldığı görülmüştür. Bu durum çalışmamızın özgün değerini ortaya koymaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Temporomandibular Eklem Anatomisi

TME; temporal kemikteki glenoid fossa ile mandibular kondil arasında bulunan ginglimoartrodial tip bir eklemdir. Kayma ve menteşe hareketleri yapmaktadır. TME'nin yapısında; kemik, eklem diski, sinoviyal sıvı, sinoviyal membran, fibröz kapsül ve ligamentler bulunmaktadır. Eklem diski sert-yoğun fibröz bağ dokudan oluşurken eklem kapsülü kalın bağ doku membranı yapısındadır. İnsan vücudundaki diğer eklemlerden farklı olarak TME'nin eklem yüzeyleri hyalin değil fibröz kıkırdaktan oluşmaktadır. Eklem diski eklemi ikiye böler. Böylece biri glenoid fossa ile disk arasında diğeri mandibular kondil ile disk arasında olmak üzere 2 eklem boşluğu oluşmaktadır (1–3).

TME çiğneme ve konuşma fonksiyonlarını sağlamaktadır. Bu fonksiyonların sağlanmasında kemikler, çiğneme kasları, ligamentler rol oynamaktadır. Hareket için okluzyon yönlendiricidir. Bilateral olarak bulunan TME tek bir kemik olan mandibulaya bağlıdır ve birlikte hareket etmektedir (2). TME'nin anatomik yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Temporomandibular eklemin anatomik yapısı (1)

2.1.1. Mandibular Kondil

Mandibular kondil, mandibulanın her iki tarafında kondil boyunun üzerinde bulunan oval şekilli çıkıntıdır. Mediolateral olarak genişliği yaklaşık 15-20 mm, anteroposterior olarak uzunluğu ise yaklaşık 8-10 mm'dir. Eklem yüzeyi anterosuperior yönde eğim gösterir ve ağız kapalıyken artiküler eminensin arka yüzeyi ile ilişkili haldedir. Kondilin anatomik yapısı kişiden kişiye değişkenlik göstermektedir. (2).

2.1.2. Glenoid Fossa ve Artiküler Eminens

Glenoid fossa, temporal kemiğin skuamoz kısmında yer alır. Glenoid fossanın anteriorunda ise artiküler eminens adı verilen bir çıkıntı bulunur. Bu çıkıntı eklem hareketleri açısından oldukça önemlidir. Artiküler eminensin konveks yapısı kişiden kişiye değişmektedir. Glenoid fossanın posteriorunu oluşturan kemik oldukça inceyken artiküler eminens kısmında kemik daha kalın bir yapıya sahiptir. Bu durum fonksiyon esnasında artiküler eminense gelen kuvvet yoğunluğunun göstergesidir (2,3).

2.1.3. Eklem Diski

Eklem diski mandibular kondil ile glenoid fossa arasında yer almaktadır. İç bükey şekilli fibrokartilaj lifli yapıya sahiptir. Lifler anterior ve posteriorda daha çok enine uzanırken medialde anteroposterior yönde uzanmaktadır. Bu lifler diskten dışarıya doğru da uzanarak kapsüle ve kondile tutunmaktadır. Böylece fonksiyon sırasında kondil ve disk birlikte hareket etmektedir. Disk yapısal olarak anterior ve posteriorda kalın medialde ise incedir. Bu bölümlerin ortalama kalınlıkları posteriorda 3 mm, anteriorda 2 mm ve medialde 1 mm'dir (2).

Eklem diski eklem boşluğunu ikiye böler. Üst eklem boşluğunda kayma hareketi, alt eklem boşluğunda ise menteşe hareketi gözlenmektedir. Eklem diski glenoid fossa ve kondil arasında stresi azaltıcı bir tampon görevi görür ve fonksiyon sırasında oluşan kuvvetleri dengeli bir şekilde dağıtır (2,15).

2.1.4. Sinoviyal Sıvı

Eklem yüzeylerinin beslenmesini ve sürtünmeyi azaltan kayganlaştırmayı sinoviyal membran tarafından salgılanan sinoviyal sıvı sağlamaktadır (3). TME'de oluşan inflamasyon durumlarında sitokinler, proteazlar gibi bazı mediatörler sinovial sıvıda birikmektedir (1).

2.1.5. Ligamentler

İnsan vücudundaki eklemlerde ligamentler eklem yapısının korunmasında önemli rol oynamaktadır. Ligamentler kollajen bağ dokudan oluşmaktadır ve normalde esnemezler. Fakat yüksek basınca maruz kaldıklarında zamanla uzayabilirler. Bu durum bazı TME hastalıklarının patolojisinde rol oynamaktadır. TME yapısında bulunan ligamentler fonksiyonel ve aksesuar ligamentler olarak iki grupta incelenmektedir (3).

Fonksiyonel ligamentler:

Kapsüler, kollateral (diskal) ve temporomandibular ligament olmak üzere üç tanedir. Kapsüler ligament; fibröz kapsül olarak da bilinmektedir. Eklemi tamamen sararak sinoviyal sıvının korunmasını sağlamaktadır. Ayrıca proprioseptif duyu sayesinde hareket ve pozisyonun algılanması da kapsüler ligamentin görevidir (3).

Kollateral (diskal) ligament, hem diske hem de kondile yapışarak eklem diskinin kondilden ayrılmasını engellemektedir. Medial ve lateralde iki ayrı ligament olarak bulunur. Bu durum diskin menteşe hareketinde anteroposterior yönde bir miktar hareket etmesine izin vermektedir. Diskal ligamentin damarsal beslenmesi ve sinir innervasyonu bulunmaktadır. İnnervasyon sayesinde eklem pozisyonu ve hareket algılanmaktadır. Ayrıca zorlanma durumunda ağrı oluşturmaktadır (3).

Temporomandibular ligament; dış oblik parça ve iç horizontal parça olarak ikiye ayrılmaktadır. Dış oblik parça ağzın aşırı açılmasına engel olmaktadır. İç horizontal parçanın görevi ise kondil ve diskin posteriora olan hareketini sınırlandırmaktır. Böylece retrodiskal dokuları kondilin posteriora olan hareketinden oluşabilecek travmalara karşı korumaktadır (3).

Aksesuar ligamentler:

Sfenomandibular ligament; sfenoid kemik ile mandibulanın medial yüzünde bulunan lingula mandibula arasında uzanmaktadır. Eklem hareketleri açısından engelleyici bir etkisi bulunmamaktadır (3).

Stylomandibular ligament; styloid prosten mandibula ramusunun posterioruna ve angulusa uzanmaktadır. Mandibulanın aşırı protrüzyonuna engel olmaktadır (3).

2.1.6. Damarlanma

TME'nin beslenmesi temel olarak maksiller arter, temporal arter ve meningeal arter tarafından sağlanmaktadır. Ayrıca kapsülün her yerinde bol miktarda venöz pleksus bulunmaktadır (2,15).

2.1.7. İnnervasyon

TME'nin motor ve duysal innervasyonunu trigeminal sinirin üçüncü dalı olan mandibular sinirin dalı aurikulotemporal sinir sağlamaktadır. Ayrıca derin temporal ve masseterik sinirler de innervasyona katkıda bulunmaktadır (3).

2.1.8. Çiğneme Kasları

Mandibulanın hareket etmesini sağlayarak çiğneme fonksiyonunu yerine getiren 4 temel kas bulunmaktadır. Bu kaslar; masseter, temporal, medial pterygoid ve lateral pterygoid kaslardır. Bu kaslar dışında çiğneme fonksiyonuna yardımcı olan çevre doku kasları da mevcuttur (15).

Masseter kas:

Zigomatik arkta ramusun laterale doğru uzanan dikdörtgen şekilli kastır. Yüzeysel ve derin olmak üzere iki parçaya ayrılmaktadır. Yüzeysel parça mandibulanın protrüzyon hareketinde etkili olmakta, derin parça ise protrüzyon ve ısırma kuvveti altında kondili artiküler eminense karşı stabilize etmektedir. Masseter çiğnemeye katkı sağlayan en güçlü kastır ve trigeminal sinirin üçüncü dalı olan mandibular sinir tarafından innerve edilmektedir (3,15).

Temporal kas:

Kafatasının lateral yüzeyinde temporal fossa bölgesinden başlayan lifler aşağı doğru birleşerek koronoid proses ve ramus ön kenarına yapışarak yelpaze şeklinde temporal kası oluşturmaktadır. Liflerin uzanım yönlerine göre temporal kas üç gruba ayrılır. Anterior parça lifleri vertikal, orta parça lifleri oblik, posterior parça lifleri ise horizontale yakın şekilde seyretmektedir (3,15).

Temporal kas anterior ve orta liflerin kasılması ile mandibula eleve olmakta ve dişler teması gelmektedir. Ayrıca orta ve posterior liflerin kasılması sonucu da mandibulada retrüzyon hareketi gözlenmektedir (3).

Medial pterygoid kas:

Pterygoid fossadan başlayarak ramus medialis boyunca uzanan ve mandibula angulusunun medialisine yapışan dikdörtgen şekilli bir kastır. masseterle birlikte mandibulayı asan kaslar olarak bilinmektedirler. Medial pterygoid kasıldığında mandibula eleve olur ve dişler temasa gelir. Ayrıca bu kasın aktivasyonu mandibulada protrüzyona da neden olmaktadır (3).

Lateral pterygoid kas:

Fossa infratemporalis ile mandibula kondili arasında uzanan kastır. İnferior ve superior olmak üzere iki parçadan oluşmaktadır. İnferior parça superior parçadan yaklaşık üç kat daha geniştir (15).

İnferior lateral pterygoid kas, lateral pterygoid çıkıntından başlar ve kondil boynuna yapışır. Bu kas bilateral olarak kasıldığında kondiller aşağıya ve artiküler eminense doğru hareket eder ve protrüzyona neden olur. Bu kaslar mandibula depresör kasları ile birlikte kasıldığında ise mandibula aşağı doğru, kondilde artiküler eminens üzerinde aşağı doğru kayar ve sonuçta ağız açılır. Unilateral kasılma sonucunda ise mediotruziv hareket gözlenmektedir (3).

Superior lateral pterygoid kas, sfenoidin büyük kanadının infratemporal yüzeyinden başlar ve artiküler kapsül, disk ve kondil boynuna yapışır (3,15). Ağız açma sırasında inaktif durumdadır. Elevatör kaslar ile beraberliğinde ve özellikle dişler okluzyonda iken güç uygulandığında aktif hale gelmektedir. Bu kasın liflerinin büyük çoğunluğu (%60-70) kondil boynuna yapışmaktadır. Geri kalan kısmı ise artiküler diske tutunur. Bu kas kasıldığında diskin anteriora yer değiştirdiği ve posteriora hareketinin kısıtlandığı bildirilmektedir (3).

2.2. Temporomandibular Eklem Histolojisi

Eklem kıkırdağı temel olarak kondrositler ve ekstraselüler matriksten oluşur. Matriksi oluşturan kollajen, proteoglikan, glikoprotein gibi molekülleri kondrositler üretmektedir (16). TME eklem kıkırdağının yapısı vücuttaki diğer eklemlerden biraz daha farklıdır. Bunun temel nedeni TME ve mandibulanın diğer eklemlerdeki gibi endokondral kemikleşme ile değil de intramembranöz kemikleşme ile gelişmesidir. Bu nedenle TME kıkırdak yapısında kondroprogenitör hücreler derinlere gömülü şekilde bulunmaktadır.

Mandibular kondil eklem kıkırdığı dört katmandan oluşmaktadır. Bu katmanlar yüzeyden derine doğru artiküler bölge, proliferatif bölge, fibroartilaj bölgesi ve kalsifiye kıkırdak bölgesidir (3). Artiküler bölgede diğer eklem kıkırdaklarındaki gibi hyalin kıkırdak yapısı yoktur. Bunun yerine yoğun fibröz bağ dokusundan oluşmaktadır. Kollajen fibrillerin büyük çoğunluğu demetler şeklinde artiküler yüzeye paralel konumlanmaktadır. TME'deki fibröz kıkırdak yapısı yaşlanma etkilerine hyalin kıkırdağa göre daha az duyarlıdır ve onarım yeteneği daha fazladır (17,18).

Proliferatif bölge temel olarak hücrelerin bulunduğu ve fonksiyondaki yüklenmeye bağlı olarak fonksiyonel ihtiyaç durumunda eklem kıkırdığının çoğalmasından sorumlu olan bölgedir. Fibroartilaj bölgesinde kollajen fibriller üç boyutlu bir ağ yapısı oluşturarak sıkıştırıcı ve yan kuvvetlere karşı mukavemet sağlamaktadır. Kalsifiye kıkırdak bölgesinde dağılmış şekilde kondrositler ve kondroblastlar bulunmaktadır. Bu bölgede kondrositlerin hipertrofisi, ölümü ve sitoplazmalarını boşaltmaları sonucunda kemik hücrelerini oluşturduğu görülmektedir (3).

2.3. Temporomandibular Eklem Düzensizlikleri

TMD çiğneme kasları, temporomandibular eklem ve onu çevreleyen kemik ve yumuşak dokuların rahatsızlıklarından ve bunların kombinasyonlarından oluşmaktadır. TMD semptomları; çiğneme kaslarında ağrı, mandibular hareketlerde kısıtlılık, TME ağrısı, fonksiyon esnasında çıkan sesler, genel myofasial ağrı, ağız açıklığında kısıtlılık ve deviasyon olarak görülmektedir (19).

TMD insanların yaklaşık olarak %6-12'sinde ve kadınlarda erkeklerden çok daha fazla oranda görülmektedir (19,20). Geniş yaş aralığında görülmesine karşın özellikle 20-40 yaş arasında TMD görülme oranı en yüksek seviyede bulunmaktadır (19). TMD etyolojisinde birçok faktör rol oynamaktadır. Çene ve TME yaralanmaları, bruksizm ve diş gıcırdatma, stres, romatoid artrit gibi etkenler etyolojide gösterilmektedir (21).

TMD ile ilgili birçok sınıflandırma mevcuttur. Genel olarak eklem içi düzensizlikler ve çevre kaslarla ilgili rahatsızlıklar olarak ayrılmaktadırlar. TMD sınıflaması ile ilgili Amerikan Orofasiyal Ağrı Akademisi ve Uluslararası Başağrısı Derneği'nin birlikte yaptıkları ve Okeson tarafından geliştirilen sınıflama Tablo 1'de gösterilmiştir (3).

Tablo 1. Temporomandibular eklem düzensizliklerinin sınıflandırılması

Çiğneme Kasları ile İlgili Düzensizlikler	Kronik Mandibular Hipomobilité	Gelişimsel Bozukluklar	TME İçi Düzensizlikler
1.Koruyucu ko-kontraksiyon	1.Ankiloz	1.Konjenital ve gelişimsel kemik düzensizlikleri	1.Kondil-disk kompleksindeki düzensizlikler
2.Lokal kas ağrısı	a.Fibröz	a.Agenezi	a.Disk deplasmanı
3.Myofasiyal ağrı	b.Kemiksel	b.Hipoplazi	b.Redüksiyonlu disk deplasmanı
4.Myospazm	2.Kas Kontraktürleri	c.Hiperplazi	c.Redüksiyonsuz disk deplasmanı
5.Myozit ve diğerleri	a.Myostatik	d.Neoplazi	2.Eklem yüzeylerinin yapısal uyumsuzlukları
	b.Myofibrotik	2.Konjenital ve gelişimsel kas düzensizlikleri	a.Şekil değişiklikleri
	3.Koronoid impedans	a.Hipotrofi	b.Adezyonlar
		b.Hipertrofi	c.Sublüksasyon
		c.Neoplazi	d.Spontan dislokasyon
			3.TME'nin inflamatuvar hastalıkları
			a.Sinovit/kapsülit
			b.Retrodiskit
			c.Artritler
			-Osteoartrit
			-Poliartrit

Çiğneme kasları ile ilgili düzensizlikler:

Çiğneme kaslarının normal fonksiyonuna engel olabilecek yüksek restorasyon, uzun süren ağız açma, uzun süreli sakız çiğneme ve genel anestezi gibi bazı durumlar oluştuğunda çiğneme kasında ilk tepki olarak koruyucu ko-kontraksiyon gelişmektedir. Stres gibi bazı sistemik faktörler de normal kas fonksiyonunu bozmaktadır. Koruyucu ko-kontraksiyon santral sinir sisteminin mevcut olağan dışı duruma verdiği bir tepkidir. İstirahatte ağrı olmazken fonksiyon sırasında ağrı meydana gelir ve hasta hareketleri yapmaktan kaçınır. Bu olaya sebep olan etken çözülmez ve süreç uzarsa lokal yapısal değişiklikler ve biyokimyasal cevaplar oluşmaya başlar (3,22).

Predispozan faktörlerin uzun süreli varlığında cevap olarak lokal kas ağrısı ve myofasiyal ağrılar oluşmaya başlamaktadır. Lokal kas ağrıları bilateral olarak ağız ve yanak bölgesinde görülen spazm şeklinde görülmektedir. Ağrı sebepli olarak ağız açıklığında azalma görülmektedir. Myofasiyal ağrılar ise künt bölgesel ağrılardır. Baş ağrısı ya da diş ağrısı gibi hissedilebilir ve tetik noktaları vardır. Tetik noktalarına palpasyon yapıldığında hassasiyet gözlenmektedir (23,24).

Myospazm kasın istemsiz ve ani kasılması sonucu gelişen şiddetli ağrı ile karakterize bir durumdur. Herhangi bir çiğneme kasında görülebilmektedir. Myozit ise çevre dokulardan gelen ya da travma sonucu kasta oluşan bir enfeksiyon varlığıdır. Kasta şiddetli ağrı, palpasyon hassasiyeti, kızarıklık ve şişlik gözlenmektedir. Myospazm ve myozit özellikler lateral pterigoid kasta meydana gelirse ağız açıklığında kısıtlılık gözlenir (25,26).

Kronik mandibular hipomobilité:

Ağrı olmaksızın uzun süreli alt çene hareketinin kısıtlandığı durumlardır. Ağız açıklığı sınırlanır zorlandığında ağrı oluşabilir. Klinik olarak bu duruma en sık ankiloz nedenli rastlanmaktadır (22). Ankiloz; eklem içi yüzeylerde adezyon sonucunda meydana gelen hareket kısıtlılığı olarak tanımlanmaktadır. Ankiloz; travma, enfeksiyon, sistemik hastalıklar ve cerrahi tedaviler sonucunda görülebilmektedir. Fibröz ve kemiksel olarak iki tiptir. Fibröz ankiloz eklem bileşenlerinin yumuşak dokularının birleşmesi ile meydana gelir kemik yüzeyler normaldir. Kemiksel ankilozda ise kondil ile temporal kemik arasında kemik köprülerle bağlantılar söz konusudur. Ankiloz bilateral veya unilateral olarak gözlenebilmektedir. Unilateral ankiloza sıklıkla travma

veya enfeksiyon neden olmaktadır. Bilateral ankilozun en sık nedeni romatoid artrit veya daha nadiren bilateral fraktür olabilmektedir (21,26).

Gelişimsel bozukluklar:

TME'nin gelişimsel bozukluklarını nadiren rastlanmaktadır. Agenezi kondilin olmaması olarak tanımlanır ve oldukça nadirdir. Kondiler hipoplazi; gelişimin erken döneminde hücre yoğunlaşmalarında meydana gelen farklılıklar sonucunda görülebilir ve nadirdir. Genellikle ağrısızdır. Ramus vertikal yüksekliği azalmış olarak gözlenir. Kondiler hiperplazi; etyolojisi net olarak bilinmemekle beraber subkondral büyüme merkezinin büyüme gelişime devam etmesi neden olarak gösterilmektedir. Genellikle adölesan dönemde gözlenmektedir. Kondildeki büyümenin devamlılığı sebebiyle yüze göre daha fazla gelişir ve fasiyal asimetriye neden olur. Kondil normal görünümündedir fakat simetriğine göre daha geniş ve değişik formda gözlenebilir. TME'de neoplazilere oldukça nadir rastlanmaktadır. Primer veya sekonder olabilirler (27).

TME içi düzensizlikler:

TME ile ilgili rahatsızlıklardan en sık karşılaşılanları eklem içi düzensizliklerdir. Asemptomatik olarak görülebileceği gibi ilerlediği durumlarda iltihabi değişikliklere de neden olabilmektedir. Eklem içi düzensizlikler travma ile oluşabileceği gibi uzun süreli bruksizme bağlı olarak eklem aşırı yüke maruz kalması sonucu da oluşabilmektedir (3,27).

Kondil-disk kompleksinde görülen düzensizliklerden en sık görüleni disk deplasmanıdır (DD). Semptomların görüldüğü olgularda karşılaşılabileceği gibi asemptomatik olgularda da disk deplasmanı görülebilmektedir. DD'de, eklem diskindeki morfolojik değişiklikler ve diskal ligamentin uzamasına bağlı olarak eklem diskinin kondilin eklem yüzeyindeki pozisyonu değişmektedir. Yani disk deplasmanında eklem diski normal anatomik pozisyonunun dışına çıkmaktadır (27,28).

Redüksiyonlu DD'de ağız kapalı olduğunda eklem diski kondilin anteriorunda konumlanmaktadır. Ağız açılmaya başladığında eklem diski kondilin anteriounda hareket eder ve maksimum ağız açıklığına gelindiğinde kondil eklem diskinin posteriorunu atlar. Böylece maksimum açıklık sağlandığında eklem diski ile kondil normal pozisyonuna dönmektedir. Kondilin diskin posteriorunu atlarken çıkardığı ses

ise klik sesi olarak adlandırılmaktadır. Ağız kapatıldığı esnada kondilin geriye hareketi ile duyulan ikinci klik sesi ise respirokal klik sesidir (29,30).

Redüksiyonsuz DD’de redüksiyonlu disk deplasmanından farklı olarak kondil-disk ilişkisi ağzın hem açık hem de kapalı pozisyonunda bozulmuştur. Eklem diski kondilin anteriorunda konumlanmaktadır. Redüksiyonsuz DD çoğunlukla var olan redüksiyonlu DD’nin ilerlemesi sonucunda görülmektedir. Redüksiyonsuz DD’de klik sesi duyulmaz. Ağız açıklığı kısıtlanmıştır (27). Akut ve kronik olmak üzere iki tipi vardır. Akut redüksiyonsuz DD’nin diğer adı kapalı kilitlenmedir. Hasta daha önce ağzını açabildiğini fakat hareket esnasında ses geldiğini söylemektedir. Daha sonra ise ağrılarla başlayan ağız açıklığının kısıtlılığı ve seslerin azalmasını tarif eder ve artık normal fizyolojik hareketleri yapamamaktadır. Kronik redüksiyonsuz DD’de ise akut tablonun ilerleyen zamanlarında ağız açmadaki kısıtlılık azalır. Ağız açıklığının artma nedeni normal disk-kondil uyumu değildir. Retrodiskal dokuların geriliminin artması ile diskin konumunun anteriora daha fazla yer değiştirmesidir (26).

Eklem içi bölgede düzensizliğe neden olan etyolojik faktörün uzun süre devam etmesiyle fizyolojik sınırların aşılmasına bağlı olarak eklemde dejeneratif değişiklikler görülmektedir. TME’de görülen dejeneratif rahatsızlıklardan en önemlisi ve en sık karşılaşılanı ise temporomandibular eklem osteoartritidir (3,26). TME’nin inflamatuvar hastalıkları içinde sınıflandırılmaktadır. Karakteristik bulgusu fonksiyon ile beraber artış gösteren sürekli ve derin ağrıdır. Palpasyonda hassasiyet ve kas spazmında artma gibi semptomlar da görülebilir (22)

2.3.1. Temporomandibular Eklem Osteoarriti

Osteoartrit; primer olarak eklemleri etkileyen dejeneratif bir hastalıktır. Kıkırdak dokuda bozukluklar, subkondral kemikte yıkım, osteofit oluşumu, sinovit, kas ağrısı ve kronik ağrı ile karakterizedir (4). TME’nin inflamatuvar hastalıklardan olan temporomandibular eklem osteoarriti; artiküler dokularda yıkıma neden olan ve tipik osteoartrit bulgularının gözlemlendiği bir hastalıktır (26). TME osteoarriti hastalarında yaygın olarak yaşam kalitesini olumsuz etkileyen fonksiyonda kısıtlılık ve ağrı semptomları gözlenmektedir (4).

TME osteoarriti etyolojisine bakılarak primer ve sekonder olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer TME osteoarriti; sistemik bir etki olmadan çoğunlukla parafonksiyonel alışkanlıklar, travma veya aşırı kuvvetlere bağlı olarak gelişen kemik

dejenerasyonu ve inflamasyonu olarak tanımlanır. Sekonder TME osteoartriti ise sistemik osteoartrite sahip olan hastalarda görülen TME'nin inflamatuvar enfeksiyöz hastalığıdır (4,26).

TME osteoartriti popülasyonda yaklaşık olarak %8-16 oranında gözlenmektedir. Bu hastaların %80'inden fazlası kadınlardır ve görülme yaş aralığı 18-45 yaş arasındadır (4,31). Primer TME osteoartritin görülme sıklığı %18.01-%84.74, sekonder TME osteoartritin görülme sıklığı ise romatoid artrit hastaları için %45-%92.85, juvenil idiopatik artrit hastaları için ise %40.42-%93.33 olarak raporlanmıştır (32).

TME osteoartrinde eklem içi düzensizlikler mevcuttur. Bu düzensizlikler zaman içinde eklem yüzeylerinde inflamasyona neden olmaktadır. İnflamasyon ise süreç içinde eklem yüzeyinde dejeneratif değişikliklere ve ilerleyen dönemde ise eklemi oluşturan kemiklerde rezorpsiyonlara kadar ilerlemektedir. Tüm bu süreç aktif osteoartrit süresince hastalarda ciddi ağrılara neden olmaktadır (26).

Teşhis yöntemleri:

TME osteoartriti teşhisinde birçok klinik ve radyolojik bulgudan yararlanılmaktadır. Klinik bulguları; kulağın ön bölgesinde hissedilen kulak ağrısı ile birlikte veya kulak ağrısı olmadan görülen derin ağrı, klik sesi ile birlikte veya klik sesi olmaksızın duyulan krepitus, bilateral palpasyonda eklem ağrısı olarak belirtilmektedir (33).

TME osteoartritin görüntüleme yöntemleri ile incelenmesinde görülen çeşitli bulgular mevcuttur. Bunlar mandibular kondil, glenoid fossa ya da artiküler emineste gözlenen dejeneratif, patolojik ve adaptif değişikliklerdir. Patolojik değişiklikler; erozyon, osteofit oluşumu ve deformiteler olarak belirtilmektedir. Adaptif değişiklikler ise marjinal proliferasyon, artiküler eminens veya kondilde düzleşme, konkavite, skleroz oluşumu ve subkondral kistleri kapsamaktadır (34,35).

TME osteoartriti teşhisinde birçok görüntüleme yönteminden faydalanılmaktadır. Konvansiyonel panoramik filmler özellikle maksillo-mandibular yapının tamamının genel olarak görülmesi ve diğer dental etkenlerin ayırıcı teşhisinde kullanılmaktadır (35). Özellikle erken dönemdeki değişiklikler ile disk deplasmanlarının teşhisinde manyetik rezonans görüntüleme etkili bir yöntemidir. İleri dönem osteoartritte

kemik değişikliklerinin tespitinde ise bilgisayarlı tomografi (BT) ve konik ışınlı bilgisayarlı tomografi (KIBT) kullanımı önerilmektedir. KIBT'nin BT'ye oranla daha az radyasyon dozuna sahip olması, daha ayrıntılı ve çok yönlü (aksiyal, koronal, sagittal) görüntü sağlaması kapsamlı incelemeye olanak vermektedir (34,35).

Ultrasonografi ve kemik sintigrafisi de son dönemlerde TME osteoartriti teşhisinde araştırılan görüntüleme yöntemlerindendir. Özellikle ultrasonografinin radyasyon içermemesi ve umut verici sonuçları ilerde alternatif görüntüleme yöntemi olabileceğini düşündürmektedir (36,37).

Patogeneizde etkili faktörler:

TME osteoartriti patogenezinde birçok mekanizma etkili olmaktadır ve bu konu halen araştırılmaktadır. Patogeneizde rol oynayan faktörler; inflamasyon, artmış mekanik stres, subkondral kemiğin anormal remodelasyonu, kondrosit apoptozu, katalitik enzimler, östrojen ve genetik faktörler olarak gösterilmektedir (38).

-İnflamasyon: Osteoartrit uzun süreli inflamatuvar bir süreç sonucunda oluşmaktadır. Bazı metabolik ve mekanik faktörler sonucunda erken eklem kıkırdığında erken hasarlanma meydana gelmektedir. Bunun sonucunda ise bir dizi biyomekanik değişiklik başlar ve eklem çevresindeki dokularda immün cevap oluşur. Bu immün cevapta çeşitli mediatörlerin salınması ile kıkırdak hasarında rol oynayan faktörler aktive olmaktadır (35).

Kıkırdak hasarının oluşmasında matriks metalloproteinaz (MMP) ve prostoglandin E rol almaktadır. Ayrıca mononükleer hücrelerin sinoviyal dokuya geçişinde MCP-1 (monosit kemoatraktan protein 1) etkilidir ve inflame sinoviyal dokuda arttığı tespit edilmiştir (35,38). TME osteoartrisinde sinoviyal sıvıda arttığı gözlenen mediatörler; interlökin-12 (IL-12), IL-1 β , IL-6, TNF α (tümör nekrozis faktör alfa), CTX-I, CTX-II (karboksi terminal telopeptit I ve II) ve serum kıkırdak oligomerik matriks proteindir. Tüm bu mediatörlerin TME osteoartriti ile ilişkili olduğu gösterilse de bu mediatörlerin osteoartrit sürecinde artıp artmadığı ya da TME osteoartritine özgü bir mediatörün olup olmadığı halen araştırma konusudur (38).

-Artmış mekanik stres: Eklemde parafonksiyonel alışkanlıklar ya da yüksek restorasyonlar gibi faktörlere bağlı olarak görülen artmış mekanik stres kıkırdak hasarının oluşumunda indükleyici rol oynamaktadır. Artan aşırı stres sonucu eklem

yüzeylerindeki kıkırdakta plazminojen aktivatör sistemi aktive olmaktadır. Bu sistem ise ekstraselüler matriks bileşenlerinin proteolizine neden olmaktadır (38).

Mekanik stresin artması hipoksi oluşturmakta bu da vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) aktivasyonunu sağlamaktadır. VEGF'nin aktivasyonu MMP salınımının artmasına ve doku MMP inhibitörünün ise salınımının azalmasına neden olmaktadır. Sonuçta kıkırdak dokudaki yapım yıkım dengesi bozularak kıkırdak hasarı oluşmaktadır (5).

Artmış mekanik stres ayrıca eklemde hidrasyonu azaltarak hyaluronik asitin yıkımına ve serbest radikallerin artmasına da neden olmaktadır. Bu durum da kıkırdak hasarında etkili olan başka bir mekanizmadır (39).

-Subkondral kemiğin anormal remodelasyonu: TME osteoartritin başlaması ve ilerlemesinde subkondral kemik remodelasyonundaki artışın rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmektedir (38). Osteoartritin dental okluzyon kaynaklı olarak geliştirildiği bir modelde kıkırdak hasarını takiben subkondral kemikte rezorpsiyon ve mineral yoğunluğunda azalma olduğu gösterilmiştir. Bu duruma hasarlı kıkırdak doku içindeki kondrositlerin osteoklastogenezisi düzenlemesinin neden olduğu ve bunu da nükleer faktör kappa-B ligandın reseptör aktivatörü (RANKL) ile osteoprotegerin oranını değiştirmesi ile sağladığı bildirilmektedir (40).

Subkondral kemikteki anormal remodelasyon osteoartritin erken evrelerinde sıklıkla görülmektedir. Bu mekanizmanın TME osteoartriti etyopatogenezindeki rolü ise halen araştırılması gereken bir konudur (38,41).

-Kondrosit apoptozu: TME osteoartritin ilerleme süresince eklem kıkırdağı kondrositlerinde önce hipertrofi ve apoptoz gözlenmektedir. İlerleyen dönemlerde ise buna kıkırdak fibrilasyonu ve kıkırdak dokuda kayıplar eşlik etmektedir (38).

Monosodyum iodoasetat (MIA) ile indüklenen TME osteoartriti modellerinde kıkırdak hasarının erken fazının en önemli bulgusu kondrosit apoptozudur. Apoptoza uğrayan kondrositlerden salınan sitokinlerin ise subkondral kemiğin yıkımında etkili olduğu düşünülmektedir (42).

-Katabolik enzimler: TME osteoartriti patogenezinde rol oynayan diğer bir faktörde kıkırdak matriksinde katabolik enzimlerin artmasıdır. Arttığında kıkırdak hasarına yol açan katabolik enzimlerden bazıları MMP, disintegrin, trombospondin

motifli disintegrin benzeri matriks metalloproteinaz (ADAMTS), HtrA1 serin proteazdır. ADAMTS-5 özellikle TME osteoartritinin erken döneminde artış gösterirken MMP-13 ileri evrelerde artış göstermektedir. Ayrıca Wnt-5A geninin upregülasyonu sonucunda RANKL yolu aktive olur ve kemik yıkımı gözlenir (38,41).

-Östrojen: Diz ekleminde görülen osteoartritte östrodiolün proinflamatuvar metabolitlere dönüştüğü bildirilmiştir. Bu durumun inflame TME'deki proinflamatuvar metabolitlerin oluşumunda da gözlemlenebileceği düşünülmektedir (38). Ayrıca yapılan bir çalışmada östrojenin mandibular kondildeki kondrosit proliferasyonunu inhibe ettiği, Fas ve kaspaz aktivitesini artırarak kıkırdak hasarı ve kemik dejenerasyonunda etkili olduğu da gösterilmiştir (40). Tüm bu etkiler TME osteoartritinin kadınlarda daha fazla görülmesinin nedenini açıklamaktadır. Buna karşılık östrojen nitrik oksit salınımını inhibe ederek TME kondrositleri üzerine koruyucu etki de göstermektedir. Östrojenin TME osteoartriti üzerindeki etkilerinin tam olarak anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (38).

-Genetik faktörler: TME osteoartriti ile ilgili yapılan deneysel hayvan çalışmalarında birçok farklı gen ile ilişkili transgenik model uygulanmıştır (38). Fakat temel olarak TME osteoartriti ile ilişkili olan tek nükleotit polimorfizmi şu ana kadar ortaya koyulamamıştır. Bu konu ile ilgili yapılacak daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Histopatoloji:

Sağlıklı TME kıkırdağında yüzey pürüzsüzdür. Kondrositler ve matriks organize bir görünümde ve bölgeler sıralıdır. Hücre yapısında genişleme, bozulma, kondrositlerde artmış proliferatif değişiklikler ya da hücrelerde azalma gözlenmez. Osteoartritte ise yüzey pürüzsüzlüğü kaybolmakta, kıkırdakta erozyon / yarık oluşumu ve kemiğin açığa çıktığı bölgeler görülebilmektedir. Kondrositlerde ilk cevap proliferasyon olsa da ileri evrelerde kümelenmeler ve hiposelüler alanlar oluşur. Mineralizasyon sınırı olan tidemark bölgesinde de düzensizlikler ortaya çıkar. Ayrıca subkondral kemikte de remodelasyonda artış ve ilerleyen dönemlerde osteofit oluşumu gözlenmektedir (41,43).

Tedavi Yöntemleri:

TME hastalıklarının tedavisinde koruyucu yöntemlerden ileri cerrahilere kadar çok çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Osteoartrit ise daha komplike, ağrılı ve hayat kalitesini olumsuz etkileyen eklem içi düzensizliklerle kemik yıkımına kadar giden bir eklem hastalığıdır. TME osteoartriti için uygulanan tedaviler; non-invaziv koruyucu, minimal invaziv ve cerrahi yöntemler olarak sınıflandırılmaktadır. Uygulanan tedavilerde ise eklemdaki ve çığneme kaslarındaki ağrının azaltılması, eklem fonksiyonlarının artırılması ve eklemdaki hasarın ilerlemesini engellemektir (33).

-Non-invaziv koruyucu yöntemler: Cerrahi olmayan yöntemler osteoartrit tedavisinde ilk tercih edilen tedavilerdir. Bu yöntemlerden en sık kullanılanı ise okluzal splintlerdir (33). Okluzal splintler TME'yi aşırı yüklere karşı korur ve kasların gerilimini azaltır. Ayrıca TME stabilizasyonuna katkıda bulunur (5). Ok ve arkadaşları tarafından yayınlanan retrospektif bir çalışmaya göre okluzal splintler osteoartritte kondildeki kemik remodelasyonunu artırmaktadır (44).

Okluzal splintler dışında kullanılan bir başka yöntem de medikal tedavilerdir. Medikal tedaviler splint tedavisi ile birlikte ya da tek başına kullanılabilir. Bu amaçla non-steroidal antienflamatuar ilaçlar (NSAID) ve kas gevşeticiler sıklıkla kullanılmaktadır (33). NSAID'ler siklooksijenaz inhibitörleridir ve önemli inflammatuar mediatörler olan prostoglandinlerin sentezini inhibe ederler (5).

Fizyoterapi yöntemleri de sıklıkla kullanılan cerrahi olmayan koruyucu tedavi yöntemlerindendir. Fizik tedavi uygulamaları arasında yüzeysel sıcak/soğuk uygulaması, akupunktur, egzersizler, ultrason, elektriksel uyarı ve düşük dereceli lazer uygulamaları bulunmaktadır. Fizyoterapi uygulamaları kaslardaki gerilimin azaltılması ve doğru konumda bulunmaları için yardımcı olmaktadır (5,35). Fizyoterapi yöntemleri ile birlikte hastalara mutlaka yumuşak diyet, sakız çiğnemekten kaçınma, aşırı ağız açma yapmama gibi öneriler de söylenmelidir. Özellikle TME'yi olumsuz etkileyen alışkanlıkları varsa bunların değiştirilmesi gerektiği de hastaya belirtilmelidir (35). Fizyoterapi uygulamaları genellikle semptomatik etki göstermekte ve osteoartritin kesin tedavisini sağlayamamaktadır (45).

Hastada mevcut olan osteoartritin etyolojisinde okluzal düzensizlikler ve eksik dişlerin varlığı da etkili olabilmektedir. Bu durumlarda hastanın gerekli ortodontik ve protetik tedavilerinin yapılması mevcut rahatsızlığın tedavisi açısından önemlidir (35).

-Minimal invaziv yöntemler: Osteoartrit tedavisinde uygulanan minimal invaziv yöntemler artrosentez ve eklem içi enjeksiyonlardır. Artrosentez; lokal anestezi altında üst eklem boşluğuna yerleştirilen iki iğne ve fizyolojik solüsyonlar kullanılarak yapılan eklem içi yıkama işlemidir. Ek cerrahi ekipman gerekmemesi, lokal anestezi altında yapılması ve gerektiğinde tekrarlanabilmesi yöntemin avantajlarından. Artrosentez işlemi tek başına yapılabildiği gibi eklem içi enjeksiyonlarla birlikte de uygulanabilmektedir (35,46).

Eklem içi enjeksiyonda en sık kullanılan ajanlar hyaluronik asit (HA) ve kortikosteroid olarak görülmektedir. HA hidrofilik glikozaminoglikan polisakkarittir. TME sinoviyal sıvısında var olan, eklem stabilizasyonu ve eklem yüzeylerinin beslenmesinde önemli rol oynayan bir moleküldür (5). Ayrıca eklem yüzeylerinde kayganlık sağlayarak kıkırdak dokuda sürtünme ve stresi azaltmaktadır (38). Yapılan çalışmalarda HA'nın TME osteoartritte eklem yüzeylerinde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (47).

Kortikosteroidler ağrı ve inflamasyonu baskılayan steroid hormonlardır (5). Proinflamatuvar sitokinlerin üretimini ve salınımını baskırlar. Ayrıca makrofaj ve nötrofillerin inflamasyon alanında birikmesini engellerler. Yapılan çalışmalar TME osteoartritte ağrının azaltılmasında kortikosteroid enjeksiyonunun etkili olduğunu göstermektedir (48). Liu ve arkadaşlarının yaptıkları meta analiz çalışması sonuçlarına göre HA ve kortikosteroidin kombine uygulanması kortikosteroidin tek başına uygulanmasından daha başarılı sonuçlar ortaya koymaktadır (31).

Eklem içi enjeksiyon yöntemi minimal invaziv bir yöntem olması sebebiyle oldukça sık başvuru alan tedavi yöntemlerindendir. Son zamanlarda eklem içi enjeksiyonla birçok yeni ajan TME osteoartriti tedavisinde denenmektedir. Kullanılan yeni ajanlar sitokin tedavilerinden kök hücreye kadar çok çeşitli alanlardan seçilmektedir. Trombositten zengin plazma, mezenşimal kök hücre, sitokin/antisitokin, otolog kan serumu kullanılan ve araştırılmaya devam edilen eklem içi enjeksiyon ajanlarından (5,38,46). Gelecekte de TME osteoartriti tedavisinde eklem içi enjeksiyonda yeni ajanların araştırılmasına devam edileceği görülmektedir.

-Cerrahi yöntemler: Osteoartrit tedavisinde koruyucu ve minimal invaziv yöntemler öncelikli tercih olarak düşünülmektedir. Fakat bu tedaviler başarılı olmadığında, ileri patoloji ve disfonksiyon varlığında cerrahi yöntemlerin kullanılması

gerekebilir. Cerrahi yöntemlerden en sık uygulananı ise artroskopidir. Artroskopide artrosentezden farklı olarak eklem içi düzensizliklerin görülmesi ve daha net teşhis ve tedavi uygulanabilmesine olanak sağlaması söz konusudur. Artroskopinin komplikasyon riski artrosenteze göre daha yüksektir (5,33).

Artroskopi dışındaki artroplasti ve total eklem replasmanı gibi ileri cerrahi tedaviler genellikle çözümsüz kalan TME osteoartriti vakalarında ileri patoloji varlığında, malokluzyon, asimetri, ankiloz, tümör varlığı, konjenital hastalıklar ve travma gibi durumlarda tercih edilmektedirler. Açık eklem ameliyatı sonrasında mutlaka fizyoterapi uygulamaları yapılması gerekmektedir (5,33,45).

2.4. Bifosfonatlar ve Etki Mekanizmaları

Bifosfonatlar, çeşitli kemik metabolizma hastalıklarında kemik dokudaki antirezorptif etkisi için kullanılan ilaçlardır. Klinik olarak ilk kez 1990'ların başında kullanılmaya başlanmıştır (49). Osteoporoz, Paget hastalığı, osteogenezis imperfekta ve çeşitli malignitelerin kemik metastazları bifosfonatların kullanıldığı başlıca hastalıklardır (6,7).

Bifosfonatlar kemik mineralizasyonunu düzenleyen inorganik pirofosfat analoglarıdır. Genel olarak kimyasal yapıları benzerdir fakat nitrojen içerikleri açısından farklılık gösterirler. Yapısında nitrojen içermeyenler (etidronat, klodronat vb.) nitrojen içerenlere (risedronat, alendronat, pamidronat, zoledronat vb.) göre daha düşük antirezorptif etki oluşturmaktadır (50).

Bifosfonatların antirezorptif etki gösterdiği, osteoklast aktivitesini inhibe ettiği, osteoklast sayısını azalttığı ve yeni damar oluşumunu engelleyici özellikleri olduğu bilinmektedir. Bu etkileri bilinmekle birlikte etki mekanizmaları halen tam anlamıyla ortaya koyulamamıştır (51). Bifosfonatların temelde dört özellikleri antirezorptif etkilerini ortaya çıkarmaktadır. Bunlar; kemik minerallerine güçlü şekilde bağlanıp çözünme hızını azaltmaları, olgun osteoklastların etkilerini inhibe etmeleri, osteoklastların yaşam sürelerini azaltmaları ve osteoklastların kemik yüzeyine yönelmesini engellemeleridir (52). Bu şekilde kemik minerallerine güçlü şekilde bağlanmaları vücuttaki kemik dokularına selektif afinite göstermelerini sağlamaktadır. Kemik rezorpsiyonu sırasında kalsiyum fosfat minerallerinin açığa çıkması sonucunda bifosfonatlar rezorpsiyon bölgelerinde iyi bağlanma gösterirler (53). Sonuç olarak

bifosfonatlar kemik turn over bölgelerinde ve rezorpsiyon alanlarında minerallere bağlanıp ve osteoklastları inhibe ederek rezorpsiyonu engellemektedir.

Bifosfonatlardan nitrojen içermeyenler osteoklastlar tarafından hücre içine alınır ve metabolize edilirler. Metabolizasyonları sonucunda da sitotoksik etki gösteren adenozin trifosfat analogları oluşmaktadır. Bu ürünün hücre içinde birikmesi sonucunda osteoklastlarda apoptoz oluşmaktadır (54). Nitrojen içerikli olan bifosfonatlarda ise metabolizasyon söz konusu değildir. Kemikteki turnover sırasında rezorpsiyon bölgelerindeki lakunalarda asidik ortam oluşmaktadır. Bu asidik ortam nitrojen içerikli bifosfonatların serbest hale gelmesini sağlar. Serbestleşen bifosfonatlar hücre içinde mevalonat yolağının temel enzimlerinden olan farnesil pirofosfat sentaz enzimini inhibe ederek osteoklast fonksiyonlarının kaybına neden olmaktadır (53,55).

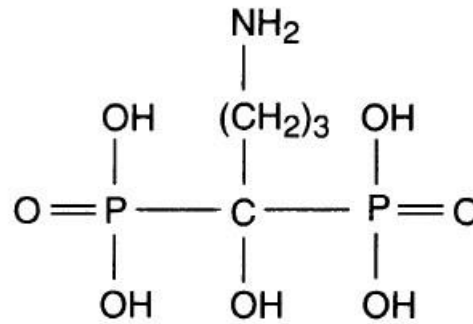
Bifosfonatlar hem oral hem de intravenöz yolla kullanılabilen ilaçlardır ve biyoyararlanımları %1-10 arasında değişmektedir. Özellikle oral yolla kullanılan bifosfonatların yaklaşık %99'u herhangi bir değişime uğramadan feçesle atılmaktadır. Kalsiyum ve magnezyum içeriği yüksek olan yiyeceklerle birlikte alındığında bu oran daha da artmaktadır. İntravenöz uygulanan bifosfonatlarda ise kemik dokuya ulaşım oranı yaklaşık %50'dir (51,53). Dolaşıma katılan bifosfonatların büyük çoğunluğu kemik dokuda depolanmaktadır. Kalan kısmı ise herhangi bir değişime uğramadan böbreklerden atılmaktadır (53). Bifosfonatlar kemiğe ulaştığında yüksek afinite ile kemik dokuya bağlanırlar ve yarılanma ömürleri ortalama 10 yıldır (7). Dolaşımla birlikte karaciğere gelen bifosfonatlar herhangi bir metabolik değişikliğe uğramazlar. Bifosfonatlarla ilgili ortaya koyulan tek metabolizma örneği nitrojen içermeyen bifosfonatların osteoklastlarca adenozin trifosfat analoglarına dönüştürülmesidir (53). Bifosfonatlar; solid tümörlerin kemik metastazlarının tedavisi için sıklıkla intravenöz uygulama ile yüksek dozlarda kullanılmaktadır. Osteoporoz için kullanıldığında ise oral yol ve daha düşük dozlar tercih edilmektedir (7).

Bifosfonatların; atriyal fibrilasyon, renal yetmezlik, gastrointestinal toksisite ve çene kemiklerinde osteonekroz oluşumu gibi yan etkileri mevcuttur (6,51,53). Yarılanma ömürlerinin kemik dokuda çok uzun olması temel kullanım endikasyonu olan hastalıklar açısından avantaj iken özellikle çenelerde osteonekroz oluşumu açısından dezavantajdır. İlaç kullanımı bırakıldığında dahi etkileri uzun süre devam etmektedir.

2.4.1. Alendronat

Alendronat bir aminobifosfonattır ve osteoklastlarca yönetilen kemik rezorpsiyonunu inhibe edici özellik göstermektedir. Diğer bifosfonatlar gibi kalsifiye kemik dokuya yüksek afinite gösterirler. Postmenapozal osteoporoz, kortikosteroidle indüklenen osteoporoz ve Paget hastalığı tedavisinde oral yolla kullanılmaktadır. İntravenöz olarak ise malignitelerde görülen hiperkalseminin tedavisinde araştırma amaçlı kullanılmıştır (56,57).

Kimyasal olarak amino grubu yan zincirine sahip 4 karbonlu bir bileşiktir (Şekil 2). Yapısındaki amino grubu sayesinde kemik rezorpsiyonunun inhibisyonunda nitrojen içermeyen bifosfonatlara göre daha yüksek etki göstermektedir. İn vivo çalışmalarda antirezorptif etki gücünün etidronattan 1000 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (57).



Şekil 2. Alendronatın kimyasal yapısı (57)

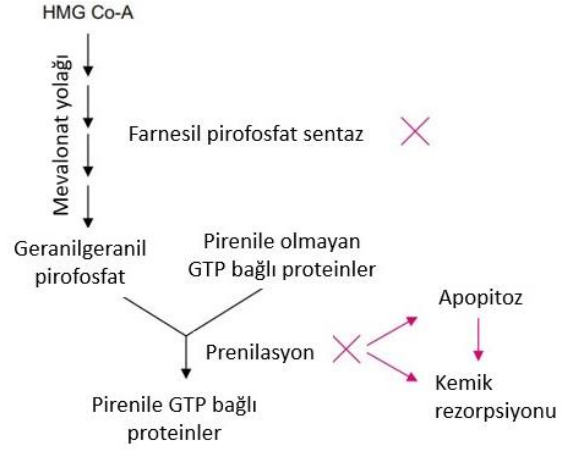
Alendronatın oral biyoyararlanımı intravenöz uygulama ile karşılaştırıldığında %0.6 civarındadır ve yemeklerle birlikte alındığında absorpsiyonu daha da azalır (9). Özellikle kalsiyum gibi 2 değerlikli iyonların varlığı emilimi daha da azaltmaktadır. Kullanımı gece boyu açlık sonrası ve yemekten 2 saat önce olacak şekilde önerilmektedir (57). Yapılan hayvan çalışmalarında alendronatın kanda yüksek oranda (%70-80) plazma proteinleriyle (primer olarak albümin) taşındığı gösterilmiştir (58,59). Alımından sonra önce yumuşak dokularda absorbe edildiği daha sonra ise hızlı yeniden dağılımla kemik dokuda biriktiği belirtilmektedir. Alınan ilaç ya idrarla atılır ya da kemik dokuda birikim gösterir. Plazmadan atılımı hızlıdır. Uygulamadan 12 saat sonra

plazmada tespit edilemez. Alendronatın vücuttaki metabolizması ile ilgili kesin bir veri bulunmamaktadır. Ortalama yarılanma ömrü 10.5 yıl olarak bilinmektedir (9,56,57).

Alendronat genel olarak iyi tolere edilebilen bir ilaçtır. Abdominal ağrı, bulantı, kabızlık, dispepsi ve ishal gibi sindirim sistemi ile ilgili olan yan etkiler daha sık görülmektedir. Bunun yanında iskelet-kas sistemi ağrıları ve baş ağrısı da görülebilecek yan etkiler arasındadır (57). Ayrıca tüm bifosfonatlarda olduğu gibi çene kemiklerinde osteonekroz oluşumu da ciddi yan etkisidir.

Alendronatın kemik metabolizması üzerindeki etkileri osteoklast sayısını azaltmak, apoptozu indüklemek ve osteoklast formasyonunu inhibe etmektir. Mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber yapılan çalışmalarda bazı çıkarımlar ortaya koyulmuştur. Kemik dokuya geçen alendronat özellikle kemik rezorpsiyon bölgelerine selektif afinite göstermektedir. Bu etkisi kalsiyum iyonlarına olan yüksek afinitesi sebebiyle gerçekleşir. Rezorpsiyon bölgelerinde osteoklastlar tarafından oluşturulan asidik ortamda inorganik kısım çözüldüğünde alendronatın kalsiyuma olan afinitesi azalır ve kemik yüzeyinden serbestleşirler. Serbestleşen alendronat ise osteoklastlar tarafından hücre içine alınır (56,60). Alendronatın alımı osteoklastlarda osteoblastlara oranla 10 kat daha fazla olmaktadır. Alendronat osteoklastlar tarafından alındığında osteoklastların aktivitesini bozar ve kemik rezorpsiyon yeteneklerini inhibe eder (6).

Osteoklast aktivasyonunun bozulmasında rol oynayan mekanizma mevalonat yolağında etkili bir enzim olan farnesil pirofosfat sentazın ve protein prenilasyonunun inhibisyonudur (Şekil 3) (53,56). Uzun süreli kullanımda sadece osteoklast aktivitesi azalmaz aynı zamanda osteoklast sayısı da önemli oranda azalır. Bu etkinin direk olarak osteoklast apoptozu ile mi yoksa kemik turn over ve rezorpsiyon miktarındaki azalmaya sekonder olarak mı geliştiği tam olarak bilinmemektedir (56). Osteoklastlar tarafından hücre içine alınmayan alendronat kemik matriksinde inaktif şekilde gömülü kalır. Bu bölgede oluşacak rezorpsiyon sırasında ise tekrar serbestleşerek yeniden etki gösterir (57).



Şekil 3. Alendronatın hücre içi biyokimyasal etkisi (60)

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı Deneysel Etik Kurulundan (Tarih: 05.03.2020; Protokol Numarası: 2020/009) onay alınarak yapıldı. Çalışmada 200-400 gram ağırlığında, ortalama 3-6 aylık 24 adet Wistar Albino erkek rat kullanıldı. Çalışma Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Alınan dokular İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim dalında histopatolojik olarak incelendi.

Denekler deney öncesi 5 gün boyunca ortama adapte olabilmeleri için laboratuvar şartlarında bakıldı. Tüm çalışma boyunca denekler standart laboratuvar koşullarında (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 22-24 santigrat derece sıcaklık ve %50-60 nem oranı olan serbest yiyecek ve su alımı) takip edildi. Beslenmeleri için standart ticari pelet yem ve şebeke içme suyu kullanıldı. Çalışmada deneysel osteoartrit oluşturulması sebebiyle deneklerin beslenmeleri sık sık kontrol edildi.

3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Denekler çalışma, kontrol, salin ve sham grubu olmak üzere toplam 4 gruba ayrıldı ve her gruba 6 denek dahil edildi (Tablo 2). Gruplarda bulunması gereken denek sayısı benzer makaleler baz alınarak Power analizi sonuçlarına göre belirlendi.

Çalışma grubu: Ratlara birinci gün deneysel osteoartrit protokolü uygulandı. 1 ay sonra haftada 1 kez olacak şekilde 4 defa TME içi enjeksiyon ile alendronat uygulaması yapıldı.

Kontrol grubu: Ratlara birinci gün deneysel osteoartrit protokolü uygulandı. Deney sonuna kadar herhangi bir işlem yapılmadı.

Salin grubu: Ratlara birinci gün deneysel osteoartrit protokolü uygulandı. 1 ay sonra haftada 1 kez olacak şekilde 4 defa TME içi enjeksiyon ile salin uygulaması yapıldı.

Sham grubu: Ratlara herhangi bir işlem uygulanmadı.

Çalışmada yapılan tüm enjeksiyonlar bilateral olarak uygulandı. Tüm gruplardaki ratlar standardizasyonun sağlanması amacıyla deney süresince aynı şartlar altında tutuldu. 12. hafta sonunda tüm denekler kurban edilerek deney sonlandırıldı.

Tablo 2. Çalışma grupları ve yapılan uygulamalar

Gruplar	Denek Sayısı	Deneysel Osteoartrit Oluşturulması	Eklem İçi Enjeksiyon Uygulaması
Çalışma	6 adet	1.gün bilateral MİA enjeksiyonu	5.-8.haftalarda haftada 1 kez bilateral alendronat enjeksiyonu
Kontrol	6 adet	1.gün bilateral MİA enjeksiyonu	Eklem içi enjeksiyon uygulanmadı.
Salin	6 adet	1.gün bilateral MİA enjeksiyonu	5.-8.haftalarda haftada 1 kez bilateral salin enjeksiyonu
Sham	6 adet	Deneysel osteoartrit oluşturulmadı.	Eklem içi enjeksiyon uygulanmadı.

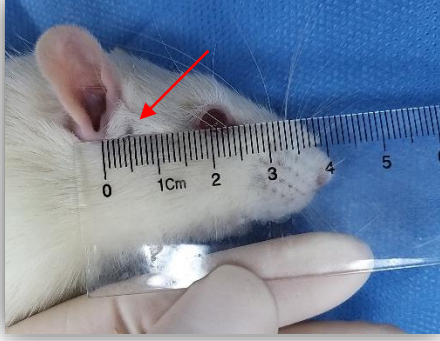
MİA: Monosodyum iodoasetat

3.2. TME İçi Enjeksiyon Yöntemi

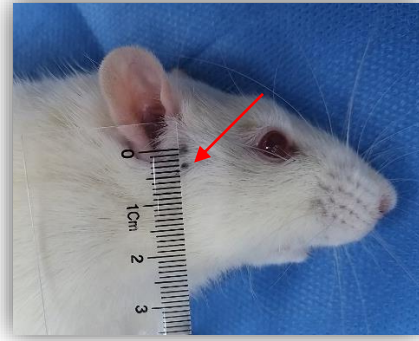
Eklem içi enjeksiyon yöntemi olarak Fuentes ve arkadaşlarının yayınladığı yöntem kullanıldı. Bu yöntemde göre dış kulak ile göz küresi arasına zigomatik arka paralel olacak şekilde bir çizgi çekilmektedir. Bu çizgi üzerinde dış kulaktan 5 mm anteriorda bir nokta belirlenir. Bu noktadan ilk çizgiye dik olacak ikinci bir çizgi çizilir. Bu çizgi üzerinde belirlenen ilk noktadan 3 mm inferiorda ikinci bir nokta belirlenir. Belirlenen bu nokta enjeksiyonun yapılacağı noktadır. Enjeksiyon belirlenen bu noktadan aşağıdan yukarıya 45° açı ile yapılmaktadır ve enjeksiyon derinliği 7 mm'dir (61).

Çalışmamızda bu enjeksiyon yöntemi hem deneysel osteoartrit oluşturulmasında hem de eklem içi ilaç enjeksiyonlarında kullanıldı (Şekil 4, 5).

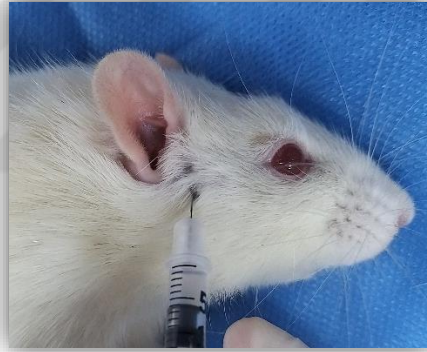
a)



b)



Şekil 4. Enjeksiyon yerinin belirlenmesi **a)** Dış kulaktan 5 mm anteriordaki noktanın belirlenmesi, **b)** İnferiora doğru 3 mm’lik mesafedeki noktanın belirlenmesi



Şekil 5. Enjeksiyon yönü ve açısı

Ratlarda eklem içi enjeksiyonun doğru yapılabilmesi amacıyla ketamin hidroklorür (Ketamidor-Richet Pharma) 50 mg/kg ve ksilazin hidroklorür (Rompun-Bayer) 5 mg/kg intramuskuler enjekte edilerek anestezi sağlandı. Yapılan işlemler sırasında asepsi ve antisepsi şartlarına dikkat edildi. Anestezi sağlandıktan sonra enjeksiyon için 30 gauge’lık insülin enjektörleri kullanıldı.

3.3. TME Osteoartriti Oluşturma Protokolü

TME’de deneysel osteoartrit oluşturulması için literatürde çeşitli yöntemler uygulanmıştır. Bu yöntemler; genetik olarak modifiye edilen hayvanların kullanımı, cerrahi ya da travma ile osteoartrit oluşturulması ve kondrotoksik materyallerin eklem

İçİ enjeksiyonudur (62). Bu çalışmada uygulama kolaylığı ve maliyet açısından en uygun yöntem olan eklem içİ enjeksiyon yöntemini tercih ettik.

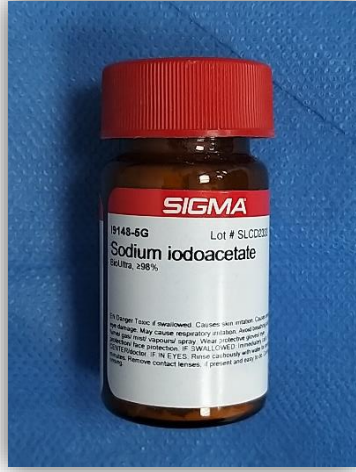
Osteoartrit oluşturmak için literatürde eklem içİ enjeksiyonda çeşitli ajanlar kullanılmaktadır. Monosodyum iodoasetat (MİA) bu amaçla kullanılan ajanlardan biridir ve hücreseİ aerobik glikoliz yolağının metabolik inhibitörüdür. Eklem içİ enjeksiyonu sonucunda kondrositlerde gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz inhibisyonu sonucu hücre ölümünü indüklemektedir (62). Çalışmamızda deneysel osteoartrit oluşturmak için deneyin birinci günü 40µl salin içine 1mg MİA (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) çözeltisi eklem içİ enjeksiyon ile uygulandı (63).

3.4.TME İÇİ Enjeksiyonda Kullanılan İlaçlar

TME osteoartriti oluşturulması için yapılan MİA enjeksiyonundan 4 hafta sonra terapötik etkisinin incelenmesi amacıyla 4 hafta boyunca haftada bir kez olacak şekilde alendronat (Cayman Chemical, USA) eklem içİ enjeksiyon ile uygulandı. Alendronat uygulama dozu 0.1 mg alendronat ile 0.02 ml salin çözeltisi (5 mg/ml olacak şekilde) olarak belirlendi (14).

Çalışmada çözücü olarak salin kullanıldığı için çözücü etkisini değerlendirmek amacıyla salin grubu tasarlandı. Çalışma grubundaki çözücü miktarı olan 0.02 ml salin yine MİA enjeksiyonundan 4 hafta sonra haftada bir kez olacak şekilde 4 hafta boyunca eklem içİ enjeksiyon ile salin grubuna uygulandı (Şekil 6).

a)



b)



Şekil 6. Eklem içi enjeksiyonda kullanılan ilaçlar **a)** Monosodyum iodoasetat, **b)** Alendronat

3.5. Deneklerin Sakrifikasyonu

Deneyde 12. haftanın sonunda tüm denekler sakrifiye edildi. İntramusküler ketamin hidroklorür (Ketamidor-Richet Pharma) 50 mg/kg ve ksilazin hidroklorür (Rompun-Bayer) 5 mg/kg enjeksiyonu yapılarak deneklerin anestezisi sağlandı. Sakrifikasyon işlemi eksanguinasyon yöntemi kullanılarak yapıldı.

Sakrifikasyon işlemi tamamlandıktan sonra deneklerin TME dokularının histopatolojik incelemesinin yapılabilmesi için mandibula kondil bölgesiyle birlikte rezeke edilerek çıkarıldı ve %10'luk formaldehit içine koyularak saklandı.

3.6. Histopatolojik İnceleme

Ratlardan alınan dokular %10'luk formaldehit fiksasyonundan sonra %10'luk formik asit ile dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyondan sonra mandibular kondil bölgesi ayrıldı. Örnekler sagittal düzlemde kesitler alınacak şekilde parafine gömülerek bloklar elde edildi. Feather 4810 mikrotom ile parafin bloklardan 5 mikronluk seri kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin ve Safranin O ile boyandı. Daha sonra kesitler ışık mikroskobu altında histopatolojik olarak incelendi.

Safranin O boyama kıkırdak dokuda matriks yapısının incelenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Safranin O glikozaminoglikanların turuncu-kırmızı bir renkte boyanmasını sağlarken karşıt boya olan fast green ise kollajeni yeşile boyar. Özellikle

kıkırdaktaki glikozaminoglikanların nicel değerlendirilmesinde etkili bir boyama yöntemidir (64). Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulan osteoartritin değerlendirilmesinde kullandığımız skorlama yöntemi safranin boyama özelliklerini de kapsadığından kesitlere hem Hematoksilen-Eozin hem de Safranin O boyama yapıldı.

Osteoartritin histopatolojik olarak değerlendirilmesinde farklı skorlama yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en çok kabul gören ve kullanılan yöntem Mankin skorlamasıdır. Zamanla çeşitli modifiye şekilleri de çalışmalarda kullanılmıştır (65). Mankin skorlama yöntemi yapısal, hücrel, Safranin O boyanma özellikleri ve tidemark bölgesindeki değişiklikler olmak üzere kıkırdaktaki değişimleri temelde 4 kategoride incelemektedir (66). Bu skorlamada yapısal değişiklikler çoğunlukla kıkırdak dokuda oluşan yarıkların derinlik değerlendirilmesi ile belirlenmiştir. Fakat osteoartritte sadece yarıkların oluşumu değil yüzeyde erozyon ve soyulma alanları ya da geniş sklerotik değişiklikler de görülebilmektedir (43). Bu değişiklikler derinlik fazla olmamasına rağmen ciddi osteoartrit göstergeleridir. Fakat Mankin skorlamasına göre daha düşük skor verilmesini gerektirir. Pritzker ve arkadaşları kıkırdaktaki osteoartrite bağlı değişiklikleri inceledikleri çalışmada daha kapsamlı şekilde yapıdaki değişiklikleri ele alıp bir derecelendirme sistemi ortaya koymuşlardır (43). Tüm bu nedenlerden dolayı çalışmamızda Mankin skorlama yöntemini modifiye ederek yapı değişiklikleri ile ilgili olan kategori yerine bu derecelendirme sistemini kullanmayı tercih ettik. Oluşturduğumuz modifiye Mankin skorlama yöntemi Tablo 3'te gösterilmiştir. Histopatolojik inceleme ve skorlama sonucunda her numuneye 0-14 arasında bir skor verildi.

Tablo 3. Modifiye Mankin Skorlaması

Kategori	Alt Kategori	Skor
Yapısal Değişiklik	Sağlam yüzey ve kırıkta dokusu	0
	Sağlam yüzey, hücre-matriks değişiklikleri (proliferasyon, ödem, yüzeysel fibrilasyon)	1
	Yüzey devamlılığının bozulması	2
	Vertikal yarıklanma	3
	Erozyon (kırıkta matriks kaybı ve kist formasyonları)	4
	Soyulma (yüzeyde sklerotik fibrokartilaj içeren tamir doku)	5
	Deformasyon (kemikte remodelasyon, osteofit oluşumu)	6
Hücrel Değişiklik	Normal	0
	Diffüz hiperselülerite	1
	Kümelenme	2
	Hiposelülerite	3
Safranin O Boyanma	Normal	0
	Hafif azalma	1
	Orta derece azalma	2
	Ciddi azalma	3
	Boyanma yok	4
Tidemark Düzenliliği	Sağlam	0
	Kan damarları ile bütünlüğün bozulması	1

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizi SPSS 21.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Normal dağılıma uygunluk Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Ratların TME osteoartriti skorları normal dağılım göstermediği için bağımsız değişken grupların çoklu

karşılaştırılması Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Elde edilen sonuçlarda $p<0.05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

Çalışma öncesinde herhangi bir sağlık sorunu olmayan 24 rat 12 hafta boyunca deney protokolüne tabi tutularak gözlemlendi. Deney süresince altı hayvan aşırı kilo kaybı, ortama adapte olamamaları ve anestezi intolerasyonu gibi sebeplerle kaybedilerek çalışmadan çıkarıldı. 12. haftanın sonunda ratlar eksanguinasyon yöntemiyle sakrifiye edildi. Deneklerin mandibulası rezeke edilerek bütün halde çıkarıldı. Uygulamalar bilateral olarak yapıldığı için toplam 36 adet mandibular kondil histopatolojik olarak incelendi.

4.1. Histopatolojik Bulgular

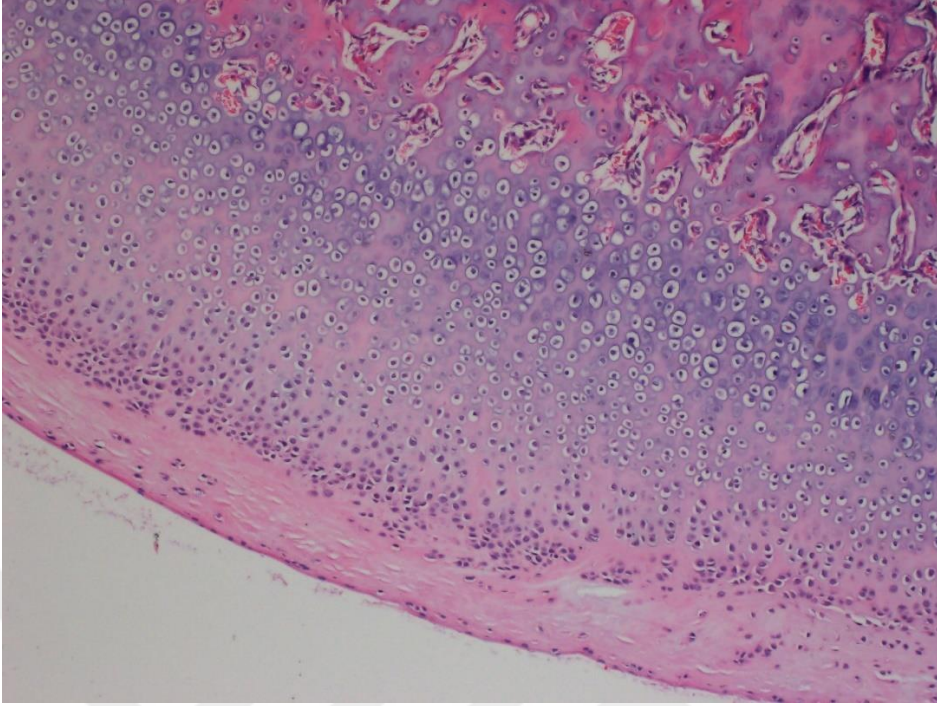
Histopatolojik incelemede çalışma, salin, kontrol ve sham gruplarında elde edilen kesitler oluşturduğumuz modifiye Mankin skorlama yöntemine göre değerlendirildi. Bu yöntemde yapısal değişiklik, hücresel değişiklik, Safranin O boyanma dereceleri ve tidemark düzenliliği açısından gruplar değerlendirildi.

4.1.1. Çalışma Grubu

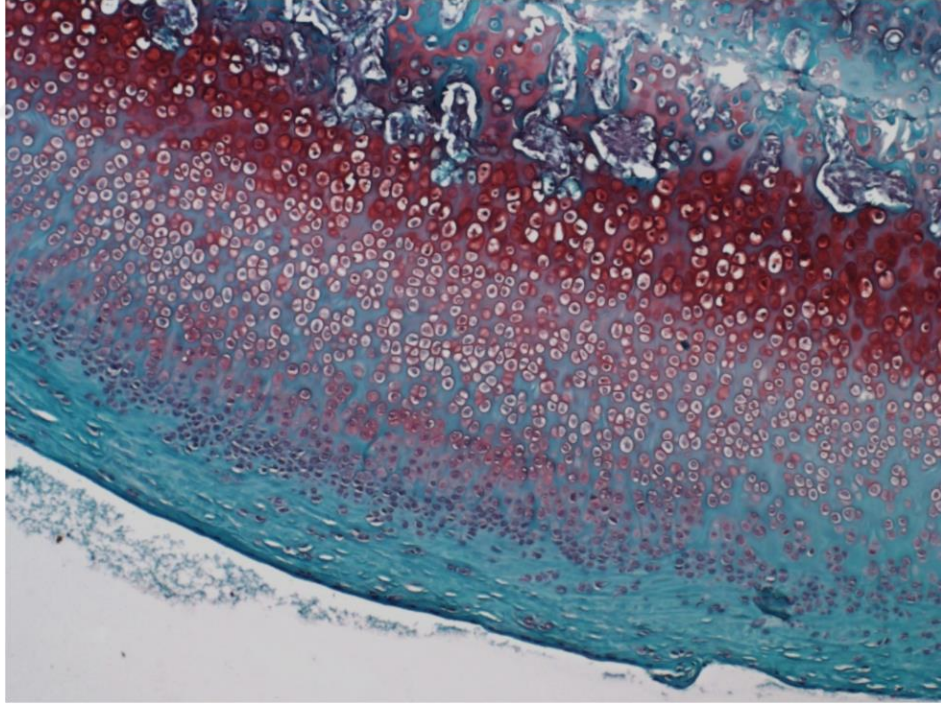
Çalışma grubundaki mandibular kondilin histopatolojik incelemesinde yapısal olarak yüzey devamlılığı bozulmuş olmasına rağmen erozyon, soyulma ve deformasyon alanları gözlenmedi. Bunun yanında sağlıklı sham grubuna göre çalışma grubundaki değişikliklerin daha fazla olduğu görüldü.

Diffüz hiperselüleriteden hiposelüleriteye kadar kondrosit değişiklikleri çalışma grubunda görülen değişikliklerdi. Safranin O boyanmada genel olarak hafif kayıp olduğu belirlendi. Tidemark alanında düzenli yapının bozulduğu ve bozulmadığı örnekler yaklaşık olarak eşitti (Şekil 7).

a)



b)



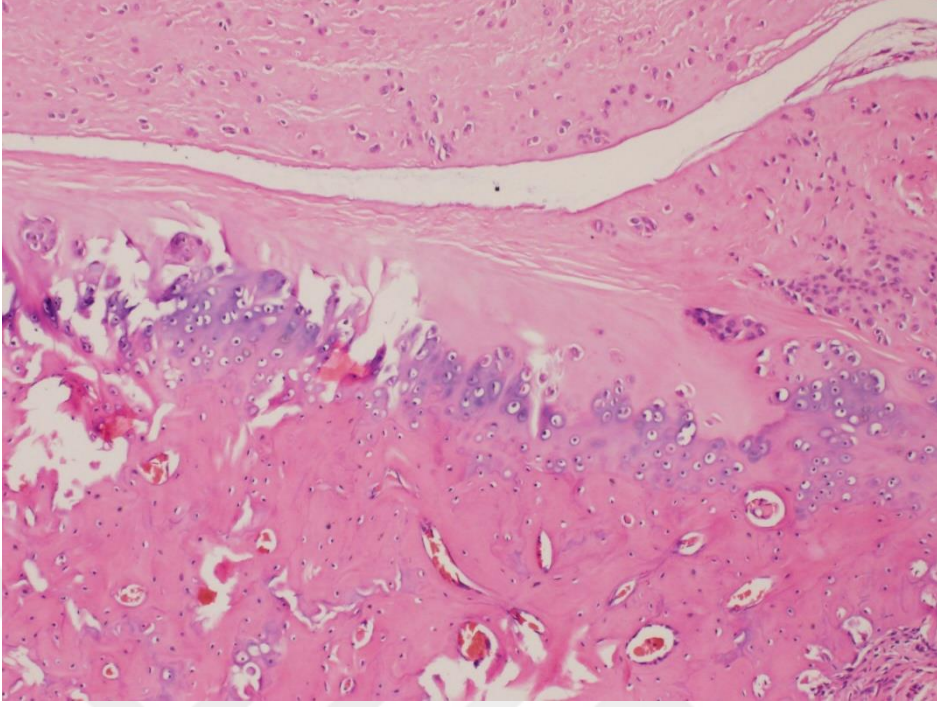
Şekil 7. Çalışma grubuna ait histolojik görüntüde gözlenen yüzey değişiklikleri, hücresel değişiklikler ve Safranin O boyanma derecesi **a)** Hematoksilen-Eozin, **b)** Safranin O boyama

4.1.2. Kontrol Grubu

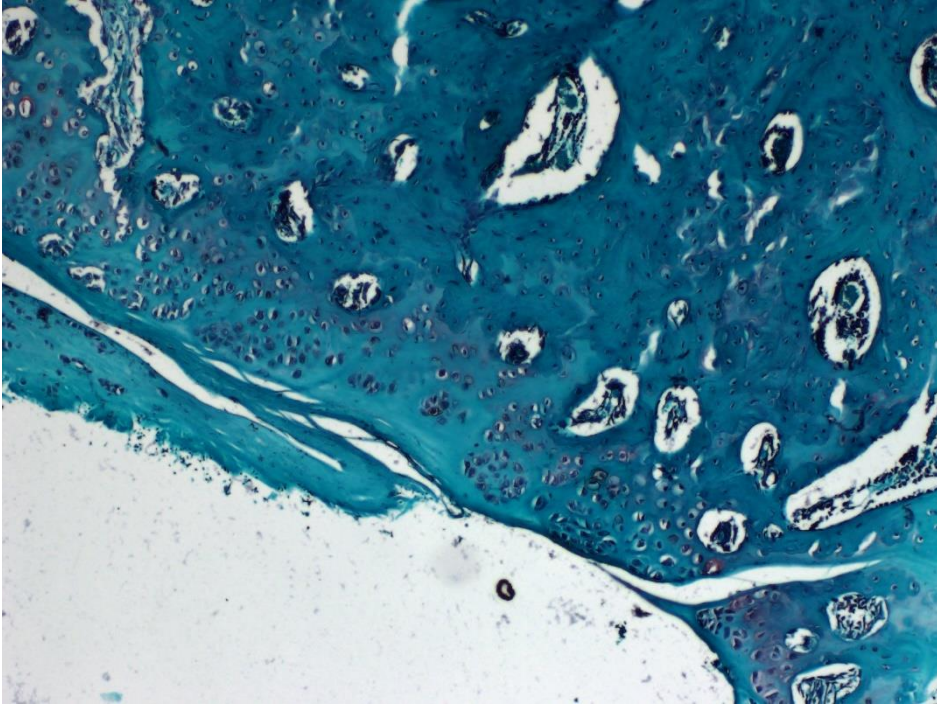
Kontrol grubundaki mandibular kondilin histopatolojik incelemesinde yapısal olarak vertikal yarık, erozyon ve soyulma alanları olduğu gözlemlendi. Kondrositlerde genel olarak hiposelülerite görüldü. Safranin O boyamada orta-ciddi kayıp olduğu belirlendi. Tidemark alanında genel olarak düzenli görünüm bozulmuş ve damar invazyonu gelişmişti (Şekil 9).



a)



b)



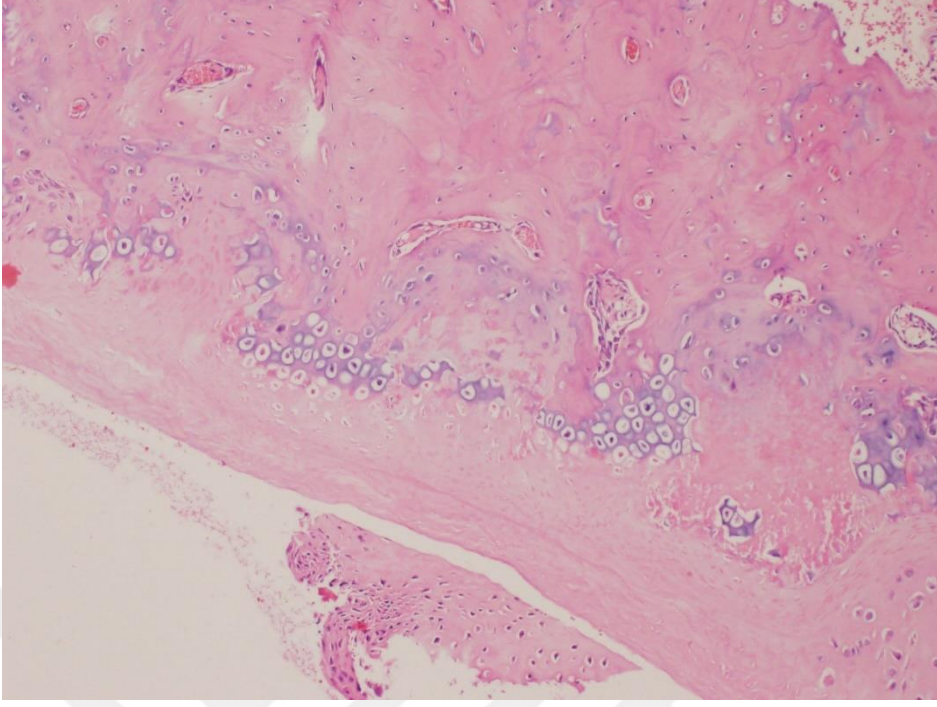
Şekil 8. Kontrol grubuna ait histolojik görüntüde yapısal değişiklikler, hücre değişiklikleri ve Safranin O boyanma derecesi. **a)** Hematoksilen-Eozin boyanma, **b)** Safranin O boyanma

4.1.3. Salin Grubu

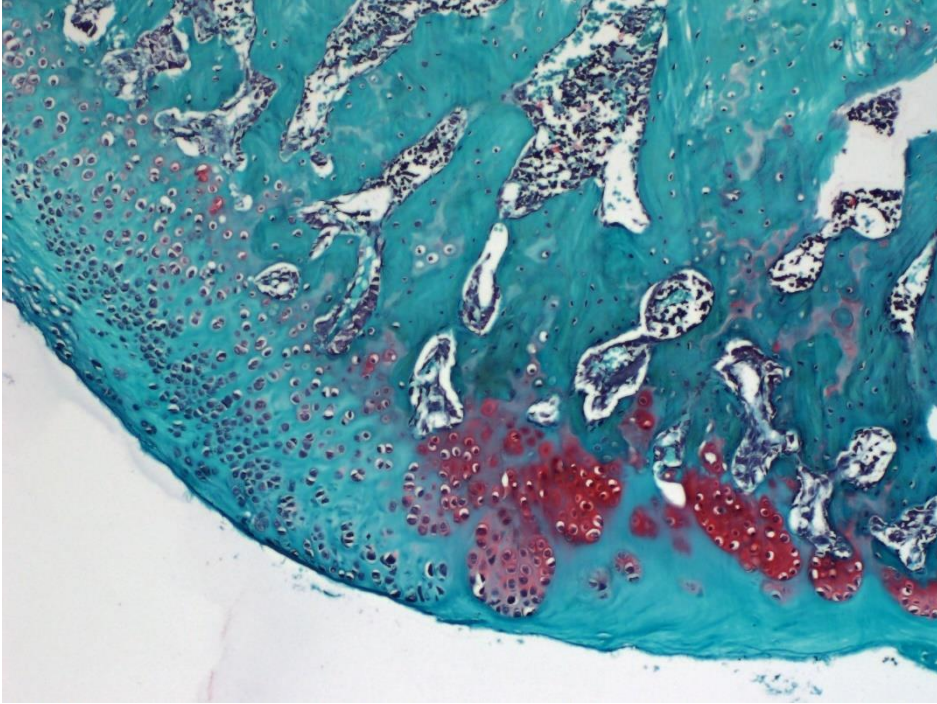
Salin grubundaki mandibular kondilin histopatolojik incelemesinde yapısal olarak yüzey devamlılığının bozulduğu, erozyon ve soyulma alanlarının olduğu gözlemlendi. Kondrositlerde diffüz hiperselüleriteden hiposelüleriteye kadar değişiklikler olduğu görüldü. Safranin O boyamada genel olarak orta derecede kayıp olduğu belirlendi. Tidemark alanında genel olarak düzenli yapı bozulmamıştı (Şekil 8).



a)



b)



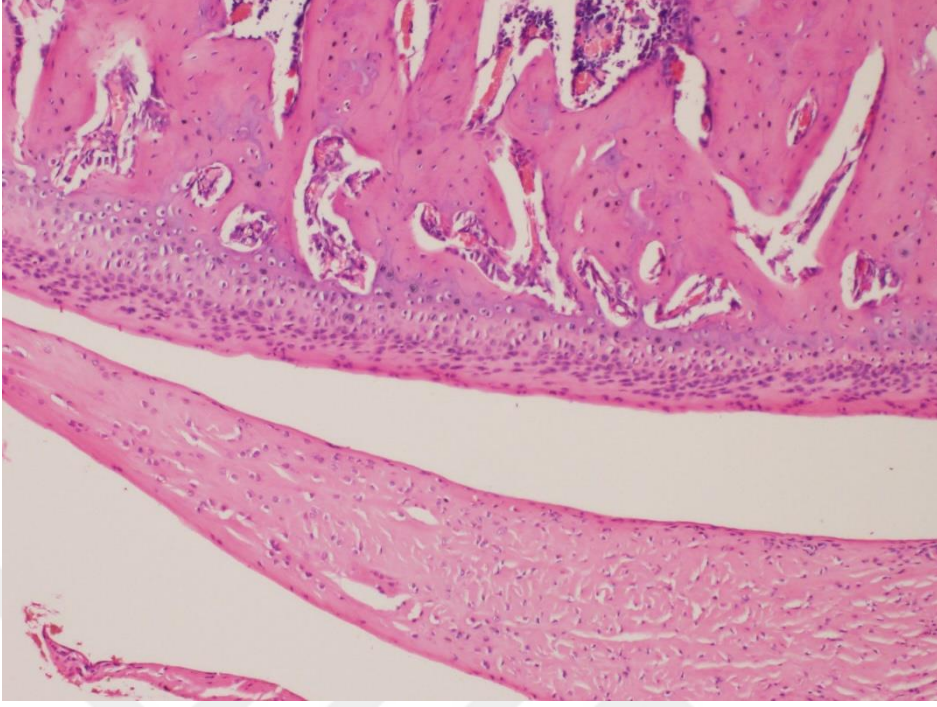
Şekil 9. Salin grubuna ait histolojik görüntüde gözlenen yüzeysel değişiklikler, hücre değişiklikleri ve Safranin O boyanma derecesi. **a)** Hematoksilen-Eozin boyanma, **b)** Safranin O boyanma

4.1.4. Sham Grubu

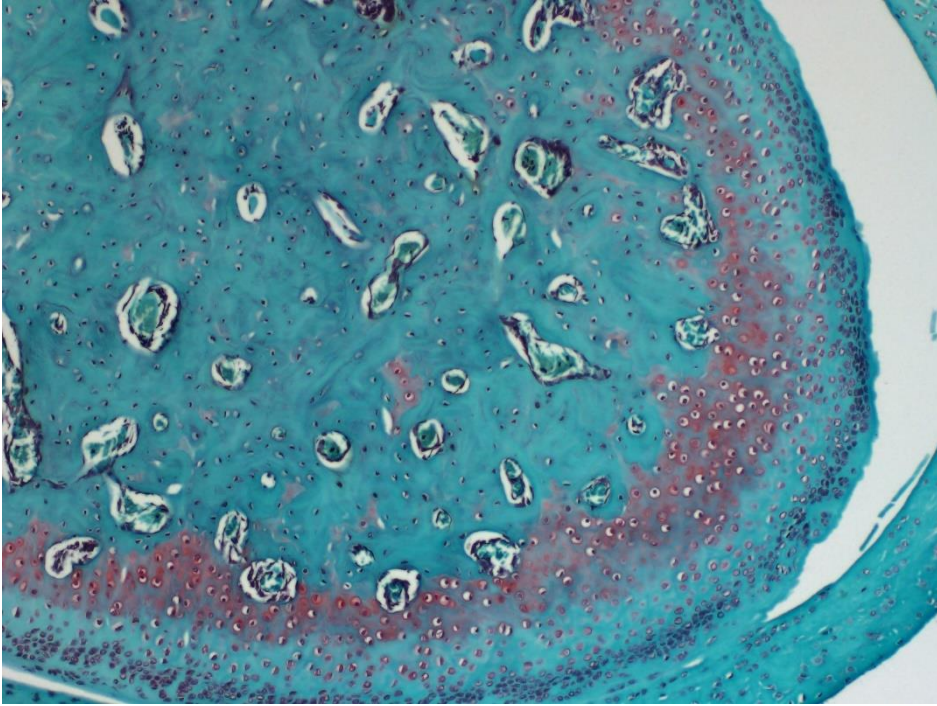
Sham grubundaki mandibular kondilin histopatolojik incelemesinde yapısal olarak sağlıklı ve devamlılığı bozulmamış kırkırdak yüzeyi gözlendi. Kondrositler muntazam dizilimde görüldü. Safranin O boyamada bazı örneklerde hafif kayıp olsa da genel olarak boyanma normaldi. Tidemark düzensizliği görülmedi (Şekil 10).



a)



b)



Şekil 10. Sham grubuna ait histolojik görüntüde normal sağlıklı kondil yapısı ve Safranin O boyanma derecesi. **a)** Hematoksilen-Eozin boyanma, **b)** Safranin O boyanma

4.2. Histopatolojik Bulguların İstatistiksel Analizi

Grupların deskriptif sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir. Bağımsız değişkenlerin Kruskal-Wallis Testi ile çoklu karşılaştırılması yapıldı (Tablo 5). Yapısal değişiklikler, hücre değişiklikleri, Safranin O boyama, tidemark düzenliliği ve total modifiye Mankin skor üzerinden gruplar arasında karşılaştırmalar yapıldı.

Tablo 4. Grupların deskriptif sonuçları

	Çalışma Grubu	Kontrol Grubu	Salin Grubu	Sham Grubu
	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS
	(Min-Maks)	(Min-Maks)	(Min-Maks)	(Min-Maks)
Yapısal	2.5000±0.52705	4.5000±0.70711	3.3000±1.05935	0.1667±0.4082
Değişiklik	(2.00-3.00)	(3.00-5.00)	(2.00-5.00)	5 (0.00-1.00)
Hücreyel	2.3000±0.94868	2.3000±0.94868	2.5000±0.84984	0.0000±0.0000
Değişiklik	(1.00-3.00)	(1.00-3.00)	(1.00-3.00)	0 (0.00-0.00)
Safranin O	1.5000±0.70711	2.5000±0.52705	2.3000±0.67495	0.6667±0.5164
Boyama	(1.00-3.00)	(2.00-3.00)	(1.00-3.00)	0 (0.00-1.00)
Tidemark	0.6000±0.51640	0.7000±0.48305	0.5000±0.52705	0.0000±0.0000
Düzenliliği	(0.00-1.00)	(0.00-1.00)	(0.00-1.00)	0 (0.00-0.00)
Total	6.9000±1.52388	10.0000±1.3333	8.6000±2.22111	0.8333±0.7527
	(4.00-9.00)	3 (8.00-12.00)	(5.00-11.00)	7 (0.00-2.00)

Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Min: minimum değer, Maks: Maksimum değer

Tablo 5. Bağımsız değişkenlerin çoklu karşılaştırılması

	Yapısal	Hücreyel	Safranin O	Tidemark	Total
	Değişiklik	Değişiklik	Boyama	Düzenliliği	
Grupların karşılaştırılması** (Çalışma-Kontrol-Salin-Sham)	p=0.000*	p=0.001*	p=0.000*	p=0.051	p=0.000*

*p<0.05 istatistiksel anlamlı fark, **Kruskal-Wallis Testi

4.2.1. Yapısal Değişiklik Açısından Grupların Karşılaştırılması

Sham grubu ile çalışma ($p=0.000$), salin ($p=0.000$) ve kontrol ($p=0.000$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Sham grubu diğer gruplara göre en düşük değere sahipti.

Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0.000$) bulundu ve çalışma grubu daha düşük değere sahipti.

Çalışma grubu ile salin grubu arasında istatistiksel anlamlı fark bulunamadı ($p=0.273$) fakat salin grubunun değeri çalışma grubuna göre daha fazlaydı.

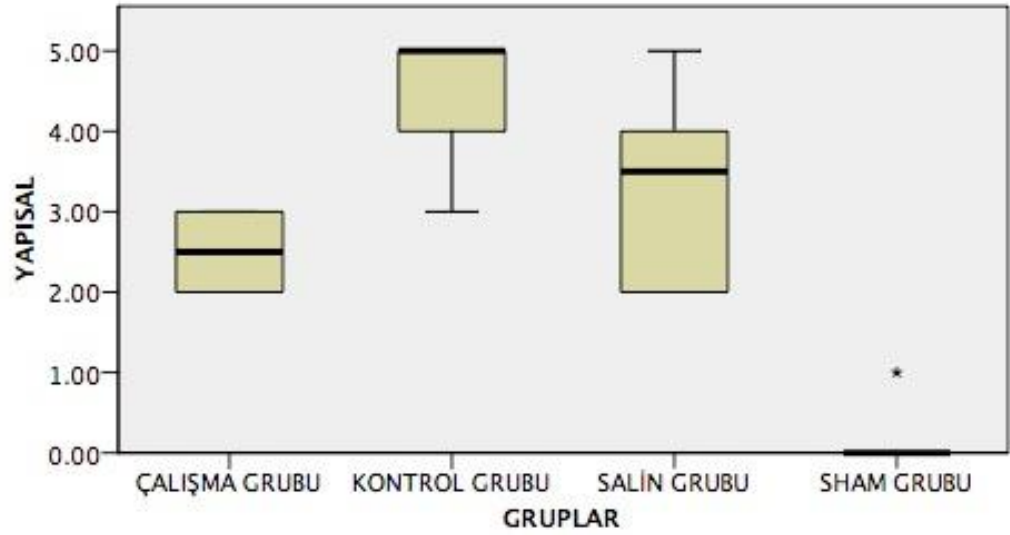
Kontrol grubu ile salin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0.053$) bulunamadı fakat kontrol grubu daha yüksek değere sahipti.

Gruplar arasındaki yapısal değişiklikler açısından istatistik sonuçları Tablo 6 ve Şekil 11’de gösterilmiştir.

Tablo 6. Yapısal değişiklik sonuçlarının karşılaştırılması

Gruplar		Ortalama Fark	p değeri
A	B	A-B	
Çalışma	Kontrol	-2.00000	0.000*
	Salin	-0.80000	0.273
	Sham	2.33333	0.000*
Kontrol	Salin	1.20000	0.053
	Sham	4.33333	0.000*
Salin	Sham	3.13333	0.000*

* $p<0.05$ istatistiksel anlamlı fark



Şekil 11. Grupların yapısal değişiklik skorlarının karşılaştırılması

4.2.2. Hücresel Değişiklik Açısından Grupların Karşılaştırılması

Sham grubu ile çalışma ($p=0.000$), salin ($p=0.000$) ve kontrol ($p=0.000$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ve sham grubu en düşük değere sahipti.

Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark ($p=1.000$) bulunamadı ve grupların değerleri eşitti.

Çalışma grubu ile salin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0.997$) bulunamadı fakat salin grubunun değeri daha fazlaydı.

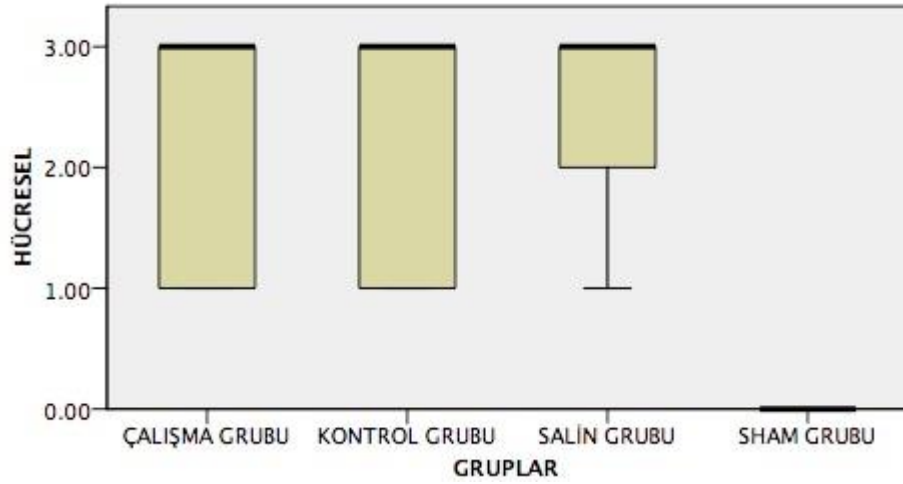
Kontrol grubu ile salin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0.997$) bulunamadı ve salin grubunun değeri daha fazlaydı.

Gruplar arasındaki hücresel değişiklikler açısından istatistik sonuçları Tablo 7 ve Şekil 12’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Hücresel değişiklik sonuçlarının karşılaştırılması

Gruplar		Ortalama Fark	p değeri
A	B	A-B	
Çalışma	Kontrol	0.00000	1.000
	Salin	-0.20000	0.997
	Sham	2.30000	0.000*
Kontrol	Salin	-0.20000	0.997
	Sham	2.30000	0.000*
Salin	Sham	2.50000	0.000*

*p<0.05 istatistiksel anlamlı fark



Şekil 12. Grupların hücresel değişiklik skorlarının karşılaştırılması

4.2.3. Safranin O Boyanma Açısından Grupların Karşılaştırılması

Sham grubu ile salin (p=0.001) ve kontrol (p=0.000) grubu arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu ve sham grubu daha düşük değere sahipti.

Çalışma grubu ile sham grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark (p=0.101) bulunamadı ve çalışma grubunun değeri daha yüksekti.

Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark (p=0.014) bulundu ve kontrol grubunun değeri daha yüksekti.

Çalışma grubu ile salin grubu arasında istatistiksel anlamlı fark ($p=0.106$) bulunamadı fakat salin grubunun değeri daha yüksekti.

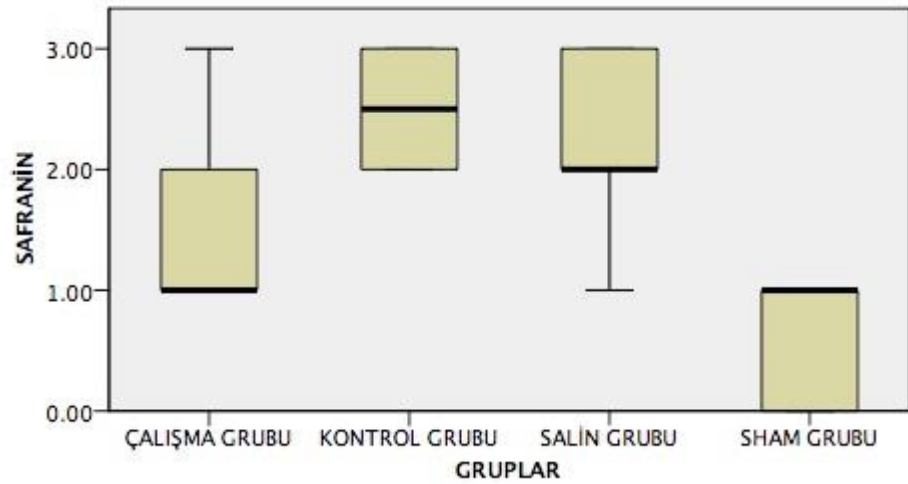
Kontrol grubu ile salin grubu arasında istatistiksel anlamlı fark ($p=0.978$) bulunamadı ve kontrol grubunun değeri daha fazlaydı.

Gruplar arasındaki Safranin O boyanma açısından istatistik sonuçları Tablo 8 ve Şekil 13'te gösterilmiştir.

Tablo 8. Safranin O Boyanma sonuçlarının karşılaştırılması

Gruplar		Ortalama Fark	p değeri
A	B	A-B	
Çalışma	Kontrol	-1.00000	0.014*
	Salin	-0.80000	0.106
	Sham	0.83333	0.101
Kontrol	Salin	0.20000	0.978
	Sham	1.83333	0.000*
Salin	Sham	1.63333	0.001*

* $p<0.05$ istatistiksel anlamlı fark



Şekil 13. Grupların Safranin O boyanma skorlarının karşılaştırılması

4.2.4. Tidemark Düzenliliği Açısından Grupların Karşılaştırılması

Sham grubu ile çalışma ($p=0.030$) ve kontrol ($p=0.008$) grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu ve en düşük değer sham grubuna aitti.

Sham grubu ile salin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0.086$) bulunamadı fakat salin grubunun değeri daha yüksekti.

Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0.998$) bulunamadı ve kontrol grubunun değeri daha yüksekti.

Çalışma grubu ile salin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0.999$) bulunamadı ve çalışma grubunun değeri daha yüksekti.

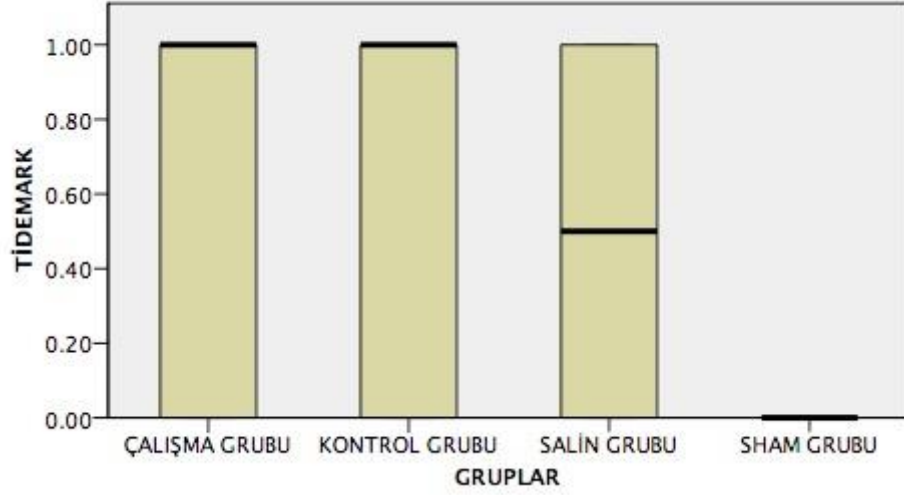
Kontrol grubu ile salin grubu arasında istatistiksel anlamlı fark ($p=0.948$) bulunamadı fakat kontrol grubunun değeri daha yüksekti.

Gruplar arasındaki tidemark düzenliliği açısından istatistik sonuçları Tablo 9 ve Şekil 14’te gösterilmiştir.

Tablo 9. Tidemark düzenliliği sonuçlarının karşılaştırılması

Gruplar		Ortalama Fark	p değeri
A	B	A-B	
Çalışma	Kontrol	-0.10000	0.998
	Salin	0.10000	0.999
	Sham	0.60000	0.030*
Kontrol	Salin	0.20000	0.948
	Sham	0.70000	0.008*
Salin	Sham	0.50000	0.086

* $p<0.05$ istatistiksel anlamlı fark



Şekil 14. Grupların tidemark düzenliliği skorlarının karşılaştırılması

4.2.5. Total Modifiye Mankin Skor Açısından Grupların Karşılaştırılması

Sham grubu ile çalışma ($p=0.000$), salin ($p=0.000$) ve kontrol ($p=0.000$) grupları arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu ve en düşük değer sham grubuna aitti.

Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark ($p=0.001$) bulundu ve kontrol grubu daha yüksek değere sahipti.

Çalışma grubu ile salin grubu arasında istatistiksel anlamlı fark ($p=0.325$) bulunamadı fakat salin grubunun değeri daha yüksekti.

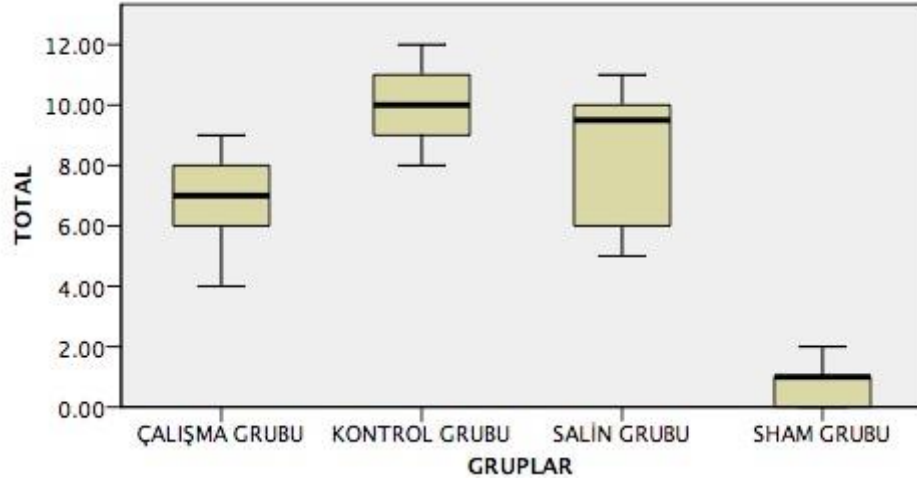
Kontrol grubu ile salin grubu arasında istatistiksel anlamlı fark ($p=0.498$) bulunamadı ve kontrol grubunun değeri daha fazlaydı.

Gruplar arasındaki total modifiye Mankin skor açısından istatistik bulguları Tablo 10 ve Şekil 15'te gösterilmiştir.

Tablo 10. Total modifiye Mankin skor sonuçlarının karşılaştırılması

Gruplar		Ortalama Fark	p değeri
A	B	A-B	
Çalışma	Kontrol	-3.10000	0.001*
	Salin	-1.70000	0.325
	Sham	6.06667	0.000*
Kontrol	Salin	1.40000	0.498
	Sham	9.16667	0.000*
Salin	Sham	7.76667	0.000*

*p<0.05 istatistiksel anlamlı fark



Şekil 15. Grupların total modifiye Mankin skorlarının karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

TME günlük hayatta çok sık kullandığımız konuşma ve çiğneme gibi fonksiyonların yerine getirilmesini sağlayan insan vücudundaki en karmaşık eklemlerden biridir. Bu eklem çeşitli okluzal problemler, parafonksiyonel alışkanlıklar ve stres gibi faktörlerin varlığında ortaya çıkan rahatsızlıkları ise TMD olarak adlandırılmaktadır (3). Popülasyonda TMD görülme sıklığı %31.1 olarak gösterilmiştir (67). TMD ilerleyen dönemlerde eklemi oluşturan kemik ve kıkırdak yapının dejenerasyonu sonucunda ağrılı ve yaşam kalitesini olumsuz etkileyen osteoartrit tablosuna dönüşebilmektedir. TME osteoartriti inflamatuvar ve dejeneratif bir hastalıktır. Hastalarda ağrı, hareket kısıtlılığı ve kas ağrısı gibi semptomlar gözlenmektedir(4). Pantoja ve arkadaşlarının yayınladığı meta analiz sonuçlarına göre; TMD zemininde gelişen primer TME osteoartritin görülme sıklığı %18.01-%84.74 arasında değişmektedir. Romatoid artrit ve juvenil idiopatik artrit gibi eklem rahatsızlıklarına sahip olan hastalarda bu oran %93'e kadar yükselmektedir (32). Bu durum TMD'ye sahip hastaların büyük oranda osteoartrit riski altında olduğunu göstermektedir. Günümüzde artan stres faktörleri ile birlikte toplumda TME osteoartriti görülme oranları da giderek artmaktadır.

TME osteoartritin kesin ve net bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Çoğunlukla uygulanan yöntemler semptomların giderilmesine yöneliktir. Tedavide non-invaziv yöntemlerden ileri cerrahilere kadar çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Non invaziv yöntemler tedavide ilk tercihtir. Cerrahi yöntemlere ise tüm diğer tedavi seçenekleri başarısız olduğunda başvurulmaktadır (35). Non-invaziv yöntemlerle istenilen sonuç elde edilemediğinde minimal invaziv yöntemler cerrahi öncesi sık başvuru alan yöntemler olarak karşımıza çıkmaktadır. Komplikasyonlarının az olması, tekrarlanabilir olması, cerrahi ekipman gerektirmemesi, lokal anestezi ile uygulanabilir olması ve semptomlara yönelik ilaç uygulamasına olanak vermesi bu yöntemlerin avantajlarıdır (35,46). TME osteoartriti tedavisinde kullanılan minimal invaziv yöntemler artrosentez ve eklem içi enjeksiyonlardır. Artrosentez temel olarak eklem boşluğuna enjektör ile girilip yıkama yapılarak bölgedeki inflamatuvar sitokinlerin uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Artrosentez aynı zamanda eklem içi enjeksiyonla birlikte de uygulanabilmektedir (46). Eklem içi enjeksiyonda en çok kullanılan ajanlar HA ve kortikosteroiddir. Son yıllarda eklem içi enjeksiyonla çok çeşitli ilaçlar tedavide denenmeye başlanmıştır (5). Özellikle mezenşimal kök hücre, trombosit zengin

plazma ve otolog kan serumu enjeksiyonu son zamanlarda araştırılan yöntemlerdendir (5,38,46). Eklem içi enjeksiyon minimal invaziv ve tekrarlanabilir olması sebebiyle son zamanlarda oldukça sık kullanılmakta ve başarılı sonuçlar da ortaya koymaktadır. Dolayısıyla giderek artan şekilde araştırmalara konu olmaya devam edecektir.

Bifosfonatlar kemikte antirezorptif etki gösteren ilaçlardır. Özellikle osteoporoz, Paget hastalığı, malignitelerin kemik metastazları, multiple myelom gibi kemik metabolizması ile ilgili olan hastalıkların tedavisinde oldukça sık kullanılmakta ve başarılı sonuçlar ortaya koymaktadır (53). Bifosfonatlar genel kemik metabolizması hastalıklarında sistemik olarak uygulanan ilaçlardır. Vücuttaki tüm kemiklerde depolanmakta ve uzun süreli yarılanma ömürleri sayesinde etkileri yıllarca devam etmektedir. Kemik dokudaki antirezorptif etkilerinin oluşmasında osteoklast aktivitesinin inhibisyonu, osteoklast sayısının azalması ve kemik turn over hızının yavaşlatılması rol oynamaktadır (6,60). Bifosfonatlar kemik metabolizma hastalıkları üzerindeki başarısına rağmen atriyal fibrilasyon, renal yetmezlik, gastrointestinal toksisite ve çenelerde osteonekroz gibi ciddi yan etkiler de oluşturabilmektedir (6,51,53).

Alendronat çoğunlukla osteoporoz ve Paget hastalığının tedavisinde oral yolla kullanılan nitrojen içerikli bir bifosfonattır (57). Oral biyoyararlanımı oldukça düşük olup %0.6 civarındadır. Dolaşımına beraber kemiğe geçtiğinde tüm bifosfonatlar gibi kemik dokuda depolanırlar ve yarılanma ömürleri yaklaşık 10.5 yıldır (9). Alendronat özellikle kabızlık, abdominal ağrı, ishal gibi gastrointestinal sistem yan etkilerine neden olsa da genel olarak iyi tolere edilebilen bir ilaçtır (57). Alendronat kemik dokuda osteoklastların aktivasyonunu inhibe edici ve osteoklast sayısını azaltıcı etki göstermektedir (56). Bununla beraber kondrositler üzerinde in vivo ortamda yapılan bir çalışmada bifosfonatların kondrositler için güvenli olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kondrositler üzerinde koruyucu etki gösterdikleri de bildirilmiştir (11). Shi ve arkadaşları çalışmalarında alendronatın eklem kıkırdığı kondrositlerinde inflamatuvar faktörlerin sekresyonunu inhibe ettiğini, sitokin sekresyonunu azalttığını ve inflamasyonun ilerlemesini engellediğini raporlamışlardır (68). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, subkutan alendronat uygulamasının overiektomi yapılmış ratlarda lumbar faset eklem üzerinde dejeneratif değişiklikleri baskıladığı ve kondrosit apoptozunu engellediği gösterilmiştir (69). Zhu ve arkadaşlarının overiektomi yapılan ratlar üzerindeki çalışmalarında subkutan uygulanan alendronatın osteoartrit gelişiminde

kıkırdak dokudaki erozyonu yavaşlattığı ve subkondral kemiği koruduğu bildirilmiştir (70). Diz ekleminde deneysel olarak oluşturulan osteoartrit üzerinde subkutan uygulanan alendronatın osteofit formasyonunu ve proteoglikan kaybını azalttığı gösterilmiştir (71). Bu çalışmalar sistemik olarak kullanılan alendronatın eklemler üzerinde koruyucu etkili olduğunu ve osteoartritte gözlenen dejeneratif değişiklikleri azalttığını göstermektedir. Literatürde deneysel olarak osteoartrit oluşturulup TME içi enjeksiyonla alendronatın terapötik etkisinin değerlendirildiği bir çalışma yoktur. Bu çalışmada literatürdeki bilgiler ışığında temporomandibular ekleminde oluşturulan osteoartrit üzerinde TME içi uygulanan alendronatın terapötik etkisinin değerlendirilmesini amaçladık.

Literatürde osteoartrit çalışmalarında çoğunlukla Wistar Albino rat ve Sprague-Dawley rat kullanılmıştır (72). Çalışmamızda insan TME anatomisine benzer anatomiye ve immüniteye sahip olduğu için Wistar Albino ratlar tercih edildi. Benzer bazı çalışmalarda dişi ratlar kullanılmıştır (68–70,73). Çalışmamızda herhangi bir hormonal etkinin deney sonuçlarını etkilememesi için erkek ratlar tercih edildi.

Literatürde deneysel osteoartrit oluşturmada genetik olarak modifiye edilmiş hayvanlar, cerrahi olarak osteoartrit oluşturulması ve eklem içi enjeksiyonla kondrotoksik ajan uygulaması kullanılan yöntemlerdir (62). Bu yöntemler arasında uygulaması kolay ve düşük maliyetli olan eklem içi kondrotoksik ajan enjeksiyonu tercih edildi. Eklem içi enjeksiyonla oluşturulan osteoartrit modellerinde Freund komplek adjuvanı veya MİA en sık kullanılan ajanlardır (72). Wang ve arkadaşları çalışmalarında osteoartrit oluşturmak için 1 mg MİA ile 40µL salin çözelti oluşturularak eklem içi enjeksiyonla uygulamıştır (63). MİA ile indüklenen osteoartrit için yapılan bir çalışmada beş farklı dozda (0.05, 0.1, 0.5, 1 ve 2 mg) MİA eklem içi uygulanmış ve yedi farklı zamanda (enjeksiyondan 1, 3, 7, 14, 28, 56 ve 84 gün sonra) sakrifikasyon yapılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre 4 hafta sonra histolojik olarak tipik osteoartrit lezyonlarının geliştiği gösterilmiştir. MİA dozu için ise minimum efektif doz 0.5 mg olarak belirtilmiş fakat 1 ve 2 mg uygulanan gruplarda şiddetli osteoartrit bulguları görüldüğü raporlanmıştır (42). Bu sonuçlardan yola çıkarak çalışmamızdaki modelde osteoartrit oluşumunun bekleme süresini 4 hafta olarak belirledik.

Literatürde alendronatın TME içi enjeksiyon olarak uygulandığı sadece bir çalışma bulunmaktadır. Chen ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada 0.1 mg

alendronatın 0.02 ml salin ile çözeltisi TME içi enjeksiyonla 4 hafta boyunca haftada bir kez olacak şekilde uygulanmıştır (14). Çalışmamızda bu protokol tedavi prosedürü olarak belirlendi. Chen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada overiektomi ile TME de subkondral değişiklikleri oluşturmuştur. Çalışma dizaynı erken ve geç alendronat uygulamasının karşılaştırılması olduğu için sakrifikasyon zamanları değişkenlik göstermektedir (14). MİA ile indüklenen osteoartrit ile yapılan bir çalışmada uygulanan tedaviden 4 hafta sonra sakrifikasyon gerçekleştirilmiştir (63). Wang ve arkadaşlarının yapmış olduğu MİA dozu ve zamansal histopatolojik değişikliklerin değerlendirildiği çalışmada 12 hafta sonunda spontan iyileşme görülmeye başlandığı belirtilmiştir (42). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda sakrifikasyon zamanı MİA uygulamasından itibaren 12 hafta sonra olacak şekilde belirlendi.

Literatürde deneysel osteoartrit oluşturulmasında intraartiküler enjekte edilen MİA dozları 0.5 mg ya da 1 mg'dır (63,72,74). Çalışmamızın sonuçlarına göre osteoartrit oluşturduğumuz ve herhangi bir ilaç uygulaması yapmadığımız kontrol grubu ile yapısal değişiklik, hücresel değişiklik, Safranin O boyanma derecesi, tidemark düzenliliği ve total modifiye Mankin skor açısından sağlıklı sham grubu arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur. Hem total skorda hem de alt kategorilerin hepsinde anlamlı fark bulunması kullandığımız deneysel osteoartrit protokolünün doğru ve uygulanabilir olduğunu göstermektedir.

TME osteoartritinde histolojik olarak kondil kırıkdağında yüzey düzensizlikleri, erozyon alanları, yarıklar, soyulmalar, kırıkdağ matris organizasyonunun bozulması, kondrositlerde kümelenme ve hiposelülerite gibi bulguların görüldüğü bilinmektedir. Ayrıca kırıkdağ matrisinde glikozaminoglikan kaybı, fibrokartilaj oluşumu, tidemark bölgesinde düzensizlik ve damar invazyonu da gözlenen bulgular arasındadır (41,43,66). Deneysel olarak osteoartrit oluşturulan TME'de zoledronik asitin eklem içi enjeksiyonunun etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada eklem yüzeyindeki yapısal düzensizliklerin azaldığı gösterilse de deney ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (74). Aynı şekilde Çınar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada diz ekleminde oluşturdukları osteoartritin tedavisinde eklem içi zoledronik asit enjeksiyonunun kırıkdağ dejenerasyonunu engellemediğini raporlamışlardır (75). Buna karşın sistemik olarak uygulanan zoledronik asitin sağlıklı TME'de kırıkdağ doku üzerinde koruyucu etkisi olduğu belirtilmektedir (13,76).

Zhang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada overiektomi yapılmış ratlarda subkutan uygulanan alendronatın kıkırdak dejenerasyonunu azalttığını göstermişlerdir (69). Yine overiektomi yapılmış ratlarla yapılan başka bir çalışmanın sonuçları da subkutan alendronat uygulamasının kıkırdak erozyonunu azalttığını göstermektedir (70). Literatürde TME içi alendronat uygulamasının yapıldığı tek çalışma overiektomi yapılmış ratlarda TME dejenerasyonunu engellemede erken ve geç uygulanan alendronatın etkilerinin değerlendirildiği çalışmadır. Bu çalışmanın sonucuna göre erken dönemde eklem içi uygulanan 0.1 mg alendronat TME’de koruyucu etki göstermektedir (14). Çalışmamızın sonuçlarına göre alendronat uyguladığımız çalışma grubunda dejeneratif kıkırdak yapı değişiklikleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır. Çözücü olarak kullandığımız salinin uygulandığı grupta da dejeneratif değişiklikler azalsa da kontrol grubu ile arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Buna rağmen çalışma grubu ile salin grubu arasında da anlamlı fark yoktur. Bu durum eklem içi alendronat enjeksiyonunun deneysel olarak geliştirilmiş osteoartritteki dejeneratif değişiklikleri literatürle uyumlu şekilde azalttığını göstermektedir. Fakat salin enjeksiyonu ile karşılaştırıldığında olumlu sonuçlar gösterse de istatistiksel olarak net üstünlüğü olmadığı görülmektedir.

Osteoartrit gelişmiş kıkırdak dokusunda kondrositlerin düzenli dizilimleri bozulmaktadır. Ayrıca kondrosit sayıları azalmakta ve hiposelüler alanlar gözlenmektedir (43,66). Eklem içi zoledronik asit uygulanan TME osteoarriti çalışmasında kontrol grubunda hiposelüler alanlar ve kümelenmiş kondrositler daha fazla görülmekte fakat anlamlı fark bulunmamaktadır (74). Çalışmamızda tüm gruplarda sağlıklı sham grubuna göre hücresel düzensizliklerin anlamlı derecede fazla olduğu bulunmuştur. Çalışma, salin ve kontrol grupları arasında en çok hücresel değişiklik salin grubunda görülmekle birlikte birbirleri arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. Bu durum osteoartritin kondrositler üzerinde apoptotik etkisinin olduğunu desteklemektedir. Alendronat ve salinin eklem içi enjeksiyonu ise bu disorganizasyonu ve apoptozu geri döndürememektedir.

TME osteoartritinde kıkırdak matriks değişiklikleri de gözlenmektedir. Safranin O boyama ile özellikle glikozaminoglikan boyanması değerlendirilerek kıkırdak hasarı hakkında bilgi edinilmektedir (43,73). Acar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada overiektomi yapılan ratlarda subkutan uygulanan alendronatın anlamlı şekilde glikozaminoglikan kaybını ve dolayısıyla kıkırdak hasarını inhibe ettiğini

göstermişlerdir (73). Diz ekleminde indüklenen osteoartritte subkutan alendronat enjeksiyonunun etkisinin değerlendirildiği başka bir çalışmada da yine proteoglikan kaybının anlamlı şekilde inhibe olduğu raporlanmıştır (71). Çınar ve arkadaşlarının diz ekleminde oluşturdukları osteoartritte eklem içi zoledronik asit uyguladıkları çalışmalarında ise Safranin O boyanmada gruplar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır (75). Çalışmamızın sonuçları sham grubuna göre kontrol ve salin gruplarında Safranin O boyanmasının anlamlı şekilde azaldığını göstermektedir. Aynı şekilde kontrol grubunda çalışma grubuna göre boyanma derecesi anlamlı şekilde az olarak gözlenmiştir. Çalışma grubu ile salin grubu arasında boyanma derecesi açısından anlamlı fark bulunmamaktadır. Bu durum bize alendronatın glikozaminoglikan kaybını literatürdeki alendronatla yapılmış olan çalışmalarla uyumlu şekilde anlamlı derecede azalttığını göstermektedir. Fakat bu sonuçlar alendronatın salin enjeksiyonuna üstünlüğünün olmadığını düşündürmektedir. Buna karşın çalışma grubu ile sham grubu arasında ve salin grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmaması eklem içi alendronat uygulamasının glikozaminoglikan kaybını azaltmada saline göre üstün olduğunu desteklemektedir.

Tidemark bölgesinde kalsifiye alana damarların invazyonu osteoartritte görülen bir durumdur (66,71). Hayami ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada osteoartrit oluşturdukları grupta tidemark bölgesinde damar invazyonunun arttığı, subkutan alendronat enjeksiyonunun ise bu damar invazyonunu bloke ettiği gösterilmiştir (71). Çalışmamızda kontrol grubunda osteoartrit bulgularıyla uyumlu şekilde tidemark damar invazyonunun sağlıklı sham grubuna göre anlamlı derecede arttığı bulunmuştur. Ayrıca çalışma grubunda da sham grubuna göre invazyon anlamlı şekilde daha fazla gözlenmiştir. Diğer gruplar arasında herhangi bir anlamlı fark bulunmamış olması alendronatın Hayami ve arkadaşlarının bulduğu sonucun aksine tidemark bölgesindeki damar invazyonunu engellemediğini göstermektedir. Çalışmamızla uyumlu şekilde zoledronik asitin diz eklemi ve TME içine enjeksiyonu ile yapıldığı iki çalışmada ise damar invazyonu açısından zoledronatın anlamlı etkisi olduğu gösterilememiştir (74,75).

Çalışmamızın total modifiye Mankin skor karşılaştırmalı sonuçlarına göre sağlıklı sham grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmaktadır. Bu durum osteoartrit protokolümüzün başarılı olduğunu göstermektedir. Sonuçlarımızda kontrol ve çalışma grubu arasında anlamlı fark varken salin ve kontrol grubu arasında anlamlı

fark bulunmamaktadır. Bu durum uyguladığımız eklem içi alendronatın osteoartrit oluştuktan sonra iyileşmeye etkisinin salinden daha fazla olduğunu düşündürmektedir. Buna rağmen çalışma ve salin grupları arasında istatistiksel fark bulunmamaktadır. Acar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada overiektomi yapılan ratlarda kontrol gruplarında total Mankin skorunu alendronat uyguladıkları gruba göre çalışmamızla uyumlu şekilde anlamlı derecede daha yüksek bulmuşlardır (73). Buna karşın Hayami ve arkadaşlarının çalışmasında gruplar arasında total Mankin skor açısından anlamlı fark raporlanmamıştır (71). Literatürde TME içi alendronat uygulamasının yapıldığı çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Alendronatın osteoartrite olan etkisi ile ilgili umut verici sonuçlar olsa da planlanacak yeni çalışmalarla ile daha kesin sonuçlara ulaşılma ihtimali vardır. Yaptığımız çalışmanın bu çalışmalar için bir basamak niteliğinde olduğunu ve yeni çalışmalara model olacağını düşünmekteyiz.

Literatürde eklem içi alendronat enjeksiyonunun TME osteoartrite etkisinin incelendiği tek çalışma olan Chen ve arkadaşlarının çalışmasında seçilen ratlar dişi olup osteoartritik değişiklikler overiektomi sonucunda oluşturulmuştur. Bu durum çalışmada osteoartrit üzerinde hormonal etki ile sonuçların etkilenmesine yol açmış olabilir. Ayrıca overiektomi modeli daha çok ileri yaş kadınlarda gözlenen osteoartrit modelinde alendronatın etkisini ortaya koymaktadır. Halbuki TME osteoartriti genç yaşlarda ve hem erkeklerde hem de kadınlarda görülebilmektedir. Çalışmamız erkek ratlar ile deneysel osteoartrit oluşturarak genç ve sağlıklı bireylerde görülen osteoartritte alendronatın eklem içi uygulamasının etkisini ortaya koymaktadır ve bu konuda yapılmış olan ilk çalışmadır.

Literatürde bifosfonatların osteoartrit üzerine etkisinin incelendiği insan çalışmaları da bulunmaktadır. Laslett ve arkadaşları diz eklemi osteoartriti olan 50-80 yaşlarında 59 hastayı plasebo ve zoledronik asit uygulama yapılacak olan iki gruba ayırmışlardır. Zoledronik asit intravenöz olarak 5 mg/100 ml dozda tek sefer uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda hastalarda tek seferde uygulanan zoledronik asit infüzyonunun ağrıyı ve bölgesel kemik iliği lezyonlarının büyüklüğünü azalttığı raporlanmıştır (77). Frediani ve arkadaşları diz eklemi osteoartriti olan 74 hastayı iki gruba ayırmışlardır. Her iki gruba da ilk 15 gün boyunca her gün 200 mg klodronat intramüsküler olarak enjekte edilmiştir. Daha sonra birinci gruba haftada bir enjeksiyon 2.5 ay boyunca yapılmış, ikinci gruba ise haftada bir enjeksiyon 11.5 ay boyunca yapılmıştır. Sonuçta ilk 3 ayda her iki grupta da ağrı anlamlı şekilde azalmıştır fakat

kısa süre enjeksiyon uygulanan grupta daha sonra ağrı ciddi şekilde artmıştır. Ayrıca klodronat diz osteoartritinde fonksiyonda artış, ağrı ve kemik iliği ödeminde azalma sağlamıştır (78). Rossini ve arkadaşları ise diz eklemi osteoartriti olan yaşları 50-75 arasındaki 150 hastada intraartiküler klodronat ve HA enjeksiyonunun etkilerini değerlendirmişlerdir. Gruplarda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamış olup sonuçta eklem içi klodronat enjeksiyonunun HA kadar etkili olduğu raporlanmıştır (79). Yapılmış olan insan çalışmaları değerlendirildiğinde şu ana kadar sadece diz eklemi osteoartriti ile ilgili çalışmalar yapılmış olduğu görülmektedir. Ayrıca eklem içi enjeksiyonun değerlendirildiği az sayıda çalışma mevcuttur. Bifosfonatların özellikle çenelerde osteonekroz oluşumu gibi yan etkileri göz önüne alındığında osteoartrit tedavisi için sistemik olarak bifosfonat uygulanması kar-zarar ilişkisi açısından tartışmalıdır. Eklem içi enjeksiyon yöntemi ile sistemik bifosfonat endikasyonu olmayan genç ve sağlıklı kişilerde görülen osteoartritin tedavisi bu yan etkilere neden olmadan yapılabilir. Bu nedenle çalışmamızın ileride insanlarda TME içi bifosfonat uygulaması ile osteoartrit tedavisi konusunda yapılacak olan çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızın sonuçları alendronatın eklem içi uygulanmasının kıkırdak dejenerasyonu ve glikozaminoglikan kaybı gibi osteoartrit bulgularını anlamlı şekilde azalttığını göstermektedir. Eklem içi salin uygulaması da genel olarak iyileşme sağlasa da alendronat kadar güçlü istatistik sonuçlarına sahip değildir. Buna karşın alendronat ve salinin ikili karşılaştırılmasında da anlamlı fark ortaya koyulamamıştır. Alendronatın farklı doz ve rejimlerinin osteoartrit üzerindeki etkisinin değerlendirilmemiş olması, etki değerlendirilmesinde biyokimyasal testler, immünohistokimya ve toksikoloji gibi ileri tetkiklerin kullanılmamış olması çalışmamızın limitasyonlarını oluşturmaktadır. Bu çalışma deneysel olarak oluşturulmuş TME osteoartritine alendronatın etkisi ile ilgili yapılmış olan ilk çalışma olup geliştirilmeye açıktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneyssel olarak oluşturulmuş osteoartrit üzerinde eklem içi alendronat enjeksiyonunun değerlendirdiğimiz çalışmamızın sınırları dahilinde aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

- Uyguladığımız osteoartrit modeli net şekilde osteoartrit bulgularını ortaya çıkarmıştır.
- Eklem içi alendronat uygulaması genel osteoartrit bulgularını anlamlı şekilde azaltmıştır.
- Eklem içi alendronat uygulaması kıkırdak dejenerasyonunu ve kıkırdak matriksinde glikozaminoglikan kaybını azaltmada etkilidir.
- Eklem içi salin uygulaması genel osteoartrit bulgularını azaltmada anlamlı etki gösterememiştir.
- Eklem içi salin uygulaması kıkırdak dejenerasyonunu ve kıkırdak matriksinde glikozaminoglikan kaybını azaltmada anlamlı etki gösterememiştir.

Öneriler

- Günümüzde artan stres faktörlerinin de etkisi ile TME osteoartriti daha sık karşılaşılan bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. TME osteoartritinin kesin bir tedavi yönteminin olmaması bu konuda daha çok araştırma yapılmasını gerektirmektedir.
- Çalışmamızın sonuçlarına göre alendronatın TME osteoartritinde olumlu etkilerinin olduğunu düşünmekteyiz. Alendronat uygulamasının hangi dozda, ne kadar süre ve hangi rejimde uygulanacağı konusunda ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Ibi M. Inflammation and temporomandibular joint derangement. *Biol Pharm Bull* 2019;42(4):538–42.
2. Alomar X, Medrano J, Cabratosa J, Clavero JA, Lorente M, Serra I, et al. Anatomy of the Temporomandibular Joint. *Semin Ultrasound, CT MRI* 2007;28(3):170–83.
3. Jeffrey P. Okeson *Management of Temporomandibular Disorders and Occlusion*, 8th ed. China: Elsevier, Inc;2020,4-14.
4. Lee YH, Park HK, Auh QS, Nah H, Lee JS, Moon HJ, et al. Emerging potential of exosomes in regenerative medicine for temporomandibular joint osteoarthritis. *Int J Mol Sci* 2020;21(4):1541.
5. Derwich M, Mitus-Kenig M, Pawlowska E. Interdisciplinary approach to the temporomandibular joint osteoarthritis—review of the literature. *Med* 2020;56(5):225.
6. Sarin J, DeRossi SS, Akintoye SO. Updates on bisphosphonates and potential pathobiology of bisphosphonate-induced jaw osteonecrosis. *Oral Dis* 2008;14(3):277–85.
7. Eguia A, Bagan L, Cardona F. Review and update on drugs related to the development of osteonecrosis of the jaw. *Med Oral Patol Oral y Cir Bucal* 2020;25(1):e71–83.
8. Baron R, Ferrari S, Russell RGG. Denosumab and bisphosphonates: Different mechanisms of action and effects. *Bone* 2011;48(4):677–92.
9. Ananchenko G, Novakovic J, Tikhomirova A. Alendronate Sodium; *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol* 2013;38:1-33.
10. Jiang L, Shen X, Wei L, Zhou Q, Gao Y. Effects of bisphosphonates on mandibular condyle of ovariectomized osteoporotic rats using micro-ct and histomorphometric analysis. *J Oral Pathol Med* 2017;46(5):398–404.
11. Van Offel JF, Schuerwegh AJ, Bridts CH, Stevens WJ, De Clerck LS. Effect of bisphosphonates on viability, proliferation, and dexamethasone-induced apoptosis of articular chondrocytes. *Ann Rheum Dis* 2002;61(10):925–8.

12. Strassle BW, Mark L, Leventhal L, Piesla MJ, Jian Li X, Kennedy JD, et al. Inhibition of osteoclasts prevents cartilage loss and pain in a rat model of degenerative joint disease. *Osteoarthr Cartil* 2010;18(10):1319–28.
13. Gonen ZB, Colpak HA, Onger ME. Effects of bisphosphonate treatment on mandibular condyle tissues of temporomandibular joint: A stereological study. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 2019;120(6):513–6.
14. Chen K, Zhang N, Ding L, Zhang W, Hu J, Zhu S. Early intra-articular injection of alendronate reduces cartilage changes and subchondral bone loss in rat temporomandibular joints after ovariectomy. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014;43(8):996–1004.
15. Hylander W. Functional anatomy and biomechanics of the thumb. *Hand Clin* 1992;8(1):9–15.
16. Mow VC, Ratcliffe A, Poole AR. Cartilage and diarthrodial joints as paradigms for hierarchical materials and structures. *Biomaterials* 1992;13(2):67-97.
17. de Bont LG, Boering G, Havinga P, Liem RS. Spatial arrangement of collagen fibrils in the articular cartilage of the mandibular condyle: a light microscopic and scanning electron microscopic study. *J Oral Maxillofac Surg* 1984 May;42(5):306-13.
18. de Bont LG, Liem RS, Boering G. Ultrastructure of the articular cartilage of the mandibular condyle: aging and degeneration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985 Dec;60(6):631-41.
19. Liu F, Steinkeler A. Epidemiology, diagnosis, and treatment of temporomandibular disorders. *Dent Clin North Am* 2013;57(3):465–79.
20. Al-Moraissi EA, Wolford LM, Ellis E, Neff A. The hierarchy of different treatments for arthrogenous temporomandibular disorders: A network meta-analysis of randomized clinical trials. *J Cranio-Maxillofacial Surg* 2020;48(1):9–23.
21. Ingawalé S, Goswami T. Temporomandibular joint: Disorders, treatments, and biomechanics. *Ann Biomed Eng* 2009;37(5):976–96.
22. Yengin E. Temporomandibular rahatsızlıklarda teşhis ve tedavi. İstanbul:

İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi; 2000.

23. De Rossi SS, Greenberg MS, Liu F, Steinkeler A. Temporomandibular disorders: evaluation and management. *Med Clin North Am* 2014 Nov;98(6):1353-84.
24. Friction J. Myogenous temporomandibular disorders: diagnostic and management considerations. *Dent Clin North Am* 2007 Jan;51(1):61-83.
25. Wright EF, Klasser GD. *Manual of temporomandibular disorders*. John Wiley & Sons; 2019 Oct 15.
26. Keskinruzgar A. Temporomandibular eklem ve bozuklukları. İçinde: Alparslan Ö, Etiz P (editörler). *Geleceğin dünyasında bilimsel ve mesleki çalışmalar sağlık ve spor bilimleri*, 1. Baskı. Bursa: Ekin Basım Yayın Dağıtım;2018,1-10.
27. Yumuşakbaş E. Temporomandibular eklem içi rahatsızlığı olan hastalarda klinik teşhis ve bulguların mr görüntüleme sonuçları ile karşılaştırılması. Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı. (Uzmanlık tezi), Ankara: Hacettepe Üniversitesi, 2020.
28. Orhan, K. Manyetik Rezonans Görüntülemeye Kullanılan Sirküler Tip Yüzeyel Koilin Homojen Olmayan Sensivitesinin Bilgisayar Programı Yardımıyla Düzeltilerek Temporomandibular Eklem ve Patolojilerinin İncelenmesi. Diş Hekimliği Fakültesi Oral Diagnoz ve Radyoloji Anabilim Dalı. (Doktora tezi), Ankara: Ankara Üniversitesi, 2003.
29. Janzen DL, Munk PL, Connell DG. Current imaging of temporomandibular joint abnormalities: a pictorial essay. *Canadian Association of Radiologists Journal*. 1998 Feb 1;49(1):21.
30. Katzberg RW. Temporomandibular joint imaging. *Radiology* 1989;170(2):297–307.
31. Liu Y, Wu JS, Tang YL, Tang YJ, Fei W, Liang XH. Multiple Treatment Meta-Analysis of Intra-Articular Injection for Temporomandibular Osteoarthritis. *J Oral Maxillofac Surg* 2020 Mar;78(3):373-373.
32. Pantoja LLQ, de Toledo IP, Pupo YM, Porporatti AL, De Luca Canto G, Zwir LF, et al. Prevalence of degenerative joint disease of the temporomandibular joint: a systematic review. *Clin Oral Investig* 2019;23(5):2475–88.

33. de Souza RF, Lovato da Silva CH, Nasser M, Fedorowicz Z, Al-Muharraqi MA. Interventions for the management of temporomandibular joint osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012 Apr 18;2012(4):CD007261.
34. Suenaga S, Nagayama K, Nagasawa T, Indo H, Majima HJ. The usefulness of diagnostic imaging for the assessment of pain symptoms in temporomandibular disorders. *Jpn Dent Sci Rev* 2016;52(4):93–106.
35. Kalladka M, Quek S, Heir G, Eliav E, Mupparapu M, Viswanath A. Temporomandibular joint osteoarthritis: Diagnosis and long-term Conservative management: A topic review. *J Indian Prosthodont Soc.* 2014;14(1):6–15.
36. Coutinho A, Fenyo-Pereira M, Dib LL, Lima EN. The role of SPECT/CT with 99mTc-MDP image fusion to diagnose temporomandibular dysfunction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006 Feb;101(2):224-30.
37. Landes C, Walendzik H, Klein C. Sonography of the temporomandibular joint from 60 examinations and comparison with MRI and axiography. *J Craniomaxillofac Surg* 2000 Dec;28(6):352-61.
38. Wang XD, Zhang JN, Gan YH, Zhou YH. Current understanding of pathogenesis and treatment of TMJ osteoarthritis. *J Dent Res* 2015;94(5):666–73.
39. Tanaka E, Detamore MS, Mercuri LG. Degenerative disorders of the temporomandibular joint: etiology, diagnosis, and treatment. *J Dent Res* 2008 Apr;87(4):296-307.
40. Kuang B, Dai J, Wang QY, Song R, Jiao K, Zhang J, et al. Combined degenerative and regenerative remodeling responses of the mandibular condyle to experimentally induced disordered occlusion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2013 Jan;143(1):69–76.
41. Cui D, Li H, Xu X, Ye L, Zhou X, Zheng L, et al. Mesenchymal stem cells for cartilage regeneration of TMJ osteoarthritis. *Stem Cells Int* 2017;2017:5979741.
42. Wang XD, Kou XX, He DQ, Zeng MM, Meng Z, Bi RY, et al. Progression of cartilage degradation, bone resorption and pain in rat temporomandibular joint osteoarthritis induced by injection of iodoacetate. *PLoS One* 2012 Sep 11;7(9).
43. Pritzker KPH, Gay S, Jimenez SA, Ostergaard K, Pelletier JP, Revell K, et al.

- Osteoarthritis cartilage histopathology: Grading and staging. *Osteoarthr Cartil* 2006;14(1):13–29.
44. Ok SM, Lee J, Kim Y Il, Lee JY, Kim KB, Jeong SH. Anterior condylar remodeling observed in stabilization splint therapy for temporomandibular joint osteoarthritis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014;118(3):363–70.
 45. Renapurkar SK. Surgical Versus Nonsurgical Management of Degenerative Joint Disease. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2018;30(3):291–7.
 46. Yapici-Yavuz G, Simsek-Kaya G, Ogul H. A comparison of the effects of methylprednisolone acetate, sodium hyaluronate and tenoxicam in the treatment of non-reducing disc displacement of the temporomandibular joint. *Med Oral Patol Oral y Cir Bucal* 2018;23(3):e351–8.
 47. Duygu G, Güler N, Çam B, Kürkcü M. The effects of high molecular weight hyaluronic acid (Hylan G-F 20) on experimentally induced temporomandibular joint osteoartrosis: part II. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2011 Dec;40(12):1406–13.
 48. Torres D, Zaror C, Iturriaga V, Tobias A. Intra-articular corticosteroids for treatment of temporomandibular joint internal disorders: protocol for systematic review and network meta-analysis. *BMJ Open* 2020 Sep 6;10(9).
 49. Russell RGG. Bisphosphonates: The first 40 years. *Bone* 2011 Jul 1;49(1):2–19.
 50. Suri S, Mönkkönen J, Taskinen M, Pesonen J, Blank MA, Phipps RJ, et al. Nitrogen-containing bisphosphonates induce apoptosis of Caco-2 cells in vitro by inhibiting the mevalonate pathway: A model of bisphosphonate-induced gastrointestinal toxicity. *Bone* 2001;29(4):336–43.
 51. Keskinruzgar A. Osteonekroz meydana getirilmiş ratlarda sistemik olarak verilen teriparatidin; osteonekrozun ortadan kaldırılmasındaki etkinliğinin araştırılması. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı. (Doktora tezi), Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi, 2014.
 52. Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *The Journal of clinical investigation* 1996 Jun 15;97(12):2692–6.
 53. Cremers S, Drake MT, Ebetino FH, Bilezikian JP, Russell RGG. Pharmacology of bisphosphonates. *Br J Clin Pharmacol* 2019;85(6):1052–62.

54. Van Beek ER, Löwik CWGM, Papapoulos SE. Bisphosphonates suppress bone resorption by a direct effect on early osteoclast precursors without affecting the osteoclastogenic capacity of osteogenic cells: the role of protein geranylgeranylation in the action of nitrogencontaining bisphosphonates on osteoclast precursors. *Bone* 2002 Jan 1;30(1):64–70.
55. Wood J, Bonjean K, Ruetz S, Bellahcène A, Devy L, Foidart JM, Castronovo V, Green JR. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2002 Sep 1;302(3):1055-61.
56. Porras AG, Holland SD, Gertz BJ. Pharmacokinetics of Alendronate. *Biosyst Biorobotics* 2016;13(5):55–66.
57. Jeal W, Barradell LB, McTavish D. Alendronate. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in postmenopausal osteoporosis. *Drugs* 1997;53(3):415–34.
58. Lin JH, Chen IW, deLuna FA, Hichens MA. Role of calcium in plasma protein binding and renal handling of alendronate in hypo-and hypercalcemic rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1993 Nov 1;267(2):670-5.
59. Lin JH. Bisphosphonates: a review of their pharmacokinetic properties. *Bone* 1996 Feb 1;18(2):75-85.
60. Sharpe M, Noble S, Spencer CM. Alendronate: An update of its use in osteoporosis. *Drugs* 2001;61(7):999–1039.
61. Fuentes R, Veuthey C, Arias A, Saravia D, Ottone NE. Injection in temporomandibular joint of rats. Description of technical protocol. *Polish journal of veterinary sciences* 2017;20(2).
62. Takahashi I, Matsuzaki T, Kuroki H, Hosono M. Induction of osteoarthritis by injecting monosodium iodoacetate into the patellofemoral joint of an experimental rat model. *PLoS One* 2018 Apr 26;13(4):e0196625.
63. Wang XY, Chen Y, Tang XJ, Jiang LH, Ji P. AMD3100 Attenuates Matrix Metalloprotease-3 and-9 Expressions and Prevents Cartilage Degradation in a

- Monosodium Iodo-Acetate-Induced Rat Model of Temporomandibular Osteoarthritis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2016 May 1;74(5):1-13.
64. Wall A, Board T. Chemical basis for the histological use of safranin O in the study of articular cartilage. *In Classic papers in orthopaedics* 2014 (pp. 433-435). Springer, London.
 65. Rutgers M, Van Pelt MJ, Dhert WJ, Creemers LB, Saris DB. Evaluation of histological scoring systems for tissue-engineered, repaired and osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis and cartilage* 2010 Jan 1;18(1):12-23.
 66. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am* 1971;53:523-37.
 67. Valesan LF, Da-Cas CD, Réus JC, Denardin ACS, Garanhani RR, Bonotto D, et al. Prevalence of temporomandibular joint disorders: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig* 2021;25(2):441–53.
 68. Shi L, Li X, Tang J. Effect of alendronate sodium on chondrocytes in joint inflammation through down-regulation of microrna-184 (Mir-184). *Mater Express* 2021;11(7):1132–8.
 69. Zhang N, Tian F, Gou Y, Chen T, Kong Q, Lv Q, et al. Protective effect of alendronate on lumbar facet degeneration in ovariectomized rats. *Med Sci Monit* 2019;25:4907–15.
 70. Zhu S, Chen K, Lan Y, Zhang N, Jiang R, Hu J. Alendronate protects against articular cartilage erosion by inhibiting subchondral bone loss in ovariectomized rats. *Bone* 2013 Apr 1;53(2):340-9.
 71. Hayami T, Pickarski M, Wesolowski GA, McLane J, Bone A, Destefano J, et al. The Role of Subchondral Bone Remodeling in Osteoarthritis: Reduction of Cartilage Degeneration and Prevention of Osteophyte Formation by Alendronate in the Rat Anterior Cruciate Ligament Transection Model. *Arthritis Rheum* 2004;50(4):1193–206.
 72. Nicot R, Barry F, Chijcheapaza-Flores H, Garcia-Fernandez MJ, Raoul G, Blanchemain N, et al. A Systematic Review of Rat Models With

- Temporomandibular Osteoarthritis Suitable for the Study of Emerging Prolonged Intra-Articular Drug Delivery Systems. *J Oral Maxillofac Surg* 2021;79(8):1650–71.
73. Acar N, Balkarli H, Soyuncu Y, Ozbey O, Celik-Ozenci C, Korkusuz P, et al. The determination of apoptosis rates on articular cartilages of ovariectomized rats with and without alendronate treatment. *Histol Histopathol* 2016;31(6):635–45.
74. Yılmaz S. Temporomandibular eklemden deneysel olarak oluşturulan osteoartrit eklemin içi bifosfanat enjeksiyonunun etkisinin değerlendirilmesi. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı. (Uzmanlık tezi), Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2021.
75. Cınar BM, Ozkoc G, Bolat F, Karaeminogullari O, Sezgin N, Tandogan RN. Intra-articular zoledronic acid in a rat osteoarthritis model: significant reduced synovitis may indicate chondroprotective effect. *Knee Surgery Sport Traumatol Arthrosc* 2015;23(5):1410–8.
76. Tatli U, Üstün Y, Kürkçü M, Benliday ME. Effects of zoledronic acid on physiologic bone remodeling of condylar part of TMJ: A radiologic and histomorphometric examination in rabbits. *Sci World J* 2014;2014.
77. Laslett LL, Doré DA, Quinn SJ, Boon P, Ryan E, Winzenberg TM, et al. Zoledronic acid reduces knee pain and bone marrow lesions over 1 year: A randomised controlled trial. *Ann Rheum Dis* 2012;71(8):1322–8.
78. Frediani B, Toscano C, Falsetti P, Nicosia A, Pierguidi S, Migliore A, Giannotti S, Cantarini L, Conticini E. Intramuscular clodronate in long-term treatment of symptomatic knee osteoarthritis: a randomized controlled study. *Drugs in R&D* 2020 Mar;20(1):39-45.
79. Rossini M, Adami S, Fracassi E, Viapiana O, Orsolini G, Povino MR, et al. Effects of intra-articular clodronate in the treatment of knee osteoarthritis: results of a double-blind, randomized placebo-controlled trial. *Rheumatol Int* 2015;35(2):255–63.

EKLER

EK-1. Hayvan deneyleri yerel etik kurul kararı

T.C. ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı				
Toplantı Tarihi	Oturum Sayısı	Karar No	Protokol No	Proje Yürütücüsü
05.03.2020	2	4	2020/009	Doç. Dr. Aydın KESKİNRÜZGAR
“Sıçanlarda monosodyum iodoasetat ile indüklenen deneysel temporomandibular eklem osteoartriti modelinde alendronatın terapötik etkisinin değerlendirilmesi” başlıklı araştırma projenizde 24 Adet Wistar Albino Rat kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı tarafınızdan beyan edilmiştir. Bu çerçevede aşağıda ismi bulunan araştırmacılara ait bu çalışmanın “Adıyaman Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi” yönünden uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir. 1. Dr. Öğr. Üyesi Günay Yapıcı YAVUZ 2. Dr. Öğr. Üyesi Zehra BOZDAĞ 3. Dt. Elif ACIBADEM				
Prof. Dr. Mehmet Reşat ÖZERCAN Başkan				
Dr. Öğr. Üyesi Zümrüt DOĞAN Başkan Yardımcısı		Dr. Öğr. Üyesi Gülru ESEN Üye	Katılmadı	
Dr. Öğr. Üyesi Mevlüt DOĞUKAN Üye		Dr. Öğr. Üyesi Ali PARLAR Üye		
Doç. Dr. Metin ÇALIŞIR Üye		Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÖZKAYA Üye		
Dr. Öğr. Üyesi Hasan AYDIN Üye		Orhan ÖZTÜRK Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi		
Dr. Öğr. Üyesi Sebile AZIRAK Üye		Fatma ERGİN Sivil Üye		