



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ADJUVAN İNDÜKLÜ  
TEMPOROMANDİBULAR EKLEM  
OSTEOARTRİTİ ÜZERİNDE  
RESVERATROLÜN, KIKIRDAK  
DESTRÜKSİYONU VE SİNOVİYAL  
İNFLAMASYON ÜZERİNE  
ANTIİNFLAMATUAR ETKİSİNİN  
HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

DT. PINAR YÜCE

UZMANLIK TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi HATİCE HOŞGÖR

KOCAELİ – 2019





TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

AĞIZ, DİŞ ve ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**ADJUVAN İNDÜKLÜ  
TEMPOROMANDİBULAR EKLEM  
OSTEOARTRİTİ ÜZERİNDE  
RESVERATROLÜN, KIKIRDAK  
DESTRÜKSİYONU VE SİNOVİYAL  
İNFLAMASYON ÜZERİNE  
ANTIİNFLAMATUAR ETKİSİNİN  
HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

DT. PINAR YÜCE

UZMANLIK TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi HATİCE HOŞGÖR

KOCAELİ – 2019

## ONAY

Bu tez Uzmanlık Tezi Standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Fatih Mehmet COŞKUNSES

Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı

.....  
(İmza)

Kocaeli Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Uzmanlık öğrencisi Arş. Gör. Pınar Yüce'nin hazırladığı "Adjuvan indüklü temporomandibular eklem osteoartriti üzerinde resveratrolün, kıkırdak destrüksiyonu ve sinoviyal inflamasyon üzerine antiinflamatuvar etkisinin histolojik olarak incelenmesi" başlıklı tez, kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman .....

\_\_\_\_\_

Uzmanlık Tez Sınavı Jüri Üyeleri

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

Tarih: .../.../201...

Bu tez KOÜ Diş Hekimliği Fakültesi Yönetim Kurulu'nun .../.../.... tarih ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Emre ÖZEL

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

## BEYAN

Bu tez çalışmasının KOÜ Diş Hekimliği Fakültesi uzmanlık tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: ...../...../2019

Pınar YÜCE

## **İthaf**

*Sevgili eşime ve kızıma ithaf ediyorum*



## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yakın ilgi ve desteğini hissettiğim, bilgi ve tecrübesiyle bana destek olan, tezimin her aşamasında deneyim ve görüşlerini paylaşan, ilk uzmanlık öğrencisi olduğum için gurur duyduğum, hem akademik hem insani duruşuyla örnek aldığım değerli hocam, tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hatice HOŞGÖR'e,

Değerli bilgi ve tecrübelerini uzmanlık eğitimim boyunca benimle paylaşan, desteklerini esirgemeyen, bana her zaman örnek olan değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Fatih Mehmet COŞKUNSES, Sayın Doç. Dr. Bahadır KAN ve Sayın Doç. Dr. Ülkem CİLASUN'a,

Uzmanlık tezimi destekleyen Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Tezimin deneysel aşamasının gerçekleştirildiği Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nin sorumlu uzman veteriner hekimi Cüneyt ÖZER ve veteriner sağlık teknisyeni Elif ADAR'a,

Araştırma verilerimin histopatolojik ve histokimyasal değerlendirmelerini gerçekleştiren Sayın Doç. Dr. Yusufhan YAZIR ve tezimin her aşamasında destek olan değerli asistanı Arş. Gör. Seleneay FURAT RENÇBER'e

Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum fakültemizin Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'ndaki araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Varlıklarından güç aldığım, desteklerini hep arkamda hissettiğim, beni yetiştiren canım anneme ve babama

Hayatımın her anında olduğu gibi bu zorlu süreçte de yanımda olan, bana güç veren, bana inanan sevgili eşim, hayat arkadaşım Turgut YÜCE'ye

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Dt. Pınar YÜCE





## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>İç kapak sayfası</b>	
<b>KABUL ve ONAY</b>	
<b>BEYAN</b>	
<b>İthaf</b>	
<b>TEŞEKKÜRLER</b>	
<b>İÇİNDEKİLER</b>	vii
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	x
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	xi
<b>RESİMLER DİZİNİ</b>	xii
<b>KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ</b>	xiii
<b>1. ÖZET</b>	1
<b>2. SUMMARY</b>	2
<b>3. GİRİŞ ve AMAÇ</b>	3
<b>4. GENEL BİLGİLER</b>	5
<b>4.1. Temporomandibuler Eklem Anatomisi</b>	5
<b>4.1.1. Temporomandibular Eklemi Oluşturan Kemik Elemanları</b>	5
<b>4.1.1.1. Glenoid Fossa</b>	6
<b>4.1.1.2. Artiküler Eminens</b>	6
<b>4.1.1.3. Mandibular Kondil</b>	7
<b>4.1.2. Temporomandibular Eklemi Oluşturan Yumuşak Doku Elemanları</b>	7
<b>4.1.2.1. Temporomandibular Eklem Kapsülü</b>	7
<b>4.1.2.2. Temporomandibular Eklem Diski</b>	8
<b>4.1.2.3. Temporomandibular Eklem Ligamentleri</b>	9
<b>4.1.2.4. Temporomandibular Eklem Retrodiskal Dokuları</b>	10
<b>4.1.3. Sinoviyal Membran ve Sinoviyal Sıvı</b>	11
<b>4.1.4. Artiküler Yüzeylerin Histolojisi</b>	11
<b>4.1.5. Temporomandibular Eklem İnnervasyonu ve Vaskülarizasyonu</b>	12
<b>4.2. Çiğneme Kasları</b>	12

4.2.1.	Masseter Kas	13
4.2.2.	Temporal Kas	13
4.2.3.	Medial Pterygoid Kas	13
4.2.4.	Lateral Pterygoid Kas	14
4.2.5.	Suprahyoid Kaslar	14
4.3.	Temporomandibular Eklem Biyomekaniği	15
4.4.	Temporomandibular Eklem Düzensizlikleri	16
4.4.1.	Temporomandibular Eklem Düzensizliklerinin Sınıflandırılması	16
4.5.	Osteoartrit	18
4.5.1.	Temporomandibular Eklem Osteoartritinin Patogenezi	19
4.5.1.1.	Sinoviyal İnflamasyon	21
4.5.1.2.	Kondrosit Apoptozu	22
4.5.2.	Deneysel Osteoartrit Mekanizması	23
4.5.3.	Temporomandibular Eklem Osteoartritin Tedavisi	24
4.5.3.1.	Non-invaziv Tedavi Yaklaşımı	24
4.5.3.2.	Minimal İnvaziv Tedavi Yaklaşımı	25
4.5.3.3.	İnvaziv veya Cerrahi Tedavi Yaklaşımı	25
4.6.	Resveratrol	26
4.6.1.	Resveratrol ve Antiinflamatuvar Etki	27
4.6.2.	Resveratrol ve Kemik Metabolizması	27
4.6.3.	Resveratrol ve Antiapoptotik Etki	28
4.7.	Resveratrol ve Osteoartrit patogenezi	28
5.	<b>GEREÇ ve YÖNTEM</b>	30
5.1.	Deney Hayvanları	30
5.2.	Deney Gruplarının Oluşturulması	30
5.3.	Deneysel Osteoartrit Modelinin Doğrulanması	31
5.4.	Deney Prosedürü	32
5.5.	Histopatolojik Değerlendirme	35
5.5.1.	Hematoksilen&Eozin Boyaması	37
5.5.2.	Massom Trikrom Boyaması	37
5.5.3.	İmmunohistokimyasal Boyama	38
5.5.3.1.	TUNEL İşaretleme	38

5.5.3.2.	MMP-13 İşaretlemesi	38
5.6.	İstatistiksel Değerlendirme	39
6.	<b>BULGULAR</b>	40
6.1.	Histopatolojik Bulgular	40
6.1.1.	İnflamasyon Derecelendirmesi	43
6.1.2.	Trabeküler Kemik Morfolojisi	46
6.2.	Histomorfometrik Bulgular	46
6.2.1.	Kondiler Kıkırdak Kalınlığı Ölçümü	46
6.2.2.	Artiküler Disk Kalınlığı Ölçümü	48
6.3.	İmmunohistokimyasal Bulgular	51
6.3.1.	TUNEL İşaretlemesi ve Apoptotik Kondrosit Tayini	51
6.3.2.	MMP-13 İşaretlemesi	53
7.	<b>TARTIŞMA</b>	55
8.	<b>SONUÇLAR</b>	71
9.	<b>KAYNAKLAR</b>	73
10.	<b>ETİK KURUL ONAYI</b>	85
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	86

**TABLolar DİZİNİ**

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.</b>	Sinoviyal membran ve retrodiskal bölge inflamasyon skorlarının dağılımı.	44
<b>Tablo 2.</b>	İnflamasyon değerlerinin gruplar arası karşılaştırması.	45
<b>Tablo 3.</b>	Kondiler kıkırdak kalınlığının gruplar arası karşılaştırması.	47
<b>Tablo 4.</b>	Artiküler disk kalınlığı ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırması.	48
<b>Tablo 5.</b>	TUNEL sonuçlarının gruplar arası karşılaştırması.	52

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<b>Şekil</b>		<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1.</b>	Deney gruplarındaki sinoviyal membran ve retrodiskal bölge inflamasyon skorlarının dağılımı.	44
<b>Şekil 2.</b>	Deney gruplarındaki ortalama inflamasyon değerleri.	45
<b>Şekil 3.</b>	Deney gruplarındaki ortalama kırkırdak kalınlığı değerleri.	47
<b>Şekil 4.</b>	Deney gruplarındaki anterior bölge disk kalınlığı ölçümlerinin ortalama değerleri.	49
<b>Şekil 5.</b>	Deney gruplarındaki orta hat disk kalınlığı ölçümlerinin ortalama değerleri.	50
<b>Şekil 6.</b>	Deney gruplarındaki posterior bölge disk kalınlığı ölçümlerinin ortalama değerleri.	51
<b>Şekil 7.</b>	Deney gruplarındaki ortalama apoptotik kondrosit değerleri.	52

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim</b>		<b>Sayfa</b>
<b>Resim 1.</b>	TME-OA patogenezinin sistematik olarak gösterimi.	21
<b>Resim 2.</b>	Kontrol ve CFA gruplarına ait ön çalışma fotomikrografları.	32
<b>Resim 3.</b>	İntraartiküler CFA enjeksiyonu.	33
<b>Resim 4.</b>	Sıçan TME'sinde üst eklem boşluğundaki enjeksiyon sahasının gösterimi.	33
<b>Resim 5.</b>	Sıçan TME'sinin diseksiyonu.	35
<b>Resim 6.</b>	Sıçan TME'sinin en blok eksizyonu.	35
<b>Resim 7.</b>	Gruplara ait TME kesitlerinin genel görüntüsü.	41
<b>Resim 8.</b>	Gruplara ait mandibular kondil ve disk yapısını gösteren fotomikrograflar.	41
<b>Resim 9.</b>	Gruplara ait sinoviyal membran yapısını gösteren fotomikrograflar.	42
<b>Resim 10.</b>	Gruplara ait subsinoviyal bölge yapısını gösteren fotomikrograflar.	42
<b>Resim 11.</b>	CFA grubuna ait sinoviyal membran ve subsinoviyal doku yapısını gösteren fotomikrograflar.	43
<b>Resim 12.</b>	Gruplara ait Masson trikrom ile boyanmış subkondral kemik kesitlerine ait fotomikrograflar.	46
<b>Resim 13.</b>	Gruplara ait kondil kırırdağı kalınlığını gösteren fotomikrograflar.	48
<b>Resim 14.</b>	Gruplara ait kondil kırırdağında apoptotik kondrositleri gösteren TUNEL fotomikrografları.	53
<b>Resim 15.</b>	Kondil kırırdağına ait MMP-13 ekspresyonunu gösteren fotomikrograflar.	54
<b>Resim 16.</b>	Sinoviyal membran ve periartiküler dokuda MMP-13 ekspresyonunu gösteren fotomikrograflar.	54

## KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ

### Kısaltmalar

<b>ark</b>	Arkadaşları
<b>BMP</b>	Kemik morfogenetik proteini
<b>CGRP</b>	Kalsitonin gen ilişkili peptit
<b>COX</b>	Siklooksijenaz
<b>CT</b>	Bilgisayarlı tomografi
<b>COL II</b>	Tip II kollajen biyobelirteci
<b>DAB</b>	Diaminobenzidin
<b>DDL</b>	Düşük doz lazer tedavisi
<b>DMSO</b>	Dimetil Sülfoksit
<b>ECM</b>	Ekstraselüler matriks
<b>GAG</b>	Glikozaminoglikan
<b>GİS</b>	Gastrointestinal sistem
<b>HA</b>	Hyalüronik asit
<b>H&amp;E</b>	Hemotoksilen ve eozin boyası
<b>HIF</b>	Hipoksi ile uyarılabilir faktör
<b>HMG-CoA</b>	Hidroksi metilgluteril-koenzim A
<b>IGF</b>	İnsülin benzeri büyüme faktörü
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>IV</b>	İntravenöz
<b>iNOS</b>	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
<b>NGF</b>	Sinir büyüme faktörü
<b>MIA</b>	Sodyum mono iyodoasetat
<b>MT</b>	Masson Trikrom
<b>MMP</b>	Matriks metallaproteinaz
<b>MRG</b>	Manyetik rezonans görüntüleme
<b>n</b>	Gruptaki birey sayısı
<b>NFKB</b>	Nükleer faktör kappa B
<b>NSAİİ</b>	Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç
<b>NO</b>	Nitrik oksit

<b>OA</b>	Osteoartirit
<b>p</b>	Önem düzeyi
<b>P-DEX</b>	Deksametazon
<b>PG</b>	Proteoglikan
<b>PGE</b>	Prostaglandin E
<b>PBS</b>	Fosfat tamponlu serum fizyolojik
<b>RANKL</b>	Reseptör aktivator nükleer faktör kappa ligand
<b>RES(D)</b>	Düşük doz resveratrol
<b>RES(Y)</b>	Yüksek doz resveratrol
<b>SIRT</b>	Sessiz bilgi düzenleyici 1, Sirtülin
<b>TAC</b>	Total antioksidan kapasitesi
<b>TGF</b>	Transforme edici büyüme faktörü
<b>TME</b>	Temporomandibular eklem
<b>TMD</b>	Temporomandibular eklem düzensizlikleri
<b>TNF</b>	Tümör nekroz faktör
<b>TOS</b>	Total antioksidan durumu
<b>TZP</b>	Trombositten zengin plazma
<b>VEGF</b>	Vasküler endotelyal büyüme faktörü



**Simgeler**

$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
cc	Kübik santimetre
$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{l}$	Mikrolitre
$\mu\text{m}$	Mikrometre
$\mu\text{mol}$	Mikromol
dk	Dakika
kg	Kilogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
%	Yüzde

**Formüller**

$\text{H}_2\text{O}_2$	Hidrojen Peroksit
$\text{O}_2$	Oksijen
$\text{OH}^-$	Hidroksil
$\text{NaCl}$	Sodyum klorür
$\text{CaCl}_2$	Kalsiyum klorid

## 1. ÖZET

### **Adjuvan indüklü temporomandibular eklem osteoartriti üzerinde resveratrolün, kıkırdak destrüksiyonu ve sinoviyal inflamasyon üzerine antiinflamatuvar etkisinin histolojik olarak incelenmesi**

Temporomandibular eklem osteoartriti mekanik ve biyolojik etyolojiye dayanan faktörler sonucu; subkondral kemik, kıkırdak, sinoviyum ve çevre dokularda destrüksiyona yol açan kronik bir hastalıktır. Bu çalışmanın amacı, temporomandibular eklem osteoartritinde resveratrol enjeksiyonunun, kıkırdak destrüksiyonu ve eklem inflamasyonu üzerine etkisinin değerlendirilmesidir. Osteoartrit modeli oluşturmak için Complete Freud's Adjuvan (CFA) enjeksiyonu yöntemi kullanıldı. Çalışmamızda 28 adet erkek Wistar sıçan bir adet kontrol ve üç adet çalışma grubu olmak üzere dört gruba ayrıldı. 1. Grup: Kontrol grubu (n=4), 2. Grup: Artrit grubu (n=8), 3. Grup: CFA + düşük doz intraartiküler resveratrol grubu (n=8), 4. Grup: CFA + yüksek doz intraartiküler resveratrol grubu (n=8). 3. ve 4. Gruplarda resveratrol enjeksiyonlarına CFA enjeksiyonundan bir hafta sonra başlandı ve birer hafta arayla toplam üç kez tekrarlandı. 28. günde hayvanlar sakrifiye edildi. Resveratrolün kıkırdak destrüksiyonu ve sinoviyal inflamasyon üzerindeki etkileri histopatolojik olarak incelendi. Histomorfometrik incelemede kondiler kıkırdak kalınlığı ve artiküler disk kalınlığı ölçüldü. İmmunohistokimyasal incelemede apoptotik kondrosit sayısı (TUNEL ile) yapıldı ve MMP-13 ekspresyonu değerlendirildi. Histolojik incelemede resveratrolün inflamasyon belirtilerini geri çevirdiği gözlemlendi. Kondiler kıkırdak kalınlığı ölçümü tedavi gruplarında, OA ve kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdi. İnflamasyon sonucu oluşan artiküler disk kalınlaşması tedavi gruplarında belirgin azalma gösterdi. Tedavi gruplarındaki kondrosit apoptozu, artrit grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulundu. Tüm değerlendirmelerde tedavi grupları arasındaki fark anlamsız bulundu. MMP-13 ekspresyonu tedavi gruplarında artrit grubuna göre belirgin azalma gösterdi. Sonuç olarak; intraartiküler resveratrol tedavisi, temporomandibular eklem osteoartritindeki inflamasyon ve kıkırdak destrüksiyonunu önleyerek iyileştirici etki göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** temporomandibular eklem, osteoartrit, resveratrol

## 2. SUMMARY

### **Histological investigation of the antiinflammatory effect of resveratrol on cartilage destruction and synovial inflammation with adjuvant induced temporomandibular joint osteoarthritis**

Temporomandibular joint osteoarthritis is a result of factors based on mechanical and biological etiology; is a chronic disease that causes destruction of subchondral bone, cartilage, synovium, and surrounding tissues. The aim of this study was to evaluate the effect of resveratrol injection on the temporomandibular joint on cartilage destruction and joint inflammation. Complete Freund's Adjuvant (CFA) injection method was used to construct an osteoarthritis model. In our study, 28 male Wistar rats were randomly divided into four groups as one control and three study groups. Group 1: Control group (n=4), Group 2: Arthritis (CFA) group (n=8), Group 3: CFA + low dose intraarticular resveratrol group (n=8), Group 4: CFA + high dose intraarticular resveratrol group (n=8). In groups, resveratrol injections were started one week after CFA injections and repeated a total of three times with one week interval. On day 28, the animals were sacrificed. The effects of resveratrol on cartilage destruction and synovial inflammation were examined histopathologically. Histomorphometric examination revealed condylar cartilage thickness and articular disc thickness. Apoptotic chondrocyte count was performed (by TUNEL) and MMP-13 expression was evaluated by immunohistochemical examination. Histological examination revealed that resveratrol reversed the symptoms of inflammation. Condylar cartilage thickness measurements showed statistically significant increase in treatment groups compared to arthritis and control groups. Articular disc thickening caused by inflammation decreased significantly in the treatment groups. Chondrocyte apoptosis in the treatment groups was significantly lower than the arthritis group. In all measurements, the difference between the treatment groups was not significant. MMP-13 expression decreased obviously in treatment groups compared to arthritis group. As a result, intraarticular resveratrol treatment showed a curative effect by preventing inflammation and cartilage destruction in temporomandibular joint osteoarthritis.

**Key Words:** temporomandibular joint, osteoarthritis, resveratrol

### 3. GİRİŞ VE AMAÇ

Osteoartrit (OA); sinovit, progresif kıkırdak dejenerasyonu, subkondral kemiğin yeniden şekillenmesi ve kronik ağrı ile karakterize, etyolojisi bir çok faktöre dayanan kronik bir rahatsızlıktır (1,2). Temporomandibular eklem osteoartriti (TME-OA), temporomandibular eklem (TME) rahatsızlıkları içinde incelenmektedir. TME-OA'da artikülasyonda bozukluk, eklem instabilitesi, ağrı ve hareket kaybı görülmektedir (3, 4).

Osteoartritte; kartilajenöz ekstraselüler matriks (ECM) bozulması ve kıkırdak yapısının hasarına sebep olan katabolik faaliyetler baskın hale gelmektedir (5,6). TME-OA patogenezi ve artiküler kıkırdak bozulmasında; proinflamatuvar sitokin ekspresyonu [interlökin-1 Beta (IL-1 $\beta$ ), interlökin-6 (IL-6), doku nekroz faktörü Alfa (TNF- $\alpha$ ), reseptör aktivatör nükleer kappa B ligand (RANKL)], inflamasyon, matriks metalloproteinaz (MMP) artışı, ECM sentezinin azalması ve kondrosit apoptozu oluşmaktadır (5,6). TME-OA için bir çok tedavi modeli önerilmektedir. Bunlar non-invaziv, minimal invaziv ve invaziv olmak üzere üç başlık altında incelenebilir (7-9). Farmakolojik olarak sıklıkla non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) ve analjezikler verilmektedir (10,11). Minimal invaziv yaklaşım olarak; hyaluranik asit (HA), glukozamin, statinler ve kortikosteroid gibi ajanların superior TME boşluğuna intraartiküler enjeksiyonu önerilmektedir (12-19). Cerrahi tedavisi ise en son tavsiye edilen yaklaşımdır (20). TME-OA tedavisinde amaç, semptomların hafifletilmesi, hastalığın ilerlemesinin durması ve TME fonksiyonunun restore edilmesidir (21).

Resveratrol (trans-3-4-5-trihidroksitilben); üzüm kabuğu, kırmızı şarap, yer fıstığı ve *Polygonum cuspidatum* bitkisinin kök ekstresinde yoğun konsantrasyonda bulunan doğal bir fitoaleksindir. Resveratrolün antioksidatif, antiapoptotik, antiinflamatuvar, kondroprotektif, immun düzenleyici ve antikanser etkileri olduğu gösterilmiştir (22-28). Resveratrolün OA patogenezinde önemli rol oynayan siklooksijenaz 2 (COX-2), IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi katabolizma ile ilgili yapıları [Nuclear factor *Kappa* B (NF-KB) aktivasyonunu engelleyerek] inhibe ettiği gösterilmiştir (27,29-32). Literatüre bakıldığında, diz eklemlerinde inflamatuvar artrit oluşturulmuş tavşan ve fareler üzerinde yapılan çalışmalarda intraartiküler resveratrol uygulamasının hem kıkırdak destrüksiyonunu engellediği hem de subkondral kemik yapısını koruduğu gösterilmiştir (33,34).

Bir çok araştırmada TME üzerinde deneysel OA oluşturulmuş ve çeşitli tedavi edici ajanların etkileri incelenmiştir ama TME'ye intraartiküler uygulanan resveratrolün TME üzerindeki etkisi incelenmemiştir.

Yaptığımız çalışmada başlangıç hipotezimiz, TME'ye intraartiküler uygulanan resveratrolün sinoviyal inflamasyonu azaltarak TME-OA'daki kondral katabolik faaliyetlerin azalmasına neden olabileceğidir. Resveratrolün intraartiküler uygulanmasının biyoyararlanımı arttıracığı düşünölmüştür. Resveratrol uygulamasının TME-OA tedavisinde belirlenmiş standart bir protokolü mevcut değildir. Çalışmamızda iki farklı doz resveratrol uygulaması hem kendi aralarında hem kontrol ve hastalık grupları ile karşılaştırılarak iyileşme üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Bu çalışmanın amacı; deneysel OA modeli oluşturulmuş sıçanlarda, TME'ye uygulanan intraartiküler resveratrol enjeksiyonunun, TME kıkırdak destrüksiyonu ve sinoviyal inflamasyon üzerine etkilerinin *in vivo* olarak incelenmesidir. Bu çalışmada; birçok araştırmaya konu olan resveratrolün TME-OA kıkırdağı ve sinoviyum üzerindeki iyileşmeye etkisinin histolojik olarak belirlenmesi ile literatüre katkı sağlanması hedeflenmektedir.

## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. Temporomandibular Eklem Anatomisi

Temporomandibular eklem dış kulak yolunun hemen önünde, temporal kemiğin glenoid fossası ile mandibula kondili arasında yer alan diartrodial bir eklemdir.

Temporomandibular eklem; temporal kemik, mandibula, artiküler disk, eklem ligamentleri ve retrodiskal dokulardan oluşmaktadır. TME boşluğu eklem diski aracılığı ile iki bölüme ayrılır. Alt eklem boşluğu menteşe veya rotasyon hareketine izin verir ve ginglimoid eklem olarak tanımlanır. Üst eklem boşluğu translasyon hareketinden sorumludur ve artroidal eklem olarak tanımlanır, bu nedenle TME ginglimoartroidal eklem olarak tanımlanabilir (35).

Temporomandibular eklem diğer eklemlerden ayrılan bir başka özelliği ise bilateral bir eklem olmasıdır. Kontralateralinden bağımsız hareket edemez. Bu sebeple kraniomandibular eklem olarak da anılır.

Vücuttaki diğer tüm eklemlerin hareketleri eklem bağları tarafından sınırlandırılırken; TME'nin hareketleri bağlara ek olarak karşılıklı diş temaslarıyla da sınırlandırılmaktadır (36). Dişlerin çiğneme yüzeyleri, eklem şekli ve hareketini etkilemektedir.

Temporomandibular eklem vaskülarize olmayan artiküler yüzeyleri, yoğun fibröz bağ dokudan oluşur. Diğer sinoviyal eklemlerdeki gibi hiyalin kıkırdak yoktur.

Temporomandibular eklem, innervasyonu ve vaskülarizasyonu oldukça zengin olan fibröz bağ doku kapsülü ile çevrilidir. Eklem iç yüzeyi sinoviyal sıvı üretip salgılayan sinoviyal membran ile döşenmiştir. Sinoviyal sıvı, kayganlaştırıcı etkisinin yanında, vaskülarize olmayan eklem içi yapıların metabolik ihtiyaçlarını karşılamakta ve beslenmelerini sağlamaktadır (35).

#### 4.1.1. Temporomandibular Eklemi Oluşturan Kemik Elemanlar

Temporomandibular eklemi oluşturan artiküler yüzeyler temporal kemik ve mandibular kemiktir. Temporal kemiğin artiküler yüzeyini; temporal kemiğin skuamoz parçasının inferioru oluşturur. Temporal kemiğin artiküler kısmı üç bölümden oluşur.

En büyük kısmı mandibular ya da glenoid fossa olarak adlandırılan kısımdır. İkinci kısım olan artiküler eminens kalındır ve TME'nin major fonksiyonel komponentini oluşturmaktadır. Temporal kemiğin artiküler yüzeyinin üçüncü kısmı artiküler eminensin ön kısmında düzleşmiş bir alan şeklinde olan preglenoid düzlemdir (37). TME diğer kemik yapısını ise mandibular kondil oluşturmaktadır.

#### **4.1.1.1. Glenoid Fossa**

Temporal kemiğin skuamoz parçasının alt yüzeyinde bulunan konkav bir alandır. Anteriorunda temporal kemiğin artiküler eminensi, posteriorunda ise dış kulak yolunun anterior duvarını oluşturan timpanik tabaka bulunmaktadır.

Fossanın lateral duvarı önde zigomatik çıkıntıdan başlayarak, arkada postglenoid tüberküle kadar uzamakta ve bu hat ekstraoral olarak ciltten palpe edilebilmektedir. Fossanın çatısı, kranyum ile eklem kavitesini birbirinden ayırmasına rağmen çok incedir. Bu yüzden tüm cerrahi işlemlerde fossanın çatısını perfore edebilecek aşırı manipülasyonlardan kaçınılmalıdır (37). Anterioposterior ve mediolateral yönde konkav bir yapıya sahiptir ve mediolateral yönde daha geniştir. Fonksiyonda olan ve daha fazla kuvvete maruz kalan anterior kısmı posteriora oranla daha geniştir (38).

#### **4.1.1.2. Artiküler Eminens**

Temporal kemiğin zigomatik çıkıntısının lateralinde artiküler eminens denilen kemik çıkıntısı bulunmaktadır. Zigomatik arkın posterior kökünü, artiküler fossanın anterior duvarını oluşturmaktadır. Lateralinde artiküler tüberkül denilen, temporomandibular ligamentin tutunduğu küçük bir kemik çıkıntısı bulunmaktadır (35). Artiküler eminensin şekli doğumda düzdür. Preglenoid düzlem denilen ön eğimi, temporal kemiğin skuamoz parçasının infratemporal yüzeyinden oluşmaktadır. Kondil ve disk ağız çok açıldığında eminensin tepesinin önüne doğru hareket eder ve preglenoid düzlem üzerine gelirler. Glenoid fossanın aksine artiküler eminensi oldukça yoğun ve fibröz bir bağ doku örter. Artiküler eminens genellikle çok kalın ve yoğun bir kemikten oluşur. Tüm bunlar, artiküler eminensin, kondil, disk ve temporal kemiğin

skuamoz parçasının artiküler yüzeyleriyle beraber devamlı yük altında olduğunu göstermektedir (39).

#### **4.1.1.3. Mandibular Kondil**

Mandibular kondil, mediolateral yönde, anterioposterior yönden daha geniş bir yapı gösterir. Anterioposterior yönde 8-10 mm uzunluğunda ve mediolateral yönde 15-20 mm genişliğindedir. Kondil medialinde ve lateralinde TME ligamentlerinin tutunduğu tüberküller içermektedir. Kondilin artiküler yüzeyi fibrokartilaj yapıdadır ve içeriği yaşa ve bulunduğu kondiler bölgeye göre değişmektedir (37). Bu fibrokartilaj yapı fonksiyonel stres altında rejenerasyon ve remodelizasyon özelliğine sahiptir. Fonksiyona bağlı değişiklikler özellikle kondilin fibrokartilaj yapısının proliferatif tabakasında gerçekleşmektedir (35). Artiküler kıkırdak kondrosit ve proteoglikan (PG), glikozaminoglikan (GAG), Tip II, IX, XI kollejen gibi makromoleküllerden oluşmaktadır (40).

Genç bireylerde kondil hiperplastik karakter kazanarak aşırı yüklenmelere uyum sağlar. Yaşın ilerlemesi ile kondilde sadece kartilaj artıkları kalmakta ve kondil tamamiyle kalsifiye olmaktadır. Bu nedenle yaşlı bireylerde aşırı yüklenmeye bağlı olarak gelişen travmalar dejeneratif eklem hastalıklarına neden olmaktadır (37).

#### **4.1.2. Temporomandibular Eklemi Oluşturan Yumuşak Doku Elemanları**

##### **4.1.2.1. Temporomandibular Eklem Kapsülü**

Temporomandibular eklem kapsülü eklemi tamamı ile çevreleyen ince fibröz dokudan oluşmaktadır. Bu fibröz kapsül eklemin kranial kemik komponentlerinden mandibula kondil boynuna kadar uzanır. Eklem kapsülü anteriolateral olarak artiküler tüberküle, lateral olarak glenoid fossanın lateral kenarına, posteriolateral olarak postglenoid prosese posteriora posterior artiküler sırta, medial olarak temporal kemiğin sfenoid kemiğinin büyük kanadı ile yaptığı birleşim yerine, en son olarak da anteriora temporal kemikte preglenoid düzleme kadar uzanır. Kapsülün kondil boynuna uzanan kısmı ise artiküler yüzeyin anterioruna, posterioruna ve alt kısmına kadar uzanarak



TME'yi tamami ile sarar. Eklem kapsülü lateralde temporomandibular ligament ile desteklenmiştir. Eklem kapsülü fonksiyonel olarak kondilin öne doğru translasyonunu sınırlar. Kapsülün anterior kısmında lateral pterygoid tendonun geçtiği ufak bir açıklık bulunur ve bu alan kapsülün diğer kısımlarına oranla daha zayıftır (41). Kapsülün anterior duvarı gevşek bağ dokusu yapısındadır ve gelen yükler karşısında kapsülün diğer kısımları kadar dirençli değildir (42). Eklem kapsülünün iç yüzeyi basınca maruz kalan fibrokartilaj yapıların dışında sinoviyal membran ile kaplıdır (41). Artiküler kapsülün önemli bir görevi propriyoseptif duyu almasıdır.

#### **4.1.2.2. Temporomandibular Eklem Diski**

Temporomandibular eklem diski TME'nin en önemli anatomik yapısıdır. Bikonkav fibrokartilaj yapıdan oluşmaktadır ve eklem mandibular kondil ve kranial komponentleri arasında yer alır. Eklem diski vaskülerize ve innerve olmayan yoğun fibröz bağ dokusundan oluşmaktadır. Temporal ve mandibular artiküler kemikler ile beraber rotasyon ve translasyondan sorumludur. Eklem diski eklem kavitesini üst ve alt kompartımana ayırır. Diskin alt yüzeyi mandibular kondil ile uyumlu olarak konkav iken, üst yüzeyi eyer şeklinde olup kranial eklem yüzeyi ile uyumlu bir yapı gösterir. Diskin tüm kenarları yuvarlak olup anterior, orta ve posterior olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır (41). Eklem diskinin posteriorunda bilaminar veya retrodiskal bölge olarak adlandırılan yapı bulunur. Artiküler disk kondilin medial ve lateral kutuplarına, anterior ve posterior hareketler sırasında kondil ile beraber hareket edebilmek için kollateral ligamentler ile tutunmuştur. Ayrıca artiküler disk her yönden artiküler kapsüle bağlanmış vaziyettedir (41). Disk mediolateral yönde hareket edemez. Eklem diskine yandan bakıldığında, önde kalın olan anterior bant, orta alan, arkada en kalın görünen posterior bant izlenir. Anterior bant, orta alan ve posterior bant kalınlıklarının oranları sırasıyla 2:1:3 şeklindedir (43). Diskte Tip I kollajen fibriller, elastik fibriller ve kondroitin sülfat, dermatan sülfat, hyaluronik asit ve keratin sülfat içeren GAG'ların rastgele dizilimi mevcuttur. Diskteki kollajen lif ağı, gerilme direncini korurken, proteoglikanlar, hidrofilik GAG zincirleriyle dokuya ozmotik şişme basıncı sağlamaktadır (43). Diskin yapısında Tip I kollajen yapı baskın olup az sayıda da olsa Tip II kollajene de rastlanılmaktadır (37).

Diskin temel görevi, temporal kemiğin skuamoz parçası ve mandibula kondili arasında oluşan streslerin emilimini sağlayarak, eklem gelen kuvvet dağılımlarını eşit biçimde dağıtmak ve böylece fonksiyon sırasında oluşacak deformasyonları önlemektir (44). TME'nin artiküler kemik yüzeyleri üzerindeki fibrokartilaj yapı eklem gelen yüklerin dağılımına ve kayma hareketine uygun değildir. Disk ise bu iki kemik arasındaki uyumu sağlayarak, gelen kuvvetlerin dağılımını sağlamaktadır. Ayrıca esnek yapısı ve bağlı olduğu fibrillerinde elastikiyetiyle kayma hareketini gerçekleştirmektedir. Diskin yapısı ve mekanik bütünlüğü TME'nin bir bütün olarak düzgün hareketini sağlamaktadır (45).

#### **4.1.2.3. Temporomandibular Eklem Ligamentleri**

Temporomandibular eklem ile ilişkili ligamentler kollajen yapıdan oluşmaktadır ve esas olarak kondil ve diskin hareketlerinin kısıtlanmasında görev yaparlar. TME'de kollateral, kapsüler, temporomandibular ligament olmak üzere üç fonksiyonel eklem ligamenti ve sfenomandibular ve stilomandibular olmak üzere iki adet yardımcı eklem ligamenti mevcuttur. TME ligamentleri aktif olarak eklem fonksiyonuna katılmaz ve mandibula hareketlerinin sınırlandırılmasında pasif olarak görev yaparlar (35).

##### Kollateral Ligament

Diskal ligament olarak da adlandırılan kollateral ligamentler artiküler diski mandibula kondilinin medial ve lateral kutuplarına bağlayan ligamentlerdir. Eklemi mediolateral olarak üst ve alt eklem boşluklarına ayırırlar. Kollateral ligamentlerin fonksiyonu diskin kondilden uzaklaşmasını engelleyerek kondil ve disk kompleksinin senkronize hareketine olanak sağlamaktır. Ayrıca bu ligamentler kondilin rotasyon hareketinde görev yapmasının yanında, translasyon hareketi sırasında diskin kondil ile beraber hareket etmesini sağlamaktadırlar (35).

##### Kapsüler Ligament

Temporomandibular eklem kapsüler ligamenti her iki eklemi tamamen sarar. Ligamentler süperiorde temporal kemiğin glenoid fossası ve artiküler eminensine, inferiorde mandibula kondil boynuna yapışır (35). Kapsüler ligament eklem

bütünlüğünü bozacak lateral, medial ve inferior kuvvetlere karşı koyar. Kapsüler ligamentin diğer önemli bir fonksiyonu ise sinoviyal sıvıyı muhafaza etmektir (36).

#### Temporomandibular Ligament

Temporomandibular ligament TME'nin lateralinde konumlanmıştır. Kapsüler ve kollateral ligamentlerden farklı olarak medial ve lateralde değil TME'nin sadece lateralinde bulunur. Temporomandibular ligamentin farklı görevleri olan iki kısma ayrılabilir. Dış yüzeyde uzanan oblik kısım zigomatik prosesin artiküler tüberkülünün dış yüzeyinden başlar, posterior ve inferiora doğru ilerleyip kondil boynunun posterior dış yüzeyinde sonlanır ve kondilin aşağı ve öne hareketini sınırlandırır. İç horizontal kısım ise artiküler tüberkülün dış yüzeyinden başlar oblik ligamentin medialinde ilerler ve kondilin lateralinde sonlanır. Horizontal kısım kondil ve diskin posteriora doğru hareketine engel olur böylece retrodiskal dokular korunmuş olur (35).

#### Sfenomandibular Ligament

Sfenomandibular ligament Meckel kıkırdağının kalıntısıdır. Ligament sfenoid kemiğin sfenoid çıkıntısından başlar mandibula lingula bölgesinde mandibulaya yapışır. Mandibulanın translasyon hareketi sırasında özellikle kondilin artiküler eminensi geçtiği esnada gerilerek mandibulanın anteriora hareketini engellemektedir (46). Ayrıca lateral pterygoid kasın aktivasyonu sırasında bir dereceye kadar rotasyon merkezi olarak görev yapmaktadır (35).

#### Stilomandibular Ligament

Stilomandibular ligament derin servikal fasyanın lokal olarak yoğunlaşması ile oluşmuştur. Stiloid prosesin apeksinden başlayıp mandibula angulus bölgesinin mediali ve mandibulanın posteriorunda sonlanır. Stilomandibular ligament ağız açık ve kapalı iken gevşektir, sadece mandibulanın aşırı protruziv hareketlerinde gerilir ve mandibulanın aşırı protruziv hareketini engeller. Ayrıca mandibula angulus bölgesinde yoğun bağ dokusu yapısı ile destekleyici yapı olarak görev yapar (36,46).

#### **4.1.2.4. Temporomandibular Eklem Retrodiskal Dokuları**

Bilaminar zon olarak da adlandırılan retrodiskal doku artiküler diskin posteriorunda yer alır ve yüksek derecede innervasyona ve vaskülarizasyona sahiptir. Retrodiskal laminanın süperior kısmı elastik liflerden oluşmaktadır ve süperior

retrodiskal lamina olarak adlandırılmaktadır. Süperior retrodiskal lamina timpanik tabakaya yapışır ve diskin anteriora aşırı hareketini engeller. Retrodiskal dokunun inferior kısmı kollajen liflerden oluşur ve inferior retrodiskal doku olarak adlandırılır. Retrodiskal dokular eklem diskini kondilin artiküler yüzeyinin posterioruna bağlar. İnférieur retrodiskal lamina kondilin rotasyon hareketi sırasında diskin aşırı rotasyonunu engeller (35,36).

#### **4.1.3. Sinoviyal Membran ve Sinoviyal Sıvı**

Sinoviyal membran kapsülün en iç tabakasını oluşturur. Glenoid fossa ile diskin superior yüzü arasındaki superior kavite ile mandibula kondili ile diskin inferior yüzü arasındaki inferior kaviteyi kaplar.

Sinoviyal membran artiküler eminens üzerindeki artiküler kıkırdak, artiküler disk ve mandibula başı dışında tüm intraartiküler yapıları kaplamaktadır. Sinoviyal intima olarak adlandırılan eklem boşluğunun yüzeyini çevreleyen hücre tabakası ve kan damarlarıyla zenginleştirilmiş subintimal veya subsinoviyal doku olarak adlandırılan destekleyici tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur.

Sinoviyal hücrelerin fonksiyonu, metabolik artıkların fagositozu, hyaluronik asit (HA) ve glukozamin içeren sinoviyal sıvı üretmektir. Sinoviyal membran travma sonrası hızlı ve yüksek rejenerasyon kapasitesine sahiptir (35).

Sinoviyal sıvı yüksek viskoziteden sorumlu yüksek konsantrasyonda HA içermektedir. Üst kompartımanda 1,2 cc alt kompartımanda 0,9 cc olmak üzere eklemde toplamda ortalama 2,1 cc sinoviyal sıvı vardır (37). Sinoviyal sıvının görevleri; eklem yüzeylerinin kayganlaşmasını sağlamak, artiküler kıkırdağın beslenmesini sağlamak ve fagositoz ile eklem içi debrisi uzaklaştırmaktır (35).

#### **4.1.4. Artiküler Yüzeylerin Histolojisi:**

Mandibular kondil ve glenoid fossanın eklem yüzeyleri dört farklı tabakadan meydana gelir (36).

*Artiküler bölge:* En yüzeysel tabakadır. Eklem fonksiyonel yüzeyinin en dış kısmını oluşturmaktadır ve eklem kavitesine komşuluk yapmaktadır (36). Temporal ve

artiküler eklem yüzeyleri diğer eklemlerden farklı olarak hiyalin kıkırdak yerine, fibrokartilajla örtülmüştür (51). Fibriller harekete karşı kuvvet olarak direnebilecek şekilde sıkı istiflenmiştir (36).

*Proliferatif bölge:* Çoğunlukla selüler özelliktedir. Bu bölgede non-diferansiye mezenşimal doku bulunmaktadır. Bu doku yükleme sırasında artiküler yüzeyler üzerine gelen fonksiyonel kuvvetlerin gereksinimlerine bağlı oluşan eklem kıkırdağı proliferasyonundan sorumludur (36).

*Fibrokartilajenöz bölge:* Bazı kollajen fibrillerin radyal doğrultuda bulunmasına rağmen çaprazlayan demetler halinde düzenlenmiştir. Fibrokartilaj basınç ve lateral kuvvetlere karşı koyacak şekilde üç boyutlu bir ağ gibi rastgele dağılmış bir görüntü vermektedir (36).

*Kalsifiye kıkırdak bölge:* Dördüncü ve en derindeki kısımdır. Bu bölge eklem kıkırdağı boyunca dağılmış kondrosit ve kondroblastlardan oluşur (36).

#### **4.1.5. Temporomandibular Eklem İnnervasyonu ve Vaskülarizasyonu**

Temporomandibular eklem beslenmesi anteriordan masseterik arterden ve posteriordan süperfisiyal temporal arterin ve maksiller arterin dallarından sağlanır. Eklemde venöz dönüşüm posteriora retrodiskal doku civarında bulunan zengin venöz pleksus ile sağlanır. TME'nin innervasyonu aurikulotemporal sinirin dalları, masseterik ve posterior derin temporal sinirin katılımıyla sağlanmaktadır (35).

#### **4.2. Çiğneme Kasları**

Mandibulanın hareketini etkileyen kaslar anatomik pozisyona göre supramandibular ve inframandibular olmak üzere iki grupta incelenebilir. Mandibula ramus ve kondil boynuna yapışan temporal, masseter, medial pterygoid ve lateral pterygoid kaslar supramandibular kas grubunu oluşturur. İframandibular grup suprahyoid ve infrahyoid olmak üzere ikiye ayrılır. Mandibula korpus, simfiz ve hyoid kemiğe yapışan kaslar suprahyoid olarak adlandırılır ve digastrik, geniohyoid, mylohyoid ve stylohyoid kaslarından oluşur. İfrahyoid kaslar ise sternohyoid, omohyoid, sternotiroid, tirohyoid kaslardan oluşmaktadır (35,36).

#### **4.2.1. Masseter Kas**

Masseter kas zigomatik arkta başlayıp mandibulanın lateralinde sonlanır. Masseter etkili çiğnemeyi sağlayan ve mandibulanın kapanmasını sağlayan en güçlü kastır. Yüzeysel ve derin olmak üzere iki kısımdan oluşur. Yüzeysel kısım, zigomatik kemiğin alt sınırından ve zigomatik arkın ön 2/3'ünden orijin alıp aşağı ve arkaya doğru ilerleyerek mandibulanın angulusuna yapışır. Derin kısım ise zigomatik arkta orijin alıp mandibula angulusunda superfisiyal parçanın tutunduğu kısmın hemen üzerine yapışır. Masseter kas kasıldığında mandibula yukarıya doğru kalkar. Ayrıca yüzeysel kısım mandibulanın protrüzyonuna da yardımcı olur (35).

#### **4.2.2. Temporal Kas**

Yelpaze şeklindeki temporal kas orijinini parietal, temporal, frontal ve sfenoid kemiklerin oluşturduğu temporal fossadan almaktadır. Kas lifleri zigomatik arkın altından öne ve aşağı uzayarak koronoid prosese ve üçüncü molar dişin distaline kadar olan alçalan ramusun ön yüzeyine tutunmaktadır. Kuvveti zayıf olan bu kas üç kısımda incelenebilir: ön kısım, orta kısım ve arka kısım. Ön kısım lifleri vertikal yönde, orta kısım lifleri oblik ve arka kısım lifleri horizontal olarak seyretmektedir. Ağız kapatmaya yardımcı olan bu kas horizontal ve oblik seyreden lifleri nedeniyle de bir miktar mandibula retrüzyonunda görev almaktadır. Temporal kasın tek taraflı kasılması mandibulanın aynı tarafa deviasyonuna yardımcı olmaktadır (35).

#### **4.2.3. Medial Pterygoid Kas**

Dikdörtgen şeklindeki bu kas orijinini pterygoid fossa ve pterygoid prosesin lateral kısmının iç yüzeyinden almaktadır. Bazı lifleri maksilla tüberden ve palatin kemikten de orijin alabilmektedir. Inferiora ve posteriora seyreden lifleri mandibula angulusuna yapışmaktadır. Masseter kas gibi kuvvetli bir kastır. Medial pterygoid kas kasıldığında mandibula yukarı kalkar ve dişler temas eder. Ayrıca unilaterale protrüzyonda da rolü vardır (35).

#### **4.2.4. Lateral Pterygoid Kas**

Lateral pterygoid kas iki farklı fonksiyona sahip inferior ve süperior olmak üzere iki kısma ayrılır. İnférieur lateral pterygoid kas, lateral pterygoid plağın dış yüzeyinden başlar ve geriye, yukarı ve dışarıya doğru uzanarak mandibulanın kondil boynuna yapışır. Süperior pterygoid kas büyük sfenoid kanadın infratemporal yüzeyinden başlar geriye, yukarı ve dışarıya doğru ilerleyerek kondilin üst kısmına yapışmaktadır. İnférieur lateral pterygoid bilateral olarak kasıldığı zaman kondil artiküler disk ile beraber aşağı ve öne doğru hareket eder ve böylelikle ağzın açılması sağlanmaktadır. İnférieur lateral pterygoid kas tek taraflı kasıldığında kondil medial ve protrüziv yönde hareket eder ve mandibulanın kontralateral hareketi ile sonuçlanır. Süperior lateral pterygoid kasın esas fonksiyonu mandibulanın retrüzyonu ile birlikte ağzın kapanmasını sağlamaktır (35).

#### **4.2.5. Suprahyoid Kaslar**

Suprahyoid kaslar mandibula ve hyoid kaslar arasında uzanır. Bu kaslar mandibula sabit pozisyonda iken hyoid kemiğın yukarı kalkmasını sağlar.

Digastrik kas; anterior ve posterior olarak yer alan ve uzun bir ara tendon ile birleşen ön ve arka olmak üzere iki karına sahip bir çift kaktır. Her iki karnın içine girdiği ara tendon, hyoid kemiğe fibröz bir bağ dokusu aracılığı ile tutunur. Ön karın, mandibulanın ön alt kısmının iç tarafındaki sığ bir çöküntü olan digastrik fossadan çıkar, geriye ve hafif lateral yönde ilerler. Arka karın ise; temporal kemiğın mastoid çıkıntısından çıkar, öne ve medial yönde ilerleyerek hyoid kemiğe tutunur. Digastrik kasın ön ve arka karınları, mandibulanın alt sınırı ile birlikte submandibular üçgeni oluştururlar. Digastrik kasın fonksiyonu; hyoid kemik, hyoid altı kaslar tarafından sabit tutulduğunda, mandibulayı aşağı çekerek ağzın açılmasına yardım eder. Hyoid kemik sabit tutulmadığında ise, hyoid kemiği yukarı çekerek ve ağız tabanını yükselterek yutma işlemine yardımcı olur (36).

Geniohyoid kas; mylohyoid kasın üzerinde ve ortasında, bir çift, dar yapılı kastan oluşur. Mandibulanın iç yüzeyindeki orta çizginin hemen yakınında yer alan spina mentalise ve mylohyoid çizginin (linea mylohyoideus) ön bölümüne yapışarak başlayan

her iki taraftaki kas lifleri, orta hatta paralel olarak arkaya doğru ilerler ve hyoid kemiğin gövdesinin ön yüzeyine tutunarak sonlanırlar. Fonksiyonu; hyoid kemik sabit konumda iken mandibulayı aşağı çekerek ağzın açılmasına yardımcı olmasıdır. Hyoid kemik sabit durumda değilken ise hyoid kemiği yukarı ve öne doğru çekerek ağız tabanını yükseltir (36,37).

Mylohyoid kas, diğastrik kasın üzerinde yer alan ve ağız tabanını şekillendiren kastır. Mylohyoid kas, mandibulanın iç yüzündeki mylohyoid çizgi boyunca başlar ve hyoid kemiğe doğru uzanır. Fonksiyonu; alt çenenin açılma hareketine katkısı vardır. Hyoid kemik sabit kalırsa mandibulayı aşağı çekerek, ağzın açılmasına yardımcı olur. Fakat esas görevi; dili kaldırarak hyoid kemiği yükseltmek ve yutkunma işlevine yardımcı olmaktır (36,37).

Stylohyoid kas, temporal kemiğin styloid çıkıntısından çıkan, daha sonra aşağıya ve diğastrik kasın arka karnının hemen üstünden iç yana doğru ilerleyerek hyoid kemiğin gövdesindeki büyük boynuzuna tendonu aracılığıyla yapışarak sonlanan bir çift kastır. Stylohyoid kasın en önemli görevi; hyoid kemiği yukarı ve geriye çekmek, böylece ağız tabanını yükselterek yutma işlevine yardımcı olmaktır (36).

### **4.3. Temporomandibular Eklem Biyomekaniği (Hareketleri)**

Kompleks serbest mandibular hareketlerin oluşmasında, alt ve üst eklemler çift taraflı olarak rol oynamaktadır. Mandibular hareket rotasyonel ve translasyonel hareketlerin birleşimidir (35). Kondil ve diskten oluşan alt eklem boşluğu rotasyonel hareketten sorumludur. Rotasyonel hareketin rotasyon merkezi horizontal düzlemde kondil başından geçer. Saf rotasyon hareketinin miktarı anterior dişlerin insizalleri arasında olan mesafe ölçüldüğünde yaklaşık olarak 2,5 cm'ye denk gelmektedir (36).

Açılma hareketinin başlangıcı primer olarak rotasyondur ve bunu translasyon hareketi izler. Translasyon hareketi temporal kemiğin glenoid fossası ve artiküler diskten oluşan üst eklem boşluğunda gerçekleşmektedir. Hareket, kesiciler arası mesafe 40 - 60 mm olana kadar devam eder. Kondilin translasyonu ve rotasyonu eş zamanlıdır (36).

Mandibulanın tüm hareketleri simetrik veya asimetrik olup, kondil, artiküler disk ve artiküler eminensin yakın temasını içerir. Mandibulanın açma, kapama, retruziv ve



protruziv hareketleri kasların bilateral ve simetrik olarak çalışması ile gerçekleşir. Çiğneme sırasında gerçekleşen olası asimetrik hareketler kasların tek taraflı olarak çalışması ile oluşur ve her iki eklemdede farklı miktarda rotasyon ve translasyon hareketi gerçekleşir. Mandibulanın protrüzyonu, lateral pterygoid kasların kasılması ile oluşur ve disk ile kondil artiküler eminensin önüne ve aşağısına doğru kayar. Protrüzyon sırasında lateral pterygoid kaslar, medial pterygoid kaslar tarafından desteklenir (35).

Kondil, disk ve fossanın bütünlüğü çiğneme kaslarının sürekli aktivasyonu, özellikle de supramandibular kas grubu ile sağlanmaktadır. TME ile ilgili ligamentler mandibula hareketlerini sınırlandırıcı olarak görev yaparlar (35).

Kondil, disk ve fossa uyumunun bilinmeyen sebeplerden dolayı bozulması temporomandibular eklem düzensizliklerine (TMD) sebep olur. Bu düzensizlikler internal disk düzensizliklerinden osteoartrite kadar değişik seviyelerde olabilir. Mekanik sebepler TMD'nin nedenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır (47).

#### **4.4. Temporomandibular Eklem Düzensizlikleri**

Temporomandibular eklem düzensizlikleri (TMD); çiğneme kas sistemi, TME, çevre kemik ile yumuşak doku bileşenleri ve bu yapıların kombinasyonlarının klinik problemlerini içeren geniş bir grubu oluşturmaktadır (48,49). TMD semptomlarını; mandibula hareketlerinde kısıtlılık, çiğneme kaslarında ve TME'de ağrı, kliking, popping ya da krepitasyon gibi eklem ile alakalı sesler, generalize miyofasiyal ağrı, kilitlenme ya da deviyasyon gibi fonksiyonun bozulduğu durumlar oluşturmaktadır (48,49). TMD, Uluslararası Baş Ağrısı Topluluğu tarafından Uluslararası Baş Ağrısı Düzensizlikleri Sınıflaması'nda "İkincil Baş Ağrısı Düzensizlikleri" alt grubuna dahil edilmiştir (47).

##### **4.4.1. Temporomandibular Düzensizliklerin Sınıflaması**

Günümüze kadar TMD ile ilgili birçok sınıflandırma yapılmıştır. Peck ve arkadaşlarının (2014) düzenlediği, genişletilmiş TMD sınıflaması şu şekildedir (50):

*I. Temporomandibular eklem hastalıkları*

*1. Eklem ağrısı*

A. Artralji

B. Artrit

2. Eklem düzensizlikleri

A. Disk düzensizlikleri

1. Redüksiyonlu disk deplasmanı

2. Aralıklı Kilitlenmeli redüksiyonlu disk deplasmanı

3. Ağız kısıtlılığı olan redüksiyonsuz disk deplasmanı

4. Ağız kısıtlılığı olmayan redüksiyonsuz disk deplasmanı

B. Diğer disk düzensizliklerinden farklı olan hipomobilitate düzensizliği

1. Adezyonlar/Yapışıklıklar

2. Ankiloz

a. Fibröz

b. Osseöz

C. Hiper mobilitate düzensizlikleri

1. Dislokasyonlar

a. Sublüksasyon

b. Lüksasyon

3. Eklem düzensizlikleri

A. Dejeneratif eklem hastalıkları

1. Osteoartroz

2. Osteoartrit

B. Sistemik artritler

C. Kondilizis/İdiyopatik kondiler rezorpsiyon

D. Osteokondritis dissekans

E. Osteonekrozis

F. Neoplazm

G. Sinoviyal kondromatozis

4. Fraktürler

5. Konjenital/Gelisimsel düzensizlikler

A. Aplazi

B. Hipoplazi

C. Hiperplazi

## *II. Çiğneme kası düzensizlikleri*

### *1. Kas ağrısı*

- A. Miyalji
  - 1. Lokal miyalji
  - 2. Miyofasiyal ağrı
  - 3. Yansıma gösteren miyofasiyal ağrı
- B. Tendonit
- C. Miyozit
- D. Spazm

### *2. Kontraktürü*

### *3. Hipertrofi*

### *4. Neoplazm*

### *5. Hareket düzensizlikleri*

- A. Orofasiyal diskinezi
- B. Oromandibular distoni

### *6. Sistemik yada santral ağrı düzensizliklerine bağlı çiğneme kası ağrısı*

- A. Fibromiyalji/Geniş yayımlı ağrı

## *III. Baş ağrısı*

### *1. TMD'ye bağlı baş ağrısı*

## *IV. İlgili yapılar*

### *1. Koronoid hiperplazisi*

## **4.5. Osteoartrit**

Osteoartrit (OA), sinoviyal eklemlerin yapısal ve fonksiyonel bozukluğu ile sonuçlanan bir dizi rahatsızlığın klinik ve patolojik sonucudur. Genel olarak artiküler kırkırdak hastalığı olarak düşünülse de OA, subkondral kemik, disk, ligamentler, periartiküler kaslar, kapsül ve sinoviyumu içeren yani tüm eklemi tutan bir rahatsızlıktır (52).

Temporomandibular eklem artritlerinin en sık görülen tiplerinden biri OA'dır. Osteoartrit; kondil ve mandibuler fossanın artiküler kemik yüzeylerinde değişimin meydana geldiği yıkıcı bir süreci temsil etmektedir (36). Yükleme kuvvetlerinin devamı

artiküler yüzeyde yumuşamaya yol açarak subartiküler kemikte rezorbsiyon ve bozulmalara sebep olmaktadır (36) Radyografik değişiklikler OA'nın ileri aşamalarında görülmektedir ve her zaman hastalığı tam olarak yansıtmamaktadır (36). TME-OA tutulumu bulunan hastalarda çene hareketlerinde ağrı, kısıtlı çene hareketleri ve etkilenen tarafa doğru deviasyon görülebilmektedir. OA hastalarında eklem palpasyonunda akut hassasiyet bulunabilmektedir. Ayrıca bu hastalarda eklem sesleri kliking ve popping seslerinden farklı olarak çıtırdama, öğütme, rendeleme gibi tanımlanabilmektedir; krepitasyon olabilir (3,53). OA hastalarında görüntüleme yöntemleri; dejeneratif değişiklikler, remodelling ve eklem boşluğu kaybını ortaya çıkarmaktadır (3).

Osteoartrit kompleks ve multifaktöriyel etyolojiye sahiptir (1). Risk faktörleri; yaş, cinsiyet, genetik, travma (daha önce oluşan fraktürlere bağlı, tekrarlayan olumsuz yükleme, eksternal veya internal çene travması ve uzun süreli mikro travma), eklem veya kas bozuklukları (eklem instabilitesi, yetersiz kas gücü/dayanıklılık, internal düzensizlikler, diskektomi, ligament gevşekliği) ve sistemik (generalize osteoartrit, enfeksiyon ve idiyopatik dejeneratif süreç, konjenital ve gelişimsel anomali, otoimmün bozukluklar, endokrin hastalıklar, beslenme bozuklukları, metabolik hastalıklar) koşullardır (7).

Temporomandibular eklem gelen makrotravma artiküler kıkırdak dejenerasyonu, sinoviyal inflamasyon ve ağrı medyatörlerinin üretimine sebep olurken diskte, mekanik yorgunluğa ve mekanik özelliklerin değişmesine neden olur (7).

#### **4.5.1. Temporomandibular Eklem Osteoartritin Patogenezi**

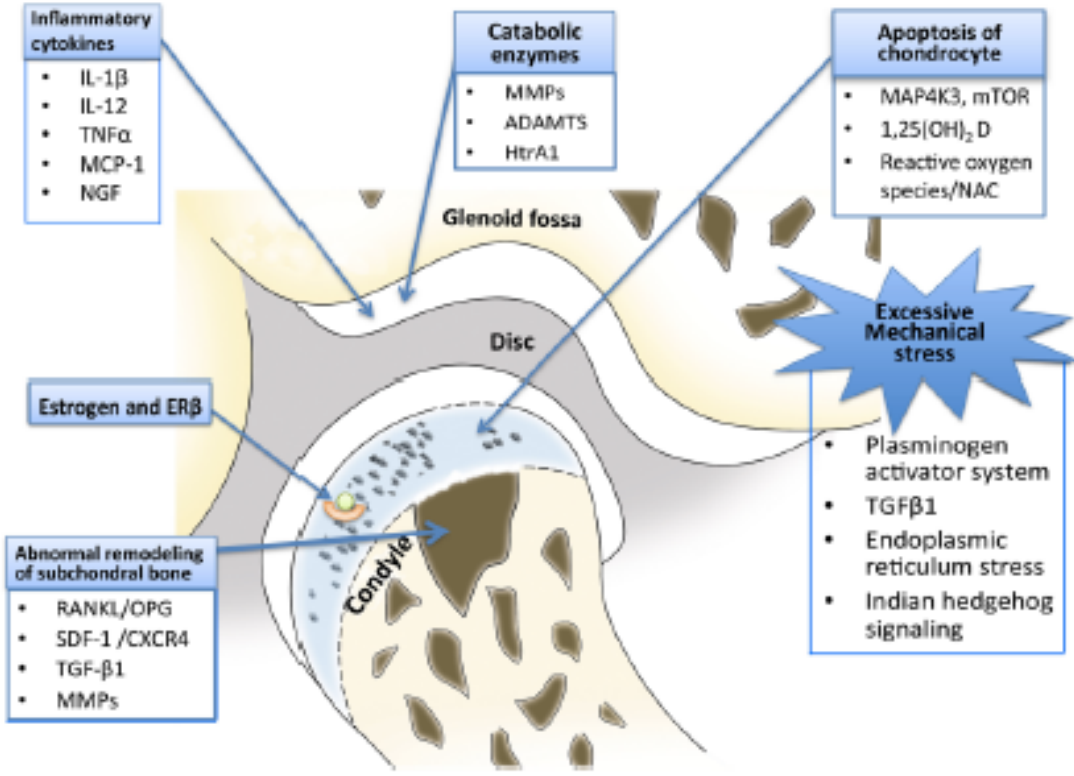
Temporomandibular eklem osteoartriti sınıflaması için bulgular değerlendirildiğinde eklem kıkırdağının dejenerasyon safhası ve sinoviyal inflamasyon derecesi önem kazanır (11). TME kıkırdak dejenerasyonu dört safhada incelenebilir (54).

*Başlangıç onarım safhası:* OA'nın ilk safhasında kondrositlerden kaynaklanan ekstraselüler matrikste yapım ve yıkım dengesizliği görülmektedir. Büyüme faktörleri ve metabolik aktivite artmıştır. Kondrositlerdeki DNA sentezi ve ekstraselüler matriks sentezi belirgin şekilde artmıştır.

*Erken safha:* OA'nın ikinci safhasında ekstraselüler matriks sentezi artmaktadır ancak proteaz aktivitesindeki aşırı artışa bağlı bozulma görülmektedir (Resim 1). Düzensiz eklem yüzeyine sebep olan kırık dokuda şişme ve kırık kaybı oluşmaktadır (54). Şişmiş kırık alanlarında artmış metabolik aktivite ile karakterize kondrosit kümeleri görülmektedir. Kondrosit kümelerinin görülmesinin ardından bütün hücre katmanlarında kondrosit ve kırık nekrozu görülmektedir. Erken safha devam ederken sinoviyal sıvı analizleri arşidonik asit, IL-1, IL-6, TNF ve çeşitli proteazlardan oluşan metabolik ürünleri göstermektedir (11). Artroskopik muayenede şişme, yumuşama ve fibrilasyonlar görülmektedir. Bu safhada sık görülen klinik şikayetler ağrı ve hareket kısıtlılığıdır.

*Orta safha:* OA'nın üçüncü safhasında doku yıkımı doku sentezinden fazla olduğundan artıklar kırık kaybı devam etmektedir. Bu safhanın histolojik değerlendirmeleri; incelmeyi, vertikal ayrılmayı, kırık fibrilasyonunu ve kondrosit kümelerinin nekroze olmaya devam edişini göstermektedir. Üçüncü safhada PG boyamasında kollajen ağları daha dağınık hale gelmektedir. Ayrıca sitokin ve fibronektin gibi biyokimyasal belirteçler eklem boşluğunu doldurmaya devam etmektedir. Artroskopik olarak incelenen eklem bölgesinde eklem kırığı incelmeye devam etmektedir ve deplase eklem diski bu safha ile daha belirgin hale gelmektedir. Hastalarda ağrı ve çene eklemine hareket kısıtlılığı devam ederken ve kliking şikayetinin de semptomlara eklendiği görülebilmektedir.

*Geç safha:* OA'nın dördüncü safhasında artan eklem içi bozulmaları doku sentezinden fazla olmaktadır ya da bu bozulmalar, doku sentezindeki azalmaya eşit olmaktadır (11). Histolojik olarak bakıldığında bölgede fibrilasyon yaygınlaşmıştır. Kemik doku erozyona uğramaktadır ve PG boyaması neredeyse kaybolmuştur (11). Ayrıca dördüncü safhada ekstraselüler matriks sentezi de azalmıştır. Artroskopik değerlendirmede şiddetli fibrilasyon, eksoz kemik, disk deplasmanı ve olası anjiyogenezis gözlenmektedir (54). Eklem içi katabolik faaliyetlerin artmasıyla oluşan serbest radikal akümüasyonu ve bunun sonucu olan oksidatif stresin TME-OA üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (55). TME-OA patogenezinin sistematığı Resim 1'de gösterilmektedir.



**Resim 1.** TME-OA patogenezinin sistematik olarak gösterimi (Wang'dan, 1).

#### 4.5.1.1. Sinoviyal İnflamasyon

Temporomandibular eklem osteoartritinin ilerlemesinde inflamasyonun önemi dikkat çekicidir. OA kırırdağından ayrılan ürünler sinoviyal sıvı içine salınmaktadır. Bu salınım büyük miktarlarda olursa sinoviyal membran tarafından absorbe edilememektedir ve temizlenememektedir. Doku cevabı olarak inflamasyon mediyatörleri ortama salınmaktadır ve sinovitis oluşmaktadır (11). Hastalığın ilerlemesiyle kondrositler ve sinoviyal hücreler dejenere olarak ortama proteolitik enzimler ve kollajenolitik enzimler salınmaktadır bu durum daha fazla bozulmayı beraberinde getirmektedir (11).

##### İnflamatuar sitokinler:

Dejeneratif TME rahatsızlıklarının inflamasyonunda salınan IL-1 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflammatuar sitokinler PG ve kollajen sentezini azaltır ve bozulmalarını hızlandırır (11). TME-OA'da sinoviyal sıvıda IL-1 ve TNF dışında nitrik oksit (NO), lökotrien B4 ve prostaglandin E2 (PGE2) gibi inflammatuar mediyatörler de bulunur. TME-OA

patogenezinde yükselmiş IL-1 ve NO seviyeleri, matriks metalloproteinazların (MMP) indüksiyonu da dahil olmak üzere katabolik durumu gösterir ve stromal dokunun tahrip olmasına neden olur (11, 56).

#### Matriks Metalloproteinazlar:

Matriks metalloproteinazlar (MMP), ECM'nin proteolitik yıkımından sorumlu yapısal enzimlerdir. Genel olarak üç sınıfa ayrılırlar: kollajenazlar, jelatinazlar ve stromelisinler. Substratları; Tip IV kollajen veya denature kollajen (jelatin) gibi fibriller kollajeni ve diğer ECM elemanlarını (PG, laminin, fibronektin, kazein) içerir. TME-OA'da sinoviyal sıvıda tespit edilen MMP varlığı, dejeneratif değişikliklerin varlığını doğrular niteliktedir (11,56).

Matriks metalloproteinazlar sitokinler ya da mekanik stres tarafından uyarıldıktan sonra kondrositler, sinoviositler ve osteoblastlar tarafından sentezlenebilirler. OA kondrositleri çeşitli matriks bozucu enzimler üretirler. Bunlar arasında MMP-1, MMP-3, MMP-9, MMP-13, MMP-14 yer alır (57).

Tip II kollajen, eklem kıkırdağının major yapısal bileşenidir. Tip II kollajendeki değişiklikler esas olarak MMP-1 ve MMP-13'e bağlıdır. Ek olarak OA sinoviyal dokusunda MMP-1 de bulunabilir. İki MMP arasında OA'da dikkatler MMP-13'e yoğunlaşmıştır, çünkü Tip II kollajeni bölmede etkilidir (58). OA'da MMP-3 ve MMP-9, sinoviyal sıvıda ve plazmada artar.

#### **4.5.1.2. Kondrosit Apoptozu**

Osteoartritik kıkırdak dejenerasyonunun en önemli özelliklerinden biri kondrosit apoptozudur. Kıkırdak dejenerasyonunun en önemli erken dönem karakteristik özelliğinin kondrosit apoptozu olduğu ve apoptotik kondrosit hücrelerinden salgılanan sitokinlerin subkondral kemik destrüksiyonuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (2,59).

Kondrosit apoptozunun uyarılması birkaç stimulusa bağlı gerçekleşebilir. Bunlar arasında NO, mekanik stres, intraselüler ya da periselüler matriks dengesizliği, ECM dejenerasyonuna bağlı yer değiştirme sayılabilir.

#### 4.5.2. Deneysel Osteoartrit Mekanizması

Hastalardan kıkırdak biyopsilerinin alınması etik olmadığı için eklem biyolojisi, dejenerasyonu ve tamiri ile ilgili süreçleri anlamamız ve tedavi yöntemleri geliştirmemiz açısından eklem kıkırdağı ile ilgili hayvan modelleri geliştirilmiştir.

Osteoartrit hayvan modelleri kıkırdak dejenerasyonunun patogenezisi ve potansiyel tedavi türlerinin çalışılması amacı ile sıklıkla kullanılmaktadır. Deneysel modellerde hastalığın başladığı zaman bilinir, ciddiyeti ve seyri izlenebilirken insanlarda bunları belirlemek güçtür. Hayvanlar üzerinde tedavi edici ajanların etkileri ve yan etkileri daha kolay araştırılabilmektedir (58,60-62).

Uygulanan deneysel OA modelleri; cerrahi, mekanik, spontan gerçekleşen ve ilaçla oluşturulan OA modelleri olarak sınıflandırılabilir (2,14,63,64).

İlaçla oluşturulan OA modeli çeşitli avantajları sebebiyle bir çok çalışmada tercih edilmektedir. Kolay uygulanabilir, tekrar edilebilir, diğer yöntemlere kıyasla daha kısa zamanda model oluşturulabilir, patolojik bulgular gerçeğe yakındır (2).

Eklemde kimyasal dejenerasyonla deneysel OA modeli oluşturmak için Complete Freud's Adjuvan (CFA), sodyum mono iyodoasetat (MIA), karragenan, zimosan, papain gibi antijenik özelliği olan ilaçların eklem içine enjeksiyonu yapılmaktadır (2,65-67).

Complete Freud's Adjuvan enjeksiyonu, literatürde çok kez başarılı şekilde uygulanmış ve etkinliği kanıtlanmış bir yöntemdir (68-73). CFA mineral yağda emülsiyon olarak hazırlanmış bir antijen çözeltisidir. İnaktif ve kurutulmuş mycobacterium tuberculosis içerir. CFA'nın TME'deki inflamasyonu ve akut fazı indüklediği birçok çalışmada gösterilmiştir (68-70,73).

Complete Freud's Adjuvan enjeksiyonu hızlı çalışır, kolay uygulanabilir ve tekrar edilebilir bir yöntemdir. TME'deki kıkırdak dejenerasyonu, subkondral kemik iliği lezyonları gibi morfolojik değişiklikler CFA enjeksiyonundan bir hafta sonra belirgin hale gelmektedir (68,69,71,72). Çalışmalar; sıçanlarda TME'ye yapılan tek doz intraartiküler CFA enjeksiyonu sonrası, uzamış inflamatuvar cevabın 6 haftadan fazla sürdüğünü göstermiştir (68,69,73).



### **4.5.3. Temporomandibular Eklem Osteoartritinin Tedavisi**

Osteoartrit hastalarında uygulanan tedavilere rağmen hastalık ilerlemeye devam etmektedir. TME-OA patogenezi hala tam olarak anlaşılamamıştır ve avasküler TME kıkırdağının iyileşme potansiyeli düşüktür (21).

Temporomandibular eklem osteoartriti tedavisinin amaçları eklemdeki ağrı ve şişliği azaltmak, çiğneme kaslarındaki ağrı ve spazmı ortadan kaldırmak, TME'nin yeniden fonksiyon görmesini sağlamak ve hastalığın ilerlemesini durdurmaktır (1,2,7).

Temporomandibular eklem osteoartriti için birçok tedavi modeli önerilmektedir. Bunlar non-invaziv, minimal invaziv ve invaziv olmak üzere üç başlık altında incelenebilir.(7,8,9)

#### **4.5.3.1. Non-invaziv Tedavi Yaklaşımı**

Osteoartrit hastalarına ilk yaklaşım aşırı ya da tekrarlayan travmayı engellemek olmalıdır (11).

Non-invaziv tedavi yaklaşımları, düzenli takip, hasta eğitimi, masaj, fiziksel egzersiler, termal uygulama, elektriksel stimulus uygulamaları, ultrason, okluzal splint kullanımı ve farmakolojik tedavi olarak sınıflandırılabilir (11).

Okluzal splint kullanımı ve okluzal terapiler eklemdeki aşırı yüklemeyi ortadan kaldırıp kas aktivitesini azaltarak OA'ya bağlı inflamasyonu azaltabilir. Splint tedavisi eklemdeki dejeneratif değişikliklerden kaynaklı ağrıyı azaltabilir ve semptomları hafifletebilir (11).

Farmakolojik tedavide non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), kortikosteoidler, analjezikler, kas gevşeticiler, antidepresanlar ve anksiyolitikler tercih edilebilir (11). NSAİİ ağrı ve inflamasyonu azaltmaktaki çift etkisi nedeni ile TME-OA hastalarının tedavisinde oldukça faydalıdır. NSAİİ'lerin terapötik etkisi COX-2 aktivitesini inhibe ederek mandibular kondilde sitokinin neden olduğu hasarı azaltmaktır. İnflamatuvar prosesi azaltması ile birlikte otomatik olarak dejeneratif süreç de yavaşlamaktadır (2,8). Bununla birlikte farmakolojik tedavi TME-OA'nın progresif

ve multifaktöryel doğası karşısında; ağrıyı azaltma, uzun süreli kullanımda güvenilirlik ve tolere edilebilme konusunda yetersiz kalabilir (11).

Son yıllarda düşük doz lazer tedavisi (DDLDT) uygulamaları OA gibi dejeneratif eklem rahatsızlıklarında; analjezi, antiinflamatuvar ve biyositumulasyon etkilerinden faydalanma amacıyla kullanılmaktadır (67,74).

#### **4.5.3.2. Minimal İnvaziv Tedavi Yaklaşımı**

Artrosentez ve artroskopi TME-OA tedavisinde uzun süredir kullanılmaktadır. Artroskopi artritlik proseten etkilenmiş TME’de erken teşhis ve tedavi amaçlı kullanılabilir (21). Artrosentez ise inflamatuvar ve ağrı mediatörlerini ortamdaki uzaklaştırarak ağrıyı azaltmak ve serbest partikülleri uzaklaştırmak amacı ile uygulanmaktadır (11).

Minimal invaziv yaklaşım olarak; HA, glukozamin, statin ve kortikosteroid gibi ajanların superior TME boşluğuna intraartiküler enjeksiyonu savunulmuştur (12-19). Bununla birlikte, TME’ye intraartiküler tek doz kortikosteroid enjeksiyonundan sonra histopatolojik olarak osteoklastik aktivitede artış ve TME kondilinde destrüksiyon gözlenmiştir (75). TME’ye intraartiküler kortikosteroid enjeksiyonundan sonra hastalarda eklem hasarını bildiren vaka raporları da mevcuttur (76).

Son yıllarda üzerinde çalışmalar yapılan trombositten zengin plazmanın (TZP) TME içine enjeksiyonunun NF-KB aktivasyonunu engelleyerek IL-1 $\beta$ ’nin indüklediği inflamatuvar süreci inhibe ettiği ve böylece kıkırdak dejenerasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (77).

#### **4.5.3.3. Cerrahi Tedavi Yaklaşımı**

Temporomandibular eklemde ciddi patoloji, inatçı ağrı ve disfonksiyona sahip hastalarda cerrahi tedavi yaklaşımı düşünülebilir (7).

İleri düzey TME-OA’da artroplastisi, otojen hemiartroplastisi, alloplastik hemiartroplastisi, osteotomi ve protetik total eklem replasmanını içeren prosedürler uygulanabilmektedir (9,11).

Uygulanacak tedavi prosedürünü seçerken; cerrahi riskler ile ağrı azalması, TME fonksiyonunda artış gibi elde edilebilecek faydalar karşılaştırılarak karar verilmektedir (11).

#### 4.6. Resveratrol

Resveratrol (trans-3-4-5-trihidroksitilben) , üzüm kabuğu, kırmızı şarap, yer fıstığı ve Polygonum cuspidatum bitkisinin kök ekstresinde yoğun konsantrasyonda bulunan, antifungal özelliği bilinen, dayanıklılık mekanizmasının oluşturulması için bitki tarafından üretilen polifenolik doğal bir fitoaleksindir (22,23). Ayrıca dut, yaban mersini, böğürtlen gibi birçok besin maddesinde de değişik konsantrasyonlarda resveratrol mevcuttur.

Epidemiyolojik çalışmalarda, kırmızı şarap tüketiminin çok sayıda koruyucu etkisinin olduğu ve resveratrolün bu yararlı etkilerden sorumlu olduğu gösterilmiştir (22,23). Özellikle Güney Fransa'da koroner kalp hastalıklarından kaynaklı ölüm oranının düşük olmasıyla ilişkilendirilen bu fenomen 'Fransız paradoksu' olarak tanımlanmıştır (22,23). Resveratrol konsantrasyonu kırmızı şaraplarda beyaz şaraplara göre oldukça yüksektir. Bu durum her iki şarabın üretim şekillerindeki farklarla açıklanabilir. Resveratrolün yoğun konsantrasyonda bulunduğu üzüm kabuğu, beyaz şarap üretimi sırasında soyulmaktadır (78).

Resveratrol oral yoldan alındıktan kısa bir süre sonra bağırsaklardan emilir ve bir saat gibi kısa bir sürede kana geçer. Karaciğer, böbrek, kalp ve beyin başta olmak üzere vücuda dağılır. Biyotransformasyonu esas olarak karaciğer mikrozomlarında ve az miktarda da bağırsaklarda olur. Oksidoredüksiyon reaksiyonlarına uğrar ve idrarla atılır (79). Oral resveratrol alımından sonra yarılanma ömrünün 9.2 saat olduğu bulunmuş ve resveratrolün oral biyoyararlanımının düşük olduğu tespit edilmiştir (80).

Resveratrol biyolojik olarak oldukça geniş bir aktiviteye sahiptir. Resveratrolün kardiyoprotektif, nöroprotektif, antioksidatif, antiapoptotik, antiinflamatuvar, analjezik, osteojenik, immun düzenleyici ve antikanser etkileri olduğu gösterilmiştir (22-26,79).

#### 4.6.1. Resveratrol ve Antiinflamatuvar Etki

Siklooksijenaz (COX) enzim inhibisyonu, indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) aracılığı ile gerçekleşen NO oluşumu ve salınımının engellenmesi antiinflamatuvar özellikte etkilidir (81).

NF-KB aktivasyonu, proinflamatuvar sitokin üretiminde önemli bir role sahiptir. NF-KB; TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8 gibi sitokinlerin salınımına aracılık eder ve bu sitokinler iNOS ve COX-2 gibi inflamatuvar mediatörlerin salınımını başlatır (81).

Resveratrolün NF-KB aktivasyonunu potansiyel olarak inhibe ettiği ve böylece NF-KB'ye bağlı sitokinlerin salınımını durdurduğu gösterilmiştir (82). Resveratrol NF-KB üzerindeki etkisini; endojen bir antiinflamatuvar ve anti-TNF- $\alpha$  molekülü olan sirtulin-1 (SIRT-1) proteinini aktive ederek gösterir (83). SIRT-1 ayrıca iNOS'u aktive eden hipoksiyle uyarılabilir faktör-2 *Alfa* (HIF-2 $\alpha$ ) üzerinde de etkilidir (34). Resveratrol hem COX-2'yi direkt inhibe ederek hem de reaktif oksijen türevlerini inhibe ederek antiinflamatuvar etki göstermektedir. Resveratrol OA patogenezinde önemli rol oynayan COX-2, IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi katabolizma ile ilgili yapıları (NF-KB aktivasyonunu engelleyerek) inhibe eder (29-31).

#### 4.6.2. Resveratrol ve Kemik Metabolizması

Resveratrol anti-inflamatuvar özelliği sayesinde, inflamatuvar mediatörlerin aşırı salgılanmasına bağlı osteoklast aktivitesinin artmasıyla oluşan kemik rezorpsiyonunu engeller (84). Resveratrol, osteoklast diferensiyasyonu ve kemik rezorpsiyonuna neden olan RANKL'ı baskılar (85). Resveratrolün OA'da subkondral kemik yapısını koruduğu bildirilmiştir (33,34).

Resveratrolün, kemik morfogenetik proteinlerini (BMP) ve osteopontin düzeyini yükselterek; kemikleşme miktarını artırdığı gösterilmiştir (86). Sıçanlara maksiller ekspansiyon uygulanan bir çalışmada, intermaksiller sutura resveratrol enjeksiyonu yapılmıştır. Ekspansiyonun erken safhalarında enjekte edilen resveratrolün kemik formasyonunu uyardığı, kemik alanı ve osteoblast sayısını arttırdığı, böylece sıçanlarda retansiyon periyodunu kısalttığı rapor edilmiştir (87).

#### 4.6.3. Resveratrol ve Antiapoptotik Etki

Resveratrolün insan hücre kültüründe hücre büyümesi ve apoptoz gibi çoklu yolları modüle ettiği tespit edilmiştir (88). Ayrıca resveratrolün nöronlarda radyasyona bağlı oluşan oksidatif stres ve apoptoz artışını, SIRT-1 proteini aktivasyonu yolu ile azalttığı gösterilmiştir (89). Resveratrolün SIRT-1 proteinini aktive etmesi; antiinflamatuvar, antiapoptotik ve antioksidatif özelliklerinin göstergesidir (34,89). Ayrıca resveratrol insan kondrositlerinde antiinflamatuvar ve antiapoptotik aktiviteleri sayesinde kondroprotektif etki göstermektedir (27,28).

#### 4.7. Resveratrol ve Osteoartrit Patogenezi

Osteoartritin progresif ve multifaktöryel doğası karşısında, minimal invaziv girişimlerde kullanılmak üzere hem inflamasyonu azaltacak hem kemik gelişimini olumlu yönde etkileyecek hem de biyoyararlanımı yüksek bir tedavi edici ajana ihtiyaç duyulmaktadır.

Doğal bir fitoaleksinin olan resveratrolün (trans-3-4-5-trihidroksitilben) OA patogenezi içinde önemli rol oynayan COX-2, IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi katabolizma ile ilgili yapıları (NF- $\kappa$ B aktivasyonunu engelleyerek) inhibe ettiği gösterilmiştir. (29-31)

Oral uygulanan resveratrolün OA kıkırdağında sinoviyal dokulardaki COX-2 protein seviyesini ve kandaki PGE2 serum konsantrasyon düzeyini azalttığı rapor edilmiştir (90). Ek olarak, adjuvan indüklü artrit oluşturulan sıçanlarda iki hafta boyunca oral resveratrol (10 veya 50mg/kg) alımıyla, artrit etkileri geri çevirilmiştir. (91).

İntraartiküler resveratrol enjeksiyonunun OA kıkırdağındaki iNOS-pozitif kondrosit oranını anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir (34). İntraartiküler resveratrol enjeksiyonu OA'da kıkırdak destrüksiyonundan sorumlu olan MMP-13 ve iNOS oranını normal değerlere yakın hale getirmiştir (34). Resveratrolün OA'da kalsifiye kıkırdak kalınlığını arttırmakla birlikte subkondral kemik yapısını da koruduğu bildirilmiştir (34). Diz eklemlerinde inflamatuvar artrit oluşturulmuş tavşanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada, intraartiküler resveratrol uygulamasının hem kıkırdak destrüksiyonunu engellediği hem de subkondral kemik yapısını koruduğu

gösterilmiştir (33). Oral biyoyararlanımı düşük bulunan resveratrolün (80), intraartiküler uygulanmasının biyoyararlanımı arttıracığı düşünülmüştür.

Bir çok araştırmada TME üzerinde deneysel OA oluşturulmuş ve çeşitli tedavi edici ajanların etkileri incelenmiştir ama TME'ye intraartiküler uygulanan resveratrolün TME üzerindeki etkisi incelenmemiştir. Bu çalışmada; birçok araştırmaya konu olan resveratrolün TME-OA kıkırdağı ve sinoviyum üzerindeki iyileşmeye etkisinin histolojik olarak belirlenmesi ile literatüre katkı sağlanması hedeflenmektedir.



## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun KÜ 2017/14 karar numaralı onayını takiben başlandı (Ek 1). Bu tez çalışması, Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklendi (2017/085) ve Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nde yürütüldü.

### 5.1. Deney Hayvanları

*Güç Analizi:* Dört grup arasında TME düzeyleri bakımından büyük bir etki büyüklüğü beklentisinin ( $f=0,7$ ) anlamlı bulunması için gerekli minimum toplam örnek sayısı 28 olarak belirlendi ( $\alpha=0,05$ ,  $1-\beta=0,80$ ). Benzer çalışmalar ve oluşabilecek kayıplar dikkate alınarak bu sayının 40'a çıkartılmasına her gruba 10 örnek dahil edilmesine karar verildi. Hayvan sayısını azaltmak için kontrol grubundaki sıçanların çift taraflı TME'leri çalışmaya dahil edildi. Güç analizi Gpower 3.1.9.2 yazılımı kullanılarak yapıldı.

Çalışmamızda Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nden temin edilen 35 adet 250-300 gr ağırlığında Wistar albino ırkı erkek sıçan kullanıldı. Anestezinin komplikasyonları sebebiyle kontrol grubundan bir adet, artrit ve tedavi gruplarından ikişer adet olmak üzere toplam yedi adet hayvan ölümü sebebiyle çalışmadan çıkarıldı. Çalışma 28 adet hayvanda toplam 32 örnek incelenerek yapıldı. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda, sıcaklığı yaklaşık 22-24° C olan bir odada, uygun kafesler içerisinde beşerli gruplar halinde barındırılarak, serbestçe beslenip su içmeleri sağlandı. Tüm hayvanlar deney süresi boyunca normal pellet yem ve su ile beslendi.

### 5.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Sıçanlar bir adet kontrol grubu ve üç adet çalışma grubu olmak üzere rastgele seçilerek toplam dört gruba ayrıldı ve serbestçe beslenip su içmeleri sağlanacak şekilde kafeslendi.

1. Grup: Kontrol grubu (n=4): Deney grupları ile eş zamanlı ve eşit miktarda %0,9 izotonik NaCl enjeksiyonu yapıldı. Hayvanların çift taraflı TME'leri çalışmaya dahil edildi.

2. Grup: TME artrit (CFA) grubu (n=8): Bu gruptaki hayvanların sağ TME'lerine unilateal olarak tek doz CFA enjeksiyonu yapıldı [50 µl Complete Freund's Adjuvant (5881; Sigma-Aldrich, USA), dilue 1:1 salin]. Bu gruptaki hayvanlara da resveratrolle aynı anda eşit miktarda NaCl enjeksiyonu yapıldı.

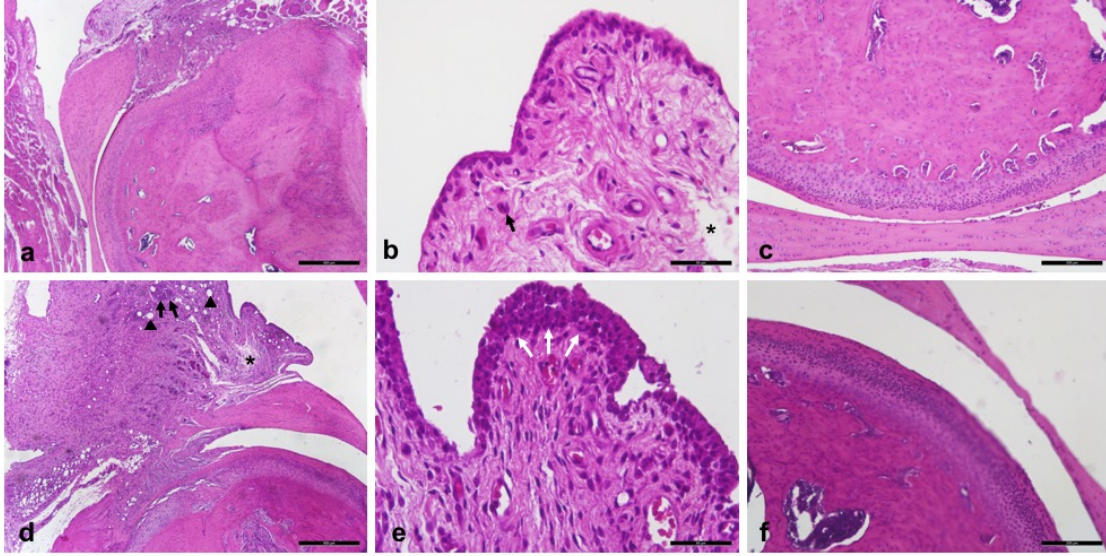
3. Grup: CFA + düşük doz intraartiküler resveratrol [RES(D)] grubu (n=8): Bu gruptaki hayvanların sağ TME'lerine unilateal olarak tek doz CFA uygulamasından bir hafta sonra haftalık olarak toplam üç doz inraartiküler düşük doz resveratrol (100 µg /80 µl ) enjeksiyonu yapıldı.

4. Grup: CFA + yüksek doz intraartiküler resveratrol [RES(Y)] grubu (n=8): Bu gruptaki hayvanların sağ TME'lerine unilateal olarak tek doz CFA uygulamasından bir hafta sonra haftalık olarak toplam üç doz inraartiküler yüksek doz resveratrol (1mg/80 µl) enjeksiyonu yapıldı.

### 5.3. Deneysel Osteoartrit Modelinin Doğrulanması

Çalışmaya başlanmadan önce deneysel artrit modelinin doğrulanması için iki adet sıçanda ön çalışma yapıldı. CFA ile sıçanların sağ TME'lerinde deneysel OA oluşturuldu ve TME'deki ostaoartritik değişiklikler bu evrede belirginleştiği (68,69,71,72) için deneysel OA oluşturulduktan bir hafta sonra hayvanlar sakrifiye edildi. Hayvanların kontralateral TME'leri kontrol grubu olarak kullanıldı. Örnekler histopatolojik olarak değerlendirildiğinde; deneysel OA oluşturulmuş eklemlerde artmış lökositik infiltrasyon, sinoviyal membranda hiperplazi, kan damarlarında vazodilatasyon, artmış ödem, vaskülerizasyon artışı gibi inflamasyon bulguları ve disk yapısında deformasyon gözlendi (Resim 2.d,e,f). Kontrol grubunda düzgün disk ve kondil yapısı ile beraber bütünlüğünü koruyan membran epiteli ve organize dizilmiş membran epitel hücreleri görüldü (Resim 2.a,b,c). Bununla birlikte kontralateral eklemlerden oluşan kontrol grubunda çok az da olsa inflamasyona rastlandı.



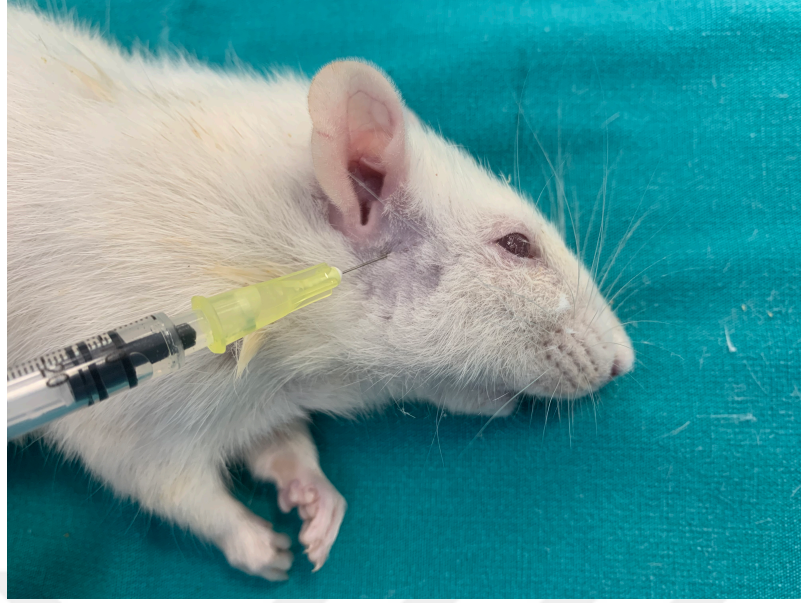


**Resim 2.** Kontrol ve CFA gruplarına ait ön çalışma fotomikrografları (H&E boyama).  
**a,b,c:** Kontrol grubu kesitleri. Kontrol grubunda sağlıklı kondil (a), sinoviyal membran (b) ve disk (c) morfolojisiyle birlikte hafif ödem (yıldız) ve çok az miktarda inflamasyon (siyah ok) görülmektedir.  
**d,e,f:** CFA grubu kesitleri. CFA grubunda subsinoviyal alanda (d) yoğun bazofilik boyanan şiddetli inflamasyon alanlarıyla birlikte (siyah ok) ödematöz bölgeler (yıldız) ve dilate olmuş kan damarları (siyah ok başı) dikkati çekmektedir. Sinoviyal membranda hiperplazi (e) (beyaz ok) ve disk yapısında deformasyon (f) görülmektedir.

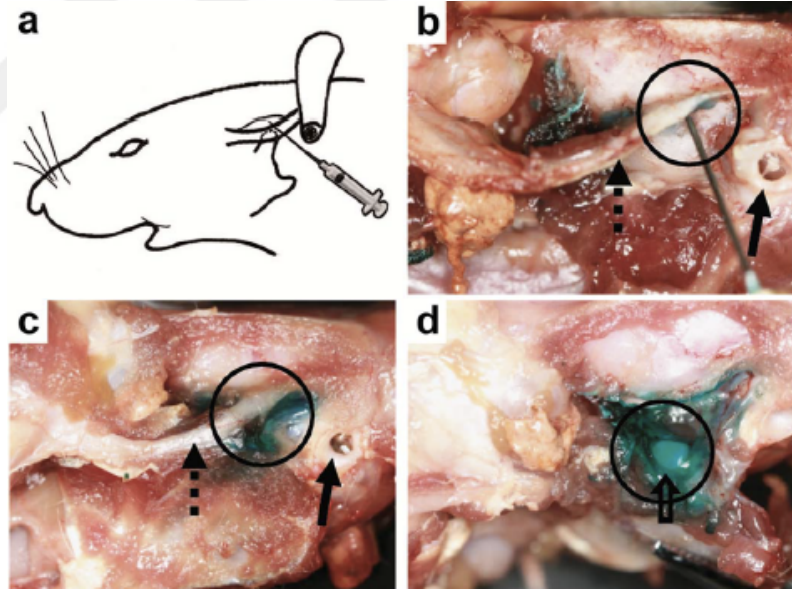
#### 5.4. Deney Prosedürü

Sıçanlar intramüsküler Xylazin (10mg/kg) ve Ketamin (90mg/kg) enjeksiyonu ile genel anestezi altına alındılar. Anesteziyi takiben TME bölgesinin cildi traşlandı. Aseptik ve antiseptik şartların sağlanmasından sonra, TME-OA oluşturmak için 1 ml'lik plastik şırıngaya sahip 30 gauge iğne yardımı ile çalışma grubundaki hayvanlara unilateal olarak sağ TME içine tek doz CFA enjeksiyonu yapıldı [50 µl Complete Freund's Adjuvant (5881; Sigma-Aldrich, USA), dilue 1:1 salin].

Complete Freud's Adjuvan doz ayarlaması ve intraartiküler TME enjeksiyonları Spears ve ark.'nın (68) tarif ettiği şekilde yapıldı. Önce kulağın önündeki temporal kemiğin zigomatik arkı ve mandibular kondil palpe edildi. Steril 30 gauge iğne, zigomatik arkın posteroinferior kenarına (eklem fossasının çatısı) konumlandırıldı ve mandibular kondilin posterolateral kenarını geçip superior eklem boşluğuna ulaşmak için anteromedial yönde ilerletildi (Resim 3). Enjeksiyon, TME'nin superior eklem boşluğuna yapıldı (Resim 4).



**Resim 3.** İntraartiküler CFA enjeksiyonu.



**Resim 4.** Sıçan TME'sinde üst eklem boşluğundaki enjeksiyon sahasının gösterimi (Wang'dan 2). İğne giriş yeri eksternal akustik meatusun önünde (b), zigoma kökünün sağ alt tarafında (kesikli ok), üst eklem boşluğunda (siyah daire) konumlanmıştır (c). 50 µl boyar madde enjekte edilmiştir (d). Kapsül açıldığında boyar maddenin üst eklem boşluğunda sınırlı kaldığı görülmektedir (disk ve kondil: içi boş ok).

Hayvanların çiğneme fonksiyonlarını baskılamamak için tüm enjeksiyonlar sağ TME'ye unilateral olarak yapıldı. Hayvanlar enjeksiyon işlemini takiben anesteziden ayılana kadar takip altında tutuldular ve tekrar kafeslerine yerleştirildiler. Hayvanların iyileşmeleri takip edildi. Diğer hayvanların iyileşmelerinde herhangi bir problem görülmedi.

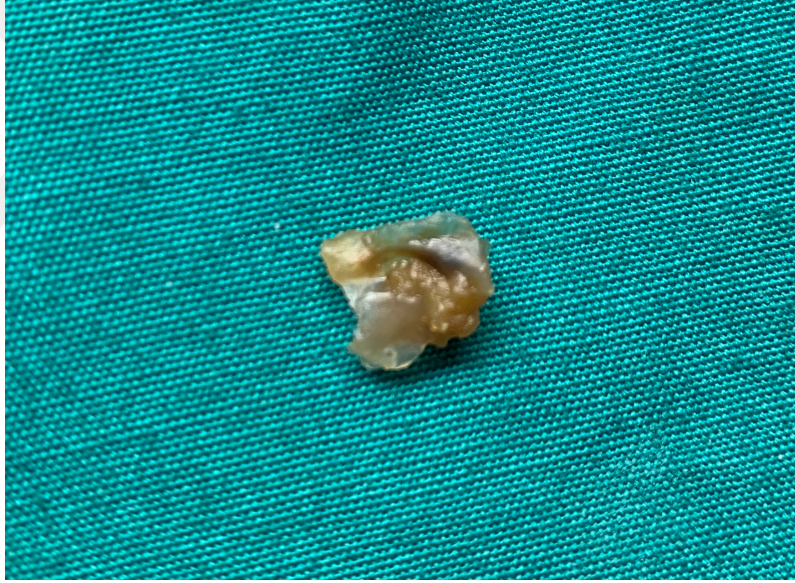
Çalışmalar, TME'deki kırıldak dejenerasyonu, subkondral kemik iliği lezyonları gibi morfolojik değişikliklerin ve inflamatuvar sitokin ekspresyonunun CFA enjeksiyonundan bir hafta sonra belirgin hale geldiğini göstermektedir (68,69,70,72). Bu nedenle, bu çalışmada da CFA uygulamasından sonra bir hafta (yedi gün) beklendi ve ardından resveratrol enjeksiyonuna başlandı.

Resveratrol (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) dimetilsulfoksit (DMSO) içinde çözüldü ve üreticinin belirlediği protokole göre hazırlandı. CFA enjeksiyonu sonrası yedinci, 14. ve 21. günlerde; üçüncü gruptaki hayvanlara intraartiküler düşük doz resveratrol (100 µg /80 µl), dördüncü gruptaki hayvanlara intraartiküler yüksek doz resveratrol (1mg/80 µl) uygulandı. İğne penetrasyonundan kaynaklı inflamasyon bulgusunu standardize etmek için kontrol ve artrit grubundaki deney hayvanlarına eş zamanlı olarak aynı miktarda intraartiküler %0,9 izotonik NaCl enjeksiyonu yapıldı.

Her gruptaki tüm hayvanlar son enjeksiyondan bir hafta sonra (28. günde) veteriner kontrolünde; yüksek doz intraperitoneal Xylazin (30 mg/kg) ve Ketamin (250 mg/kg) anestezisi ile sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen sıçanların TME'leri diseke edildi (Resim 5). Çevreleyen yumuşak dokuya zarar vermeden, tur ile irrigasyon altında kemik frezlendi ve eklem bölgesi, temporal kemik ve mandibulanın kondiler prosesini içerecek şekilde en blok eksize edildi (Resim 6). Örnekler %10'luk formaldehit solüsyonuna yerleştirilerek fikse edildi. Çıkarılan örnekler en az iki gün formaldehit solüsyonunda bekletildikten sonra histolojik inceleme için ilgili birime gönderildi.



**Resim 5.** Sıçan TME'sinin diseksiyonu.



**Resim 6.** Sıçan TME'sinin en blok eksizyonu.

### **5.5. Histopatolojik Değerlendirme**

Sakrifiye edilen sıçanların TME'leri nazikçe çıkarıldıktan sonra %10'luk nötral tamponlanmış formalin solüsyonu içerisine koyuldu ve 48 saat boyunca immersiyon yöntemiyle fiksasyonu sağlandı. Kısa bir yıkama işleminin ardından dokular, Thermo Scientific Shandon TBD-2 Decalcifier solüsyonu içerisinde dekalsifiye olana kadar bekletildi. Dekalsifiye olan dokular yıkama işleminin ardından kademeli olarak artan etil alkol serilerinden (sırasıyla %70, %90, %96, %100) (Merck) geçirilerek dokuların

dehidrasyon işlemi gerçekleştirildi. 30 dk toluen (Merck) ile şeffaflandırma işlemini takiben dokular 58°C'lik etüvde 30 dk boyunca 1:1 oranında hazırlanmış toluen-parafin karışımında bekletildi. Ardından saf parafin içerisinde 2 saat kadar tutulan dokular, oda sıcaklığında parafin bloklara gömüldü. George ve ark.'ın (92) çalışmalarında belirttiği gibi Parafin bloklardan mikrotom (Leica SM 2000R) ile 200 µm aralıklarla 4 µm kalınlığında kesitler alındı.

Doku takibi yapılan TME'lerde, mandibular kondilin lateral yüzeyine paralel olarak alınan 4 µm kalınlığındaki midsagittal kesitlerde mandibular kondil, disk, sinoviyal membran ve subsinoviyal doku-retrodiskal bölge histopatolojik olarak incelendi. Kondiler kıkırdak ve disk kalınlığı Leica LASX (Leica LAS Version 4.6.1) programı ile histomorfometrik olarak analiz edildi. Kıkırdak kalınlığı ölçülürken kondilin anteroposterior olarak merkezi kısmı belirlendi ve bu bölgeden ölçüm gerçekleştirildi. Artiküler diskte ise anterior, orta hat ve posterior bölgelerden ölçüm alındı. Retrodiskal bölgede inflamasyon derecesi kalitatif olarak değerlendirildi ve bu yöntemde skorlama Kristensen ve ark.'nın (94) sistemi esas alınarak şu şekilde gerçekleştirildi: 0- inflamatuvar hücre yok, 1- birkaç dağılmış hücre, 2- inflamasyon belirgin olarak var, 3- bantlar halinde düzenlenmiş birçok inflamatuvar hücre, ve 4- çok fazla miktarda inflamatuvar hücre varlığı.

Alınan kesitlere, morfolojik incelemeler (kondil kıkırdak kalınlığı, disk yapısı, sinoviyum/sinoviyal membran) için Hematoksilen & Eozin (H&E); subkondral kemiği incelemek için Masson trikrom (MT) boyamaları yapılırken; immünohistokimyasal inceleme için MMP-13 ekspresyonlarına bakıldı. CFA'nın kondiler kıkırdakta oluşturduğu hasarda apoptoz/hücre ölümünü araştırmak ve kondil kıkırdağındaki kondrosit rezervini tanımlamak için 4 µm kalınlığında alınan kesitlere TUNEL (S7101 ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, Merck Millipore) metodu uygulandı ve apoptotik kondrositler sayıldı. Boyanan tüm kesitler Leica DM 1000 model ışık mikroskobu ile incelendi.

Çalışmamızda kondiler kıkırdak dejenerasyonu, kıkırdak kalınlığında azalma, apoptotik kondrosit sayısındaki artış, disk yapısında bozulma, disk kalınlığında artış inflamatuvar hücre infiltrasyonu, retrodiskal dokularda vaskülerizasyon artışı, vazodilatasyon, sinoviyumda hiperplazi, subsinoviyal dokuda ödem ve ayrılma gibi

inflamasyon bulguları, subkondiler kemikte trabeküler kemik yapısındaki bozulmalar ve MMP-13 ekspresyonundaki artış TME-OA bulgusu olarak kabul edildi.

### **5.5.1. Hematoksilen&Eozin Boyaması**

58°C'lik etüvde deparafinize edilen kesitler toluen içerisinde alınarak parafinden iyice arındırıldı. Ardından, kademeli olarak azalan etil alkol serilerinden (%100, %96, %90, %70) geçirilen kesitler distile suya kadar indirgenerek rehidrasyon işlemi sağlandı. Mayer hematoksilen ile 5 dk boyanmanın ardından 2 kez distile su ile yıkanan kesitler 10-15 saniye bluing reagent ile inkübe edildi. 2 kez distile sudan geçirilen örnekler absolute etanole daldırıldı. Daha sonra 2-3 dk Eosin Y (modifiye alkolik) solüsyonunda inkübe edilen kesitler absolute alkolde yıkanarak dehidre edildi. Son olarak toluende yaklaşık 30 dk bekletilen dokular Entellan aracılığıyla lamel ile kapatıldı.

### **5.5.2. Masson Trikrom Boyaması**

H&E metodunda olduğu gibi distile suya indirgenen kesitler eşit hacimde Weigert A ve Weigert B karışımından oluşan solüsyonun içerisinde 5 dk inkübe edildikten sonra 2 dk çeşme suyu ile yıkandı. Distile sudan geçirilen kesitler asit fuksin solüsyonunda 15 dk bekletildikten sonra distile su ile yıkandı. Ardından kesitler fosfotungustik asit ile 15 dk diferensiyel edildi ve yıkama işlemi olmadan 5-10 dk süreyle Anilin blue solüsyonuna alındı. Distile su ile yıkamanın ardından asetik asit solüsyonunda 3-5 dk bekletilen kesitler hızlıca iki kez %96 alkolden ve ardından %100 alkolden geçirilerek dehidre edilen kesitler toluen içerisinde alındı. Son olarak entellan ile kapama işlemi gerçekleştirildi.

### 5.5.3. İmmünohistokimyasal boyama

#### 5.5.3.1. TUNEL İşaretlemesi

##### Terminal deoxynucleotide transferase dUTP Nick End Labeling (TUNEL)

Parafin bloklardan alınan 4 µm'lik kesitler 1 gece 56 °C'lik etüvde tutularak parafini giderildi ve ardından toluende 3x10 dk bekletilerek parafinden iyice arındırıldıktan sonra azalan alkol serilerinden (sırasıyla %100, %100, %96, %90, %70) geçirilip 5 dk PBS'de yıkandı. Pap-pen ile işaretlemenin ardından kesitlere 15 dk boyunca oda ısısında proteinaz K solüsyonu (Merck) uygulandı ve distile su ile yıkanan (2x2 dk) kesitler endojen peroksidazı bloklamak için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'de (Hydrogen peroxide block, Lab Vision Co.) 5 dk karanlıkta bekletildi. PBS (2x5 dk) ile çalkalandıktan sonra kesitlere 10 dakika oda ısısında equilibration buffer (dengeleme tamponu) uygulandı. Daha sonra kesitler 37 °C'de TdT (terminal deoksinükleotidil transferaz) enzimi ile 1 saat inkübe edildikten sonra PBS ile yıkandı (3x1 dk) ve ardından oda ısısında humidity chamber içerisinde 30 dk antidigoksijenin konjüгатı uygulandı. PBS ile yıkamanın ardından (4x2 dk) 7 dk DAB kromojen solüsyonu uygulaması yapıldı. Distile suya alınan kesitlere % 0.5 (w:v) metil green ile 10 dk oda sıcaklığında zıt boyama yapılmasının ardından kesitler dehidre edildi ve kapatma medyumunu ile kapatıldı. Leica DM 1000 ışık mikroskobu ile apoptotik kondrositler değerlendirildi.

#### 5.5.3.2. MMP-13 İşaretlemesi

Parafin bloklardan polilizinli lamalar üzerine alınan 4 µm'lik kesitlerin 1 gece 56 °C'lik etüvde tutularak parafini giderildi ve toluende 3'er kez 5 dk bekletilerek parafinden iyice arındırıldı. Ardından, sırasıyla 2x5 dk 100° alkolde, 1x5 dk 96° alkolde, 1x5 dk 90° alkolde, 1x5 dk 70° alkolde ve son olarak 2x5 dk distile su içinde bekletildi. Fosfat tamponlu serum fizyolojik (PBS)-Tx solüsyonu içerisinde 5 dakika bekletilen kesitler antijen retrieval işlemi için sitrik asit solüsyonuna alınarak mikrodalgada 10 dk kaynatıldı ve soğuması için 20 dk bekletildi. Hidrofobik bir havuz oluşturmak amacıyla Pap-pen ile çevrelenen kesitlere endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonu (ab64264, Abcam) damlatılarak 10 dk bekletildi. Ardından PBS'de yıkanan

kesitlere özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere protein blok solüsyonu (ab64264, Abcam) 10 dk süre ile uygulandı. Tekrar PBS ile yıkanan kesitlere 1/100 dilüsyon oranındaki MMP-13 primer antikorunu (bs-0575R; Bioss Inc.) damlatıldı ve +4°C'de bir gece boyunca bekletildi (94). PBS ile yıkanan doku kesitleri biyotinli goat antipolyvalent solüsyonu (ab64264, Abcam) ile 10 dakika inkübe edildikten sonra tekrar PBS ile yıkandı ve streptavidin peroksidaz solüsyonu (ab64264, Abcam) kesitler üzerine eklendi. 10 dakikalık inkübasyonun ardından PBS'ten geçirilen kesitlerde MMP-13 ekspresyonunun olduğu bölgeler diaminobenzidin (DAB) adı verilen kromojen ile kahverengi renkte gözlemlendi. Mayer hematoksilin (ab128990, Abcam) ile zıt boyama yapılan dokular dehidrasyon işleminin ardından (artan alkol serilerinden geçirilerek) toluen içerisine alındı ve Entellan (Merck) ile lamel yardımıyla kapatıldı.

### **5.6. İstatistiksel Değerlendirme**

İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) paket programı ile yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile test edildi. Normal dağılan değişkenlerin dört grupta karşılaştırılmasında ANOVA ve LSD testleri, normal dağılmayan değişkenlerin dört grupta karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ve All Pairwise testleri kullanıldı. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Ki-kare testi ile test edildi. İki yönlü hipotezlerin testi için  $p < 0,05$  anlamlı kabul edildi. Tüm analizlerde güven aralığı olarak %95 seçildi.

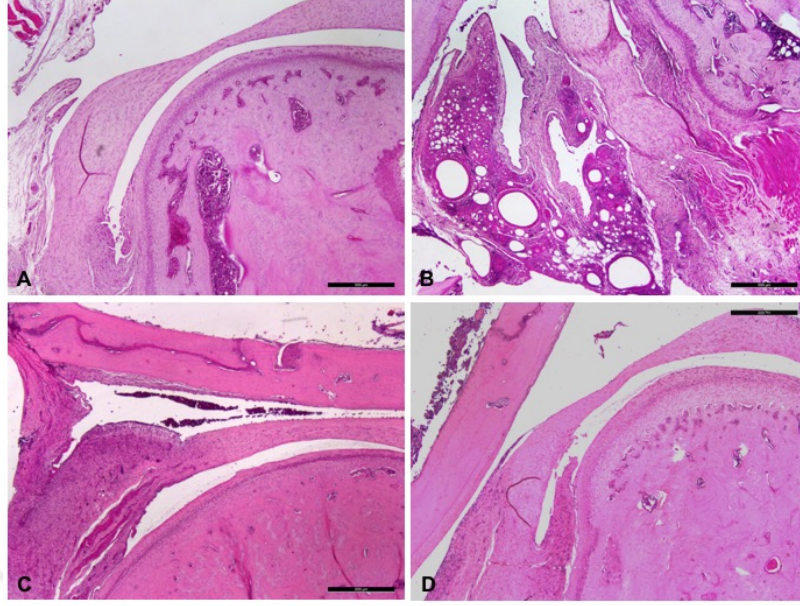


## 6. BULGULAR

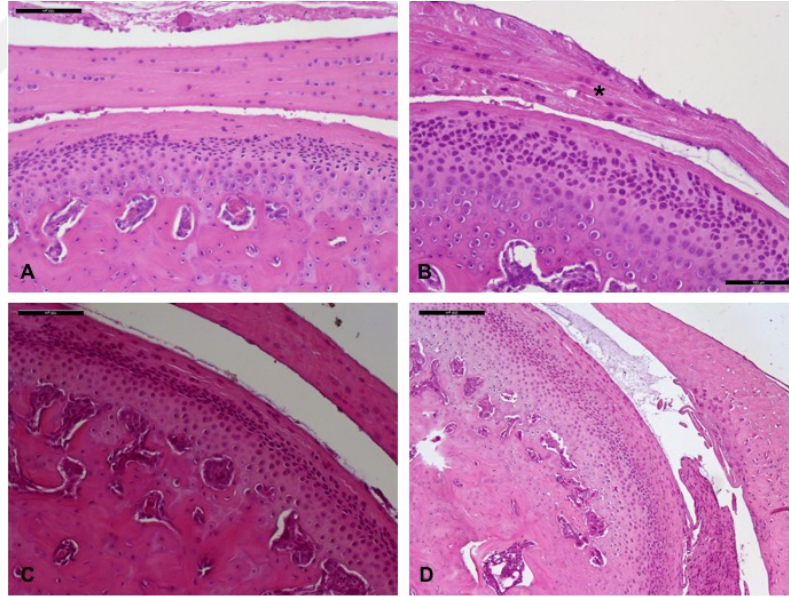
Çalışmaya 35 adet erkek Wistar sıçan dahil edildi. Kontrol grubundan bir adet, artrit ve tedavi gruplarından ikişer adet olmak üzere toplam yedi adet hayvan anestezi sırasında ölüm nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. Son durumda kontrol grubunda dört, artrit ve tedavi gruplarında sekizer adet hayvanla çalışma bitirildi. Kontrol grubundaki hayvanların çift taraflı TME'leri çalışmaya dahil edildi. Çalışma sırasında hiçbir hayvanda enfeksiyon gelişmedi.

### 6.1. Histopatolojik Bulgular

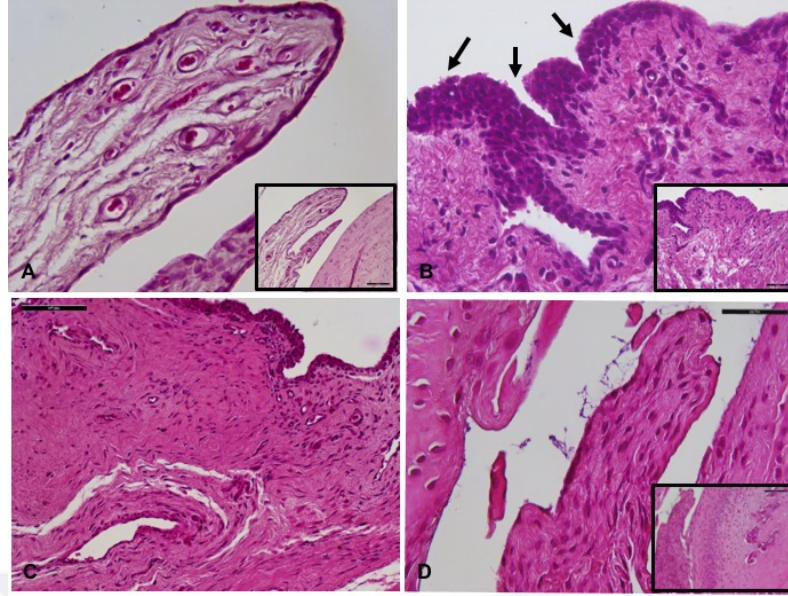
Gruplara ait TME kesitleri incelendiğinde, kontrol grubunda düzgün disk ve kondil yapısı gözlemlendi, sinoviyal dokuda inflamasyon tespit edilmedi (Resim 7A). CFA grubunda ise disk yapısında bozulma, kondiler kırıkta düzleşme, dejenerasyon ve kırıkta kalınlığında azalma gözlemlendi (Resim 7B-8B). Sinoviyal membranı oluşturan hücrelerde hiperplazi tespit edildi (Resim 9B). Ayrıca CFA verilen artritik sıçanların subsinoviyal dokusunda ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, özellikle nodül şeklinde mononükleer hücre toplulukları, lipid damlacıkları, prolifer ve dilate olmuş kan damarları görüldü (Resim 10B, Resim 11). RES(Y) ve RES(D) tedavi gruplarında ise CFA grubuna göre kondil yapısında düzleşme, kondiler kırıkta kalınlığında artış, sinoviyal membran hiperplazisi ve subsinoviyal bölge inflamasyonunda azalma tespit edildi (Resim 7C-D, 8C-D, 9C-D, 10C-D).



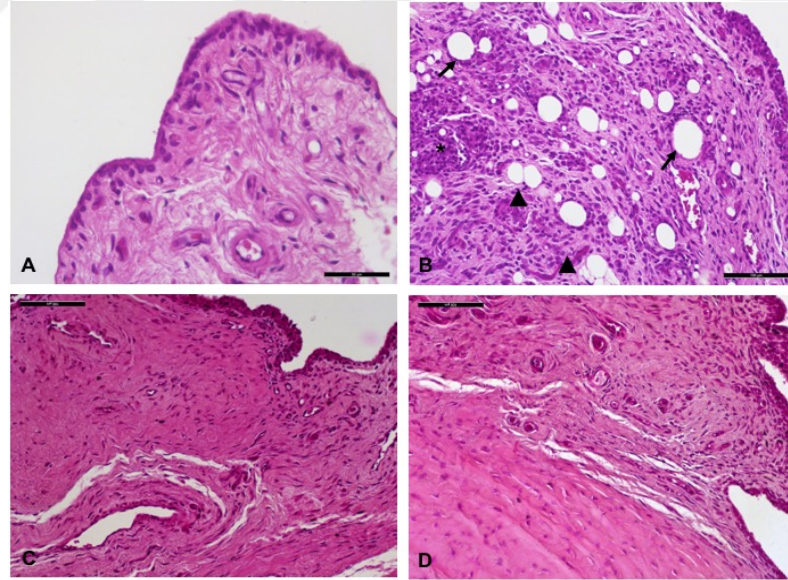
**Resim 7.** Gruplara ait TME kesitlerinin genel görüntüsü. A, Kontrol; B, Artrit (CFA); C, Düşük doz resveratrol [RES(D)]; D, Yüksek doz resveratrol [RES(Y)]. H&E, 4x objektif, 40X magnifikasyon. Kontrol grubunda düzgün disk ve kondil yapısı (A), CFA grubunda kondiler kıkırdakta düzleşme ve dejenerasyon (B), RES(Y) ve RES(D) tedavi gruplarında ise CFA grubuna göre kondil yapısında düzelme (C, D) görülmektedir.



**Resim 8.** Gruplara ait mandibular kondil ve disk yapısını gösteren fotomikrograflar. A, Kontrol; B, Artrit (CFA); C, Düşük doz resveratrol [RES(D)]; D, Yüksek doz resveratrol [RES(Y)]; yıldız, dejenere disk yapısı. 20x objektif, 200X magnifikasyon, H&E). Kontrol grubunda düzgün disk ve kondil yapısı (A), CFA grubunda disk yapısında bozulma (yıldız), kondiler kıkırdakta düzleşme, dejenerasyon ve kıkırdak kalınlığında azalma (B), RES(Y) ve RES(D) tedavi gruplarında ise CFA grubuna göre kondil yapısında düzelme ve kondiler kıkırdak kalınlığında artış (C, D) görülmektedir.

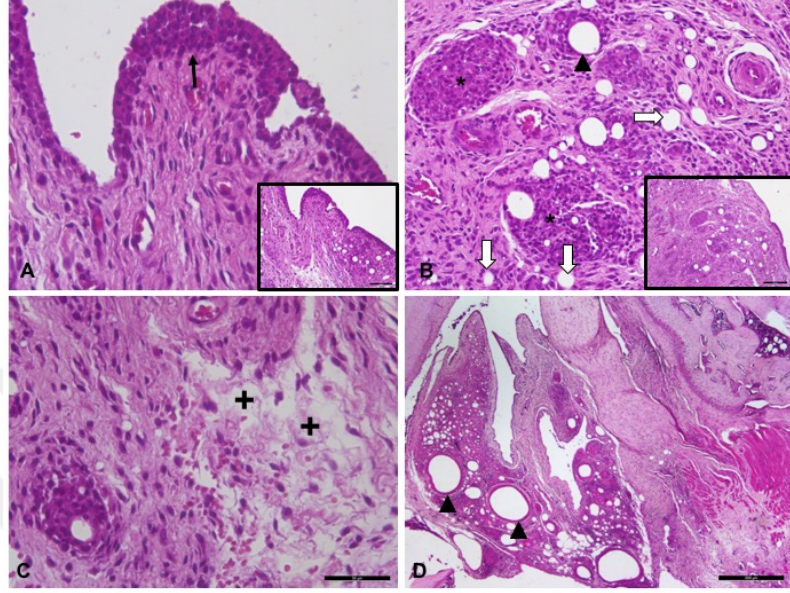


**Resim 9.** Gruplara ait sinoviyal membran yapısını gösteren fotomikrograflar. A, Kontrol; B, Artrit (CFA); C, Düşük doz resveratrol [RES(D)]; D, Yüksek doz resveratrol [RES(Y)]. Siyah ok, sinoviyal membran hiperplazisini işaret etmektedir. A, B ve D, 40x objektif-400X magnifikasyon; C, 20x objektif-200X magnifikasyon. H&E. Kontrol grubunda sinoviyal dokuda inflamasyon tespit edilmedi (A). CFA grubunda sinoviyal membran hiperplazisi (siyah ok) tespit edildi (B). RES(D) ve RES(Y) tedavi gruplarında sinoviyal membran hiperplazisinde azalma görülmektedir (C, D).



**Resim 10.** Gruplara ait subsinoviyal bölge yapısını gösteren fotomikrograflar. A, Kontrol; B, Artrit (CFA); C, Düşük doz resveratrol [RES(D)]; D, Yüksek doz resveratrol [RES(Y)]. Siyah ok, dilate damarları; ok başı, lipid damlacıklarını; yıldız, inflamatuvar hücre topluluklarını göstermektedir. A, 40x objektif-400X magnifikasyon; B, C ve D, 20x objektif-200X magnifikasyon. H&E. Kontrol grubunda subsinoviyal bölgede inflamasyon tespit edilmedi (A). CFA grubunun subsinoviyal dokusunda ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu (yıldız), lipid damlacıkları (ok başı), prolifer ve dilate

olmuş kan damarları (siyah ok) görülmektedir (B). RES(Y) ve RES(D) tedavi gruplarında subsinoviyal bölge inflamasyonunda azalma görülmektedir (C, D).



**Resim 11.** CFA grubuna ait sinoviyal membran ve subsinoviyal doku yapısını gösteren fotomikrograflar. Siyah ok, sinoviyal membran hiperplazisini; ok başı, dilate damarları; beyaz ok, lipid damlacıklarını; yıldız, inflamatuvar hücre topluluklarını (nodül); artı, subsinoviyal ödemini göstermektedir. 40x objektif-400X magnifikasyon, H&E.

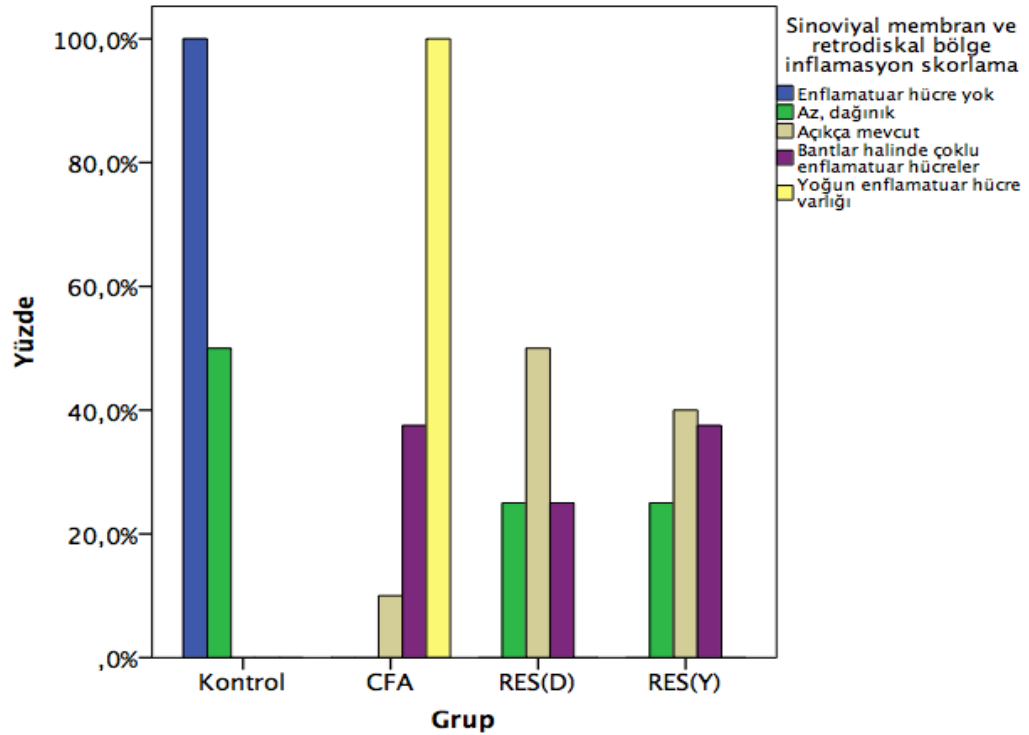
### 6.1.1. İnflamasyon Derecelendirmesi

Sinoviyal membran ve retrodiskal bölgedeki inflamasyon gruplara göre değerlendirildi. Kontrol grubundaki TME örneklerinin altı tanesinde (%75) inflamatuvar hücre tespit edilmedi; iki tanesinde (%25) az ve dağınık halde inflamatuvar hücreler görüldü. Artrit (CFA) grubunda; bir örnekte (%12,5) inflamatuvar hücreler açıkça mevcutken, üç örnekte (%37,5) bantlar halinde çoklu, dört örnekte (%50) yoğun inflamatuvar hücre varlığına rastlandı. Düşük doz resveratrol tedavi [RES(D)] grubundaki bir örnekte (%12,5) az ve dağınık halde, beş örnekte (%62,5) açıkça mevcut şekilde, iki örnekte (%25) bantlar halinde çoklu inflamatuvar hücre varlığına rastlandı. Yüksek doz resveratrol tedavi [RES(Y)] grubunda ise bir örnekte (%12,5) az ve dağınık halde, dört örnekte (%50) açıkça mevcut şekilde ve üç örnekte (%37,5) bantlar halinde çoklu inflamatuvar hücreler görüldü. (Tablo 1) (Şekil 1).

**Tablo 1.** Sinoviyal membran ve retrodiskal bölge inflamasyon skorlarının dağılımı.

İnflamatuar hücre varlığı	Sinoviyal membran ve retrodiskal bölge inflamasyon skorlama	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	<i>P</i>
		Kontrol (n=8)	CFA (n=8)	RES(D) (n=8)	RES(Y) (n=8)	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Yok	0	6 (75,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Az ve dağınık	1	2 (25,0)	0 (0,0)	1 (12,5)	1 (12,5)	
Açıkça mevcut	2	0 (0,0)	1 (12,5)	5 (62,5)	4 (50,0)	0,001*
Bantlar halinde çoklu	3	0 (0,0)	3 (37,5)	2 (25,0)	3 (37,5)	
Yoğun	4	0 (0,0)	4 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	

\**p* < 0,05 düzeyinde anlamlı



**Şekil 1.** Deney gruplardaki sinoviyal membran ve retrodiskal bölge inflamasyon skorlarının dağılımı.

İnflamasyon skorları gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdi ( $p=0,001$ ). Karşılaştırmalara bakıldığında CFA grubundaki inflamasyon skorları kontrol grubuna

göre anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0,000$ ). CFA grubunun; RES(D) tedavi grubu ile arasındaki fark anlamlı, RES(Y) tedavi grubu ile arasındaki fark anlamsız bulundu ( $p=0,037$ ;  $p=0,066$ ). Tedavi grupları arasında inflamasyon skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,805$ ) (Tablo 2) (Şekil 2).

**Tablo 2.** İnflamasyon değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.

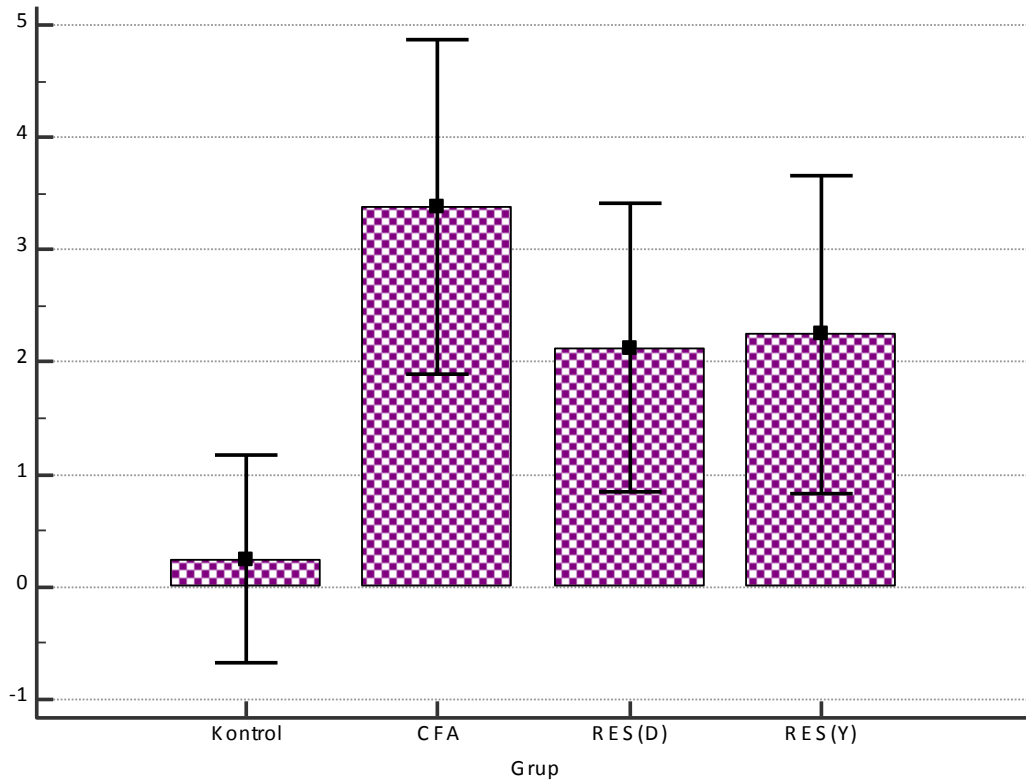
İnflamasyon Skorlama	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	P
	Kontrol	CFA	RES(D)	RES(Y)	
	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD	
	0,25 ± 0,46 <sup>C</sup>	3,38 ± 0,74 <sup>A</sup>	2,13 ± 0,64 <sup>B</sup>	2,25 ± 0,71 <sup>A,B</sup>	0,001*

Kruskal Wallis testi kullanıldı.

\* $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı.

A,B den anlamlı derecede yüksek bulundu.

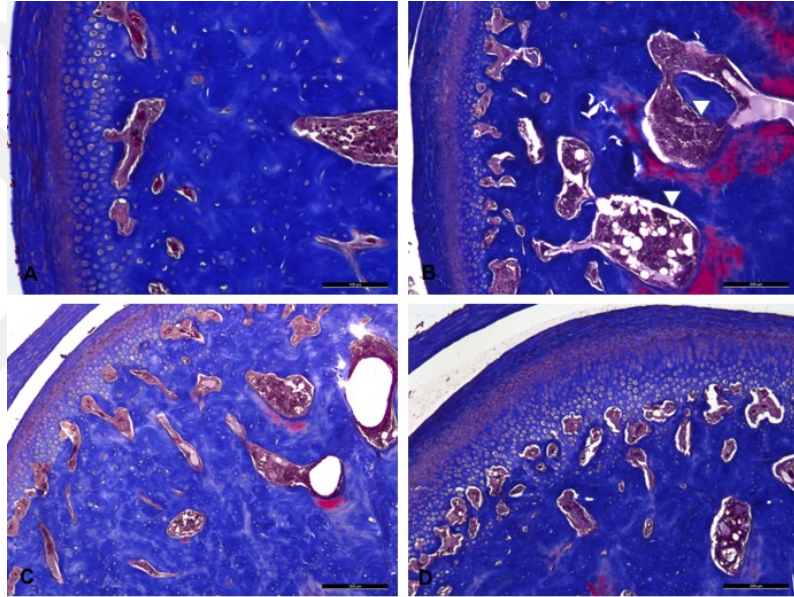
C, A ve B'den anlamlı derecede düşük bulundu.



**Şekil 2.** Deneş gruplarındaki ortalama inflamasyon değeri.

## 6.1.2. Trabeküler Kemik Morfolojisi

Masson trikrom boyaması, subkondral kemikte trabeküler kemik morfolojisindeki değişimi tespit etmek için yapıldı. CFA grubunda kontrol grubuna göre düzensiz ve bozulmuş bir trabeküler kemik yapısı görüldü (Resim 12B). Ayrıca geniş kemik iliği kavimleri yine bu grupta tespit edildi. Tedavi gruplarında nispeten daha düzgün bir trabeküler kemik morfolojisi ve kemik iliği kavimlerinde küçülme görüldü (Resim 12C, 12D).



**Resim 12.** Gruplara ait Masson trikrom ile boyanmış subkondral kemik kesitlerine ait fotomikrograflar. A, Kontrol; B, Artrit (CFA); C, Düşük doz resveratrol [RES(D)]; D, Yüksek doz resveratrol [RES(Y)]. Beyaz ok başı, geniş kemik iliği kavimlerini göstermektedir. 20x objektif-400X magnifikasyon, MT. CFA grubunda düzensiz ve bozulmuş trabeküler kemik yapısı ve genişlemiş kemik iliği kavimleri (beyaz ok başı) (B), RES(D) ve RES(Y) tedavi gruplarında nispeten daha düzgün trabeküler kemik morfolojisi ve kemik iliği kavimlerinde küçülme görülmektedir (C, D).

## 6.2. Histomorfometrik Bulgular

### 6.2.1. Kondiler Kıkırdak Kalınlığı Ölçümü

Gruplara ait kondiler kıkırdak kalınlığı analiz edildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,001$ ). CFA grubunda kontrol grubuna göre belirgin bir azalma

olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0,504$ ). RES(Y) ve RES(D) tedavi gruplarına ait örneklerden alınan ölçümler ise CFA ve kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdi. [RES(Y) için  $p=0,001$ ;  $p=0,010$  RES(D) için  $p=0,004$ ;  $p=0,027$ ]. Tedavi grupları arasında kırık kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p=0,712$ ) (Tablo 3) (Şekil 3) (Resim 13).

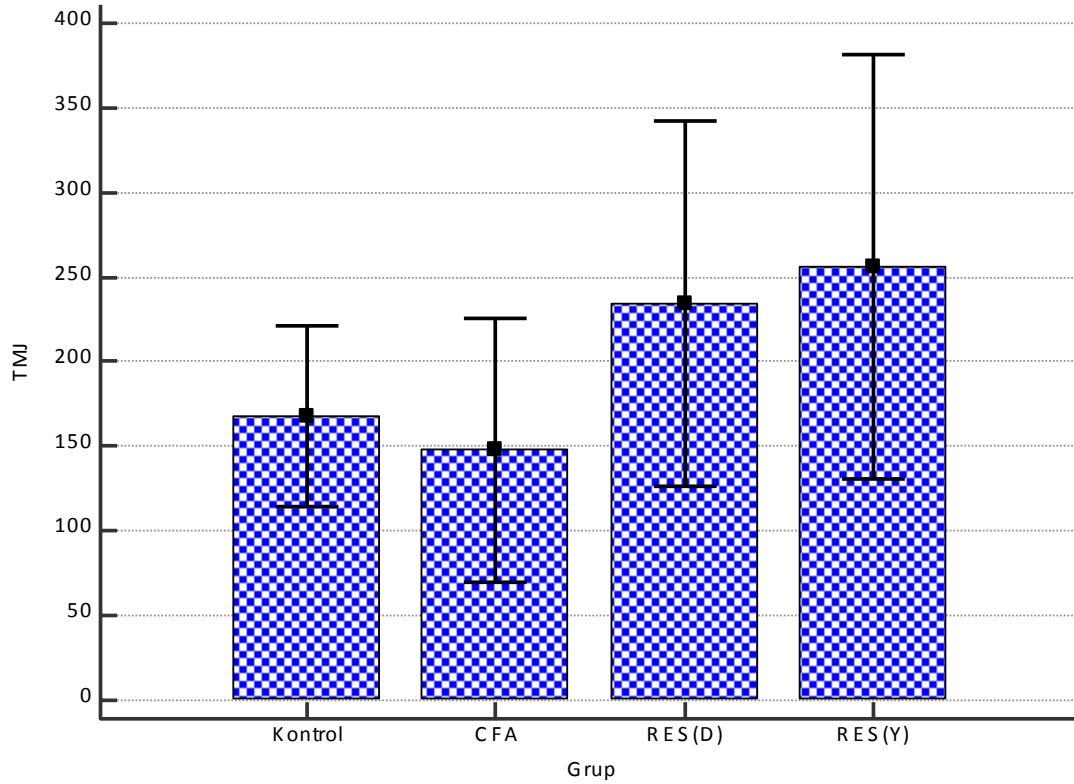
**Tablo 3.** Kondiler kırık kalınlığının gruplar arası karşılaştırması.

Kondiler kırık kalınlığı ( $\mu\text{m}$ )	Grup 1 Kontrol	Grup 2 CFA	Grup 3 RES(D)	Grup 4 RES(Y)	P
	Ort $\pm$ SD	Ort $\pm$ SD	Ort $\pm$ SD	Ort $\pm$ SD	
	168,15 $\pm$ 26,67 <sup>B</sup>	147,96 $\pm$ 38,9 <sup>B</sup>	234,37 $\pm$ 54,11 <sup>A</sup>	255,95 $\pm$ 62,75 <sup>A</sup>	0,001*

Kruskal Wallis testi kullanıldı.

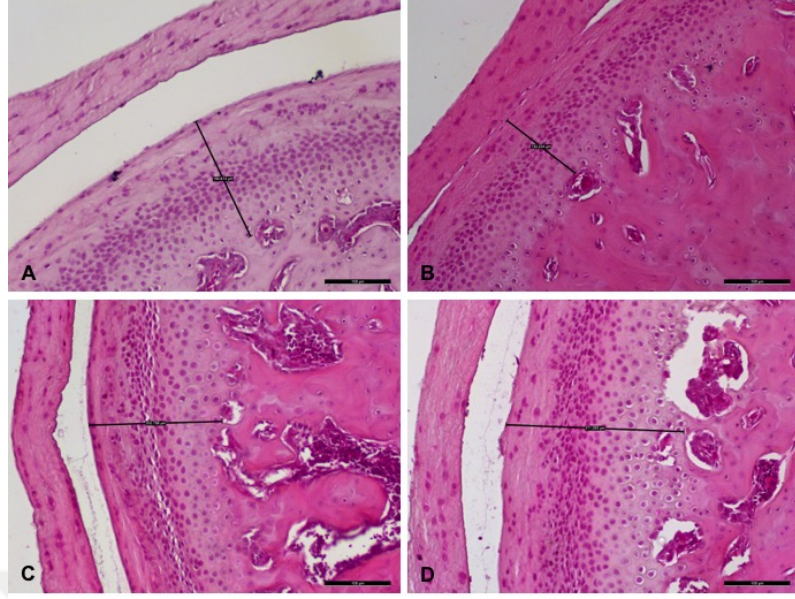
\* $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel anlamlı.

A,B den anlamlı derecede yüksek bulundu.



**Şekil 3.** Deney gruplarındaki ortalama kırık kalınlığı değerleri.





**Resim 13.** Gruplara ait kondil kırıkdağı kalınlığını gösteren fotomikrograflar. A, Kontrol; B, Artrit (CFA); C, Düşük doz resveratrol [RES(D)]; D, Yüksek doz resveratrol [RES(Y)];. 20x objektif, 200X magnifikasyon, H&E. Kontrol (A) ve CFA (B) gruplarına göre, RES(D) ve RES(Y) tedavi gruplarına ait örneklerden alınan kırıkdağ kalınlığı ölçümlerinde (C, D) artış görülmektedir.

### 6.2.2. Artiküler Disk Kalınlığı Ölçümü

Artiküler disk kalınlığı ölçümleri değerlendirildiğinde orta hat ve diskin posterior bölgesinden yapılan disk kalınlığı ölçümleri gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdi ( $p=0,038$ ;  $p=0,001$ ). Bununla birlikte diskin anterior bölgesinden yapılan ölçümlerde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,206$ ) (Tablo 4) (Şekil 4).

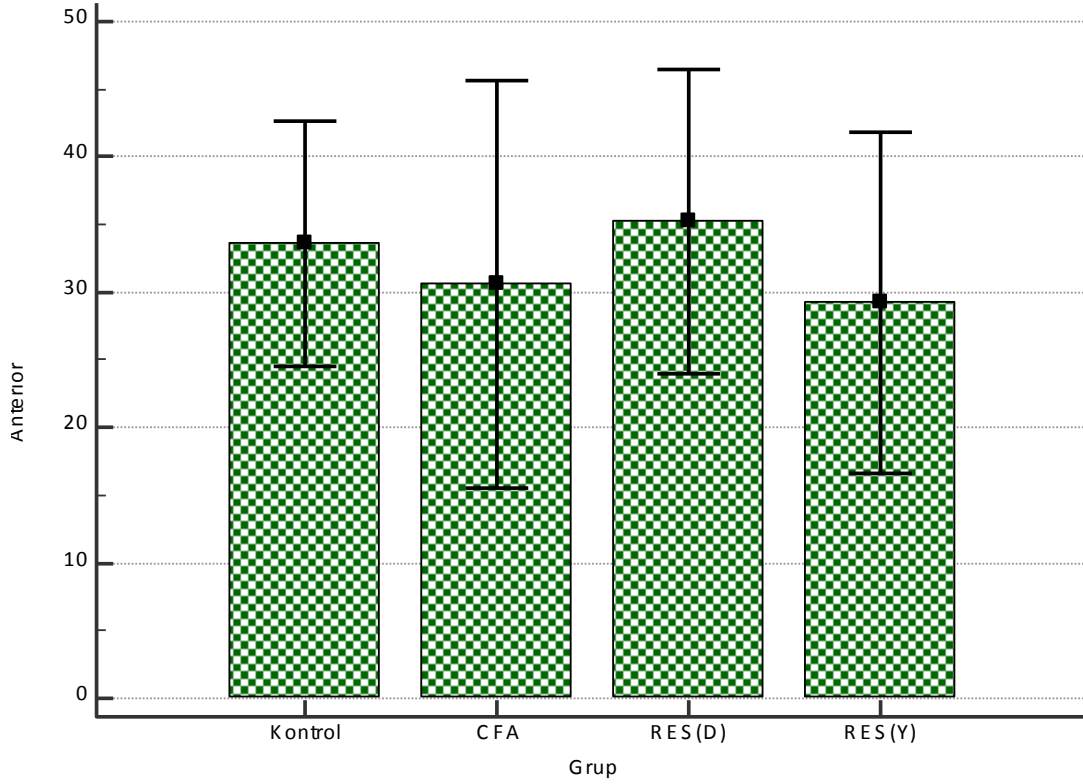
**Tablo 4.** Artiküler disk kalınlığı ölçümlerinin gruplar arası karşılaştırması.

Disk kalınlığı ölçümü ( $\mu\text{m}$ )	Grup 1 Kontrol	Grup 2 CFA	Grup 3 RES(D)	Grup 4 RES(Y)	P
	Ort $\pm$ SD	Ort $\pm$ SD	Ort $\pm$ SD	Ort $\pm$ SD	
Anterior	33,59 $\pm$ 4,51	30,59 $\pm$ 7,5	35,22 $\pm$ 5,63	29,24 $\pm$ 6,28	0,206
Orta	6,71 $\pm$ 1,05 <sup>B</sup>	9,34 $\pm$ 1,72 <sup>A</sup>	7,13 $\pm$ 0,65 <sup>B</sup>	7,54 $\pm$ 2,76 <sup>A,B</sup>	0,038*
Posterior	23,84 $\pm$ 2,14 <sup>B</sup>	35,93 $\pm$ 8,66 <sup>A</sup>	27,18 $\pm$ 4,27 <sup>B</sup>	24,92 $\pm$ 4 <sup>B</sup>	0,001*

Anova testi yapıldı.

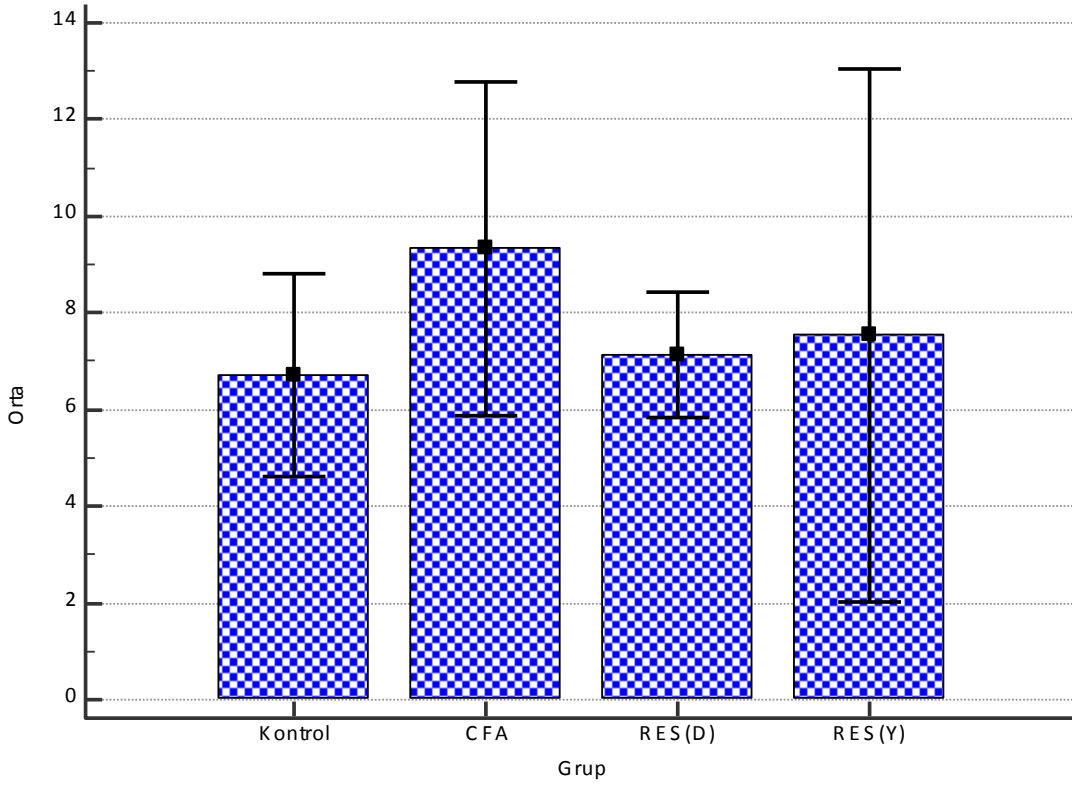
\* $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel anlamlı.

A,B den anlamlı ölçüde yüksek bulundu.



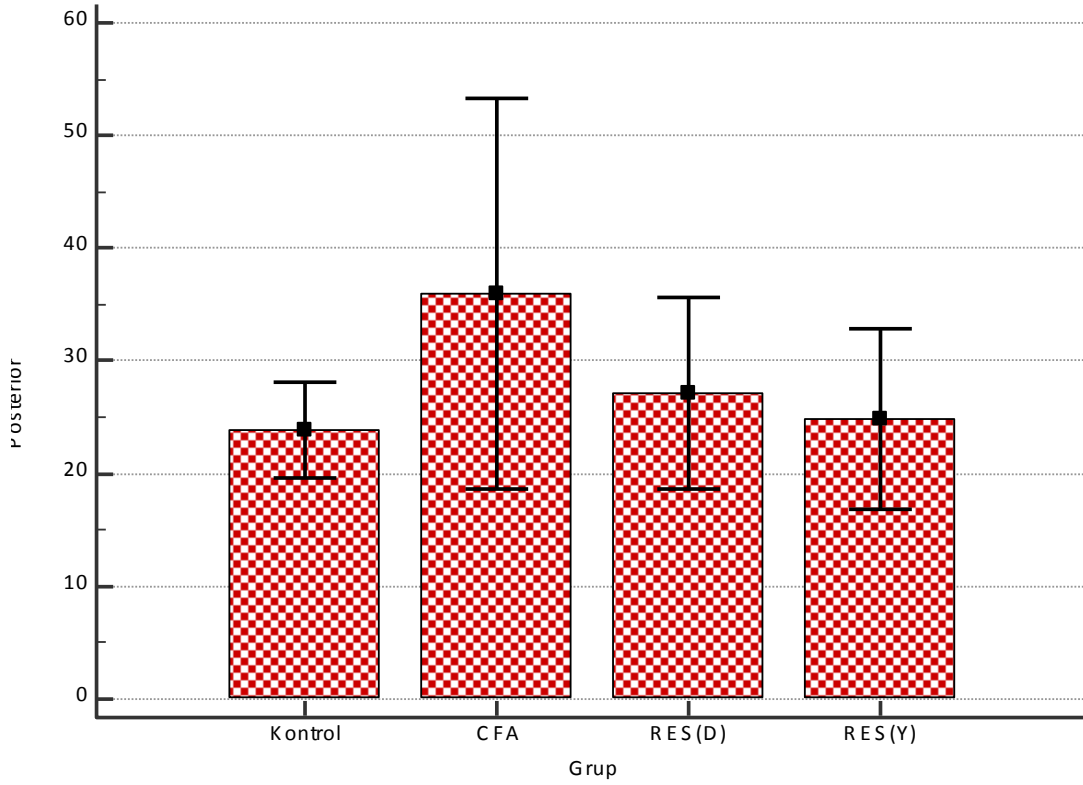
**Şekil 4.** Deney gruplarındaki anterior bölge disk kalınlığı ölçümlerinin ortalama değerleri.

Diskin orta hattından yapılan ölçümler karşılaştırıldığında, CFA grubundaki disk kalınlığı ölçümleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0,007$ ). RES(D) tedavi grubunun disk kalınlığı ölçümlerinde CFA grubuna göre anlamlı azalma gözlemlendi ( $p=0,021$ ). RES(Y) tedavi grubundaki ölçümlerde de CFA grubuna göre belirgin bir azalma olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0,056$ ). Tedavi grupları kendi arasında kıyaslandığında anlamlı bir fark görülmedi ( $p=0,646$ ). Kontrol grubu ile RES(D) ve RES(Y) tedavi grupları arasındaki fark anlamsız bulundu ( $p=0,628$ ;  $p=0,348$ ) (Tablo 4) (Şekil 5).



**Şekil 5.** Deney gruplarındaki orta hat disk kalınlığı ölçümlerinin ortalama değerleri.

Diskin posterior bölgesindeki ölçümler karşılaştırıldığında, CFA grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi ( $p=0,001$ ). Tedavi gruplarına bakıldığında ise; RES(D) ve RES(Y) gruplarındaki disk kalınlığı ölçümleri CFA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulundu ( $p=0,003$ ;  $p=0,001$ ). Tedavi grupları kendi aralarında kıyaslandığında anlamlı fark görülmedi ( $p=0,390$ ). Kontrol grubu ile RES(D) ve RES(Y) tedavi grupları arasındaki fark anlamsız bulundu ( $p=0,208$ ;  $p=0,680$ ) (Tablo 4) (Şekil 6).



**Şekil 6.** Deney gruplarındaki posterior bölge disk kalınlığı ölçümlerinin ortalama değerleri.

### 6.3. İmmunohistokimyal Bulgular

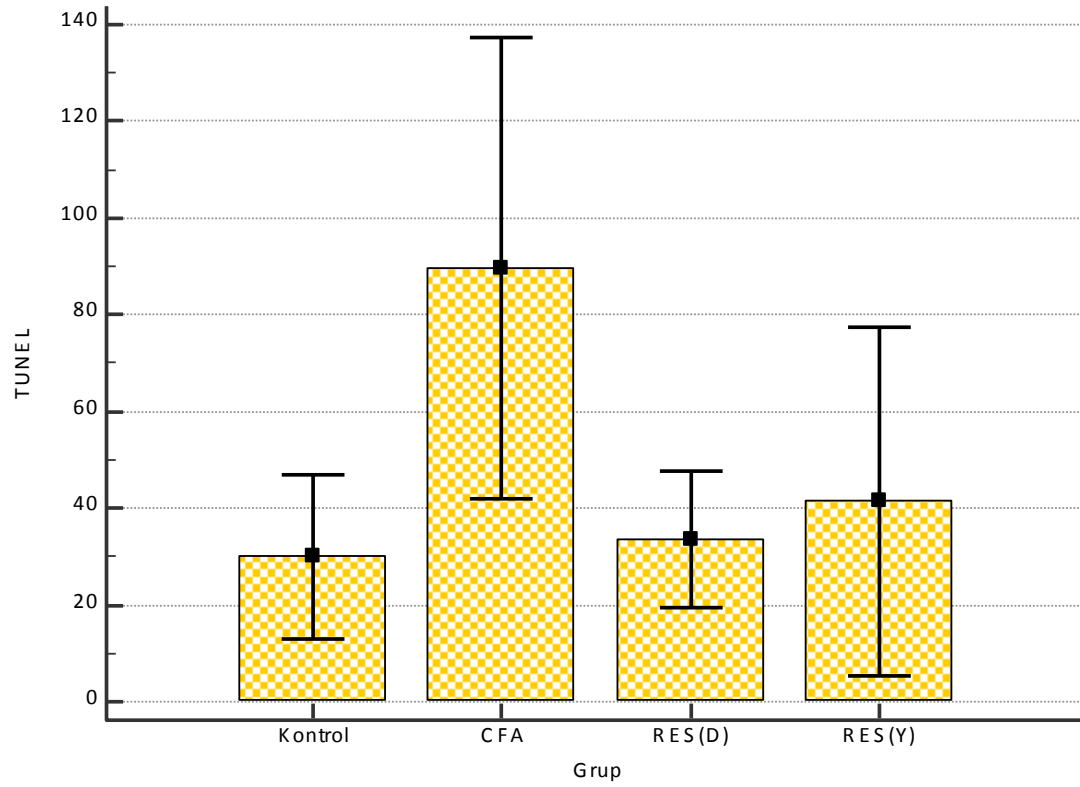
#### 6.3.1. TUNEL İşaretleme ve Apoptotik Kondrosit Tayini

TUNEL yöntemi ile belirlenen apoptotik kondrosit sayısı gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdi ( $p=0,001$ ). Kontrol ve CFA grubu karşılaştırıldığında CFA grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi ( $p=0,000$ ). Buna ek olarak CFA grubunun artiküler diskinde de bol miktarda apoptotik kondrositlere rastlandı (Resim 14B). Tedavi gruplarına bakıldığında ise; RES(D) ve RES(Y) apoptotik indeksleri CFA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulundu ( $p=0,002$ ;  $p=0,018$ ). Tedavi grupları kendi arasında kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmedi ( $p=0,464$ ) (Tablo 5) (Şekil 7).

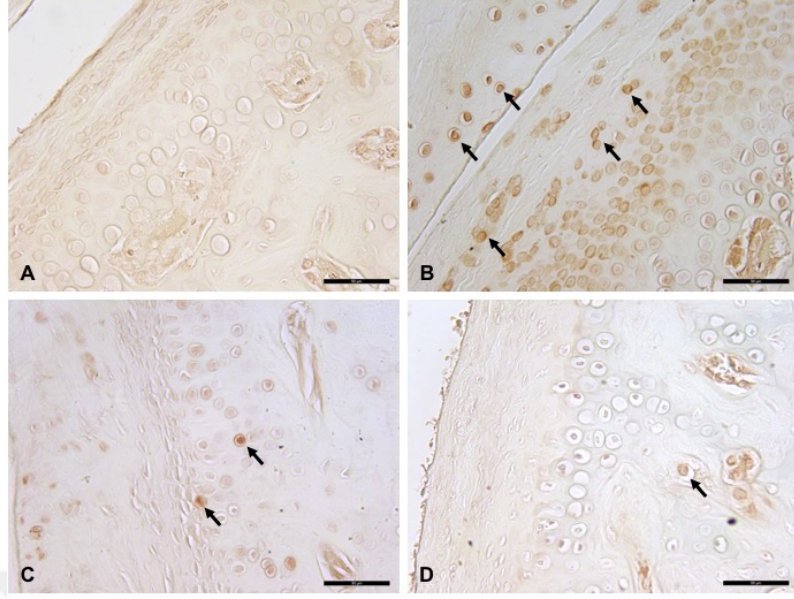
**Tablo 5.** TUNEL sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

Apoptotik kondrosit sayısı	Grup 1 Kontrol	Grup 2 CFA	Grup 3 RES(D)	Grup 4 RES(Y)	P
	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD	Ort ± SD	
	30 ± 8,47 <sup>B</sup>	89,57 ± 23,8 <sup>A</sup>	33,57 ± 7,14 <sup>B</sup>	41,43 ± 18,04 <sup>B</sup>	0,001*

\* $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel anlamlı.  
A,B den anlamlı derecede yüksek bulundu.



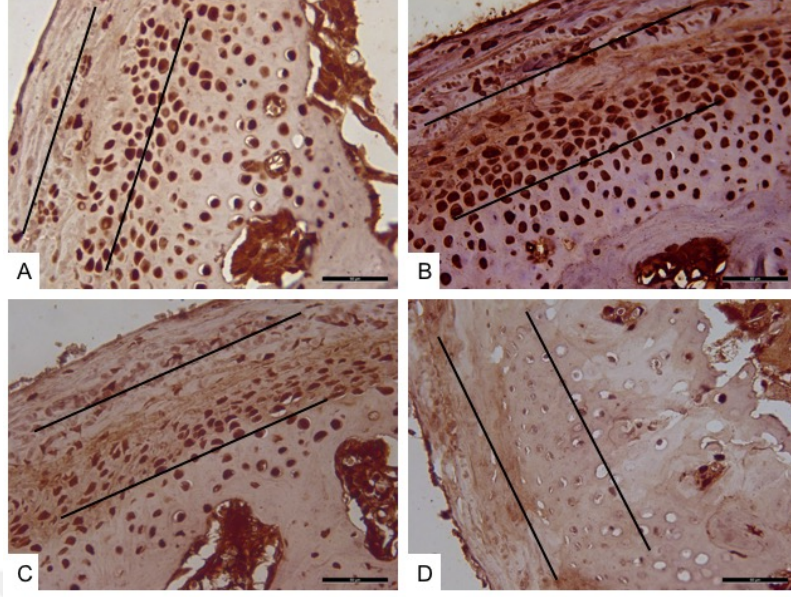
**Şekil 7.** Deney gruplarındaki ortalama apoptotik kondrosit değerleri.



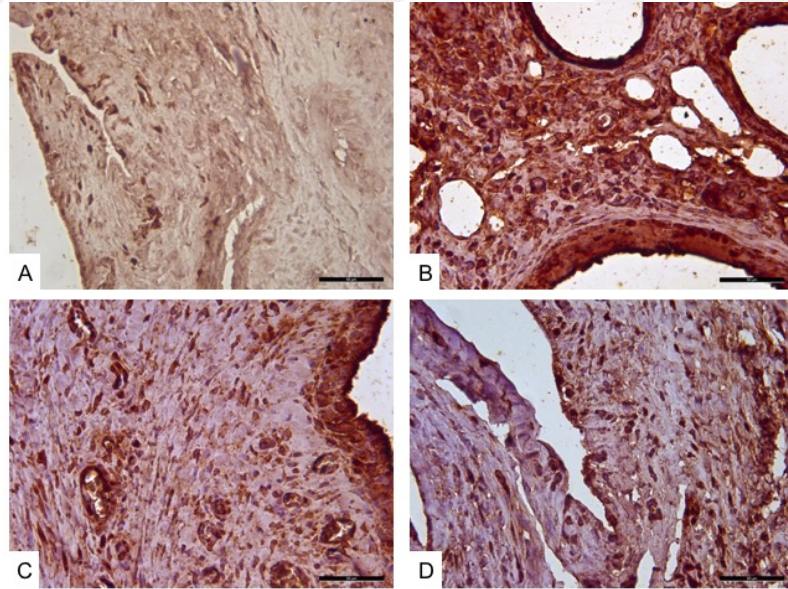
**Resim 14.** Gruplara ait kondil kıkırdağında apoptotik kondrositleri gösteren TUNEL fotomikrografları. A, Kontrol; B, Artrit (CFA); C, Düşük doz resveratrol [RES(D)]; D, Yüksek doz resveratrol [RES(Y)]. Siyah ok, DAB ile kahverengi renkte boyanan TUNEL(+) apoptotik kondrositleri göstermektedir. 40x objektif-400X magnifikasyon. CFA grubunda kıkırdak ve artiküler diskte apoptotik kondrosit sayısında artış (B), RES(D) ve RES(Y) tedavi gruplarında apoptotik kondrosit sayısında azalma görülmektedir (C, D).

### 6.3.2. MMP-13 İşaretleme

Kontrol grubunun kondil kıkırdağında düşük oranda MMP-13 ekspresyonu görülürken, CFA grubunda Tip II kollajeni yıkan bu metalloproteinazın ekspresyonunda ciddi oranda bir artış görüldü (Resim 14B). RES(D) ve RES(Y) tedavi gruplarında ise CFA grubuna göre MMP-13 immünreaktivitesinde belirgin bir azalma tespit edildi (Resim 15C, 15D). Aynı şekilde sinoviyal membran ve periartiküler dokuda da MMP-13 ekspresyonu CFA grubunda kontrol grubuna göre belirgin bir artış gösterirken (Resim 15B), tedavi gruplarında CFA grubuna göre belirgin bir düşüş gösterdi (Resim 16C, 16D).



**Resim 15.** Kondil kırırdağına ait MMP-13 ekspresyonunu gösteren fotomikrograflar. A, Kontrol; B, Artrit (CFA); C, Düşük doz resveratrol [RES(D)]; D, Yüksek doz resveratrol [RES(Y)]. MMP-13 immünreaktivitesinin olduğu alanlar kahverengi renktedir. Siyah çizgilerin arasında kalan alanlar, MMP-13 ekspresyonunun görüldüğü matriksi göstermektedir. 40x objektif-400X magnifikasyon. MMP-13 ekspresyonu kontrol grubunda düşük (A), CFA grubunda yüksek (B) görülmektedir. RES(D) ve RES(Y) tedavi gruplarında ise CFA grubuna göre belirgin azalma görülmektedir (C, D).



**Resim 16.** Sinoviyal membran ve periartiküler dokuda MMP-13 ekspresyonunu gösteren fotomikrograflar. A, Kontrol; B, Artrit (CFA); C, Düşük doz resveratrol [RES(D)]; D, Yüksek doz resveratrol [RES(Y)]. 40x objektif-400X magnifikasyon MMP-13 ekspresyonu CFA grubunda (B) kontrol grubuna (A) göre belirgin bir artış gösterirken, RES(D) ve RES(Y) tedavi gruplarında CFA grubuna göre belirgin bir düşüş göstermektedir (C, D).

## 7. TARTIŞMA

Temporomandibular eklem ile ilgili yapılan deneysel hayvan çalışmalarında sıçan, tavşan, maymun, koyun ve domuz kullanılabilen hayvanlardır (61). Artiküler eminensin olmaması dışında sıçan TME'si insan eklemine benzer uygun anatomik ve histolojik özellikler göstermektedir (62). Sıçan TME'sinin insan TME anatomisine benzer özellikleri, TME kıkırdağında izlenen yapısal değişimlerin morfolojisinin ve gelişiminin insanlar ile uyum göstermesi, diskin histopatolojik olarak insan TME diskine benzer olması, büyük hayvanlara göre manipülasyonun, temin edilmesinin ve bakımının kolay olması gibi nedenlerle TME ile ilgili birçok araştırmanın deneysel hastalık modelinde deney hayvanı olarak sıçan tercih edilmektedir (14,17,62,67,75,120). Bu çalışmada da albino Wistar sıçan kullanımı tercih edilmiştir.

Osteoartrit; sinoviyal inflamasyon, progresif kıkırdak dejenerasyonu, subkondral kemiğin yeniden şekillenmesi ve kronik ağrı ile karakterize, etyolojisi bir çok faktöre dayanan kronik bir rahatsızlıktır (1,2). Kadınlarda osteoartrit görülme oranı erkeklere göre yüksektir. Kadınlarda östrojen hormonunun eklem ligamentlerinin gevşemesine neden olarak eklem mobilitesini arttırdığı bildirilmiştir (95). Ayrıca östrojen hormonunun yapısal özellikleri nedeniyle serbest radikaller ve katabolik enzimlerin daha kolay serbestlendiği düşünülmektedir (95). Etöz ve arkadaşlarının TMD'deki oksidatif durumu değerlendirdikleri çalışmada, kadınlarda total antioksidan kapasitesinin daha düşük bulunması bunu doğrular niteliktedir (96). Orjarvi ve ark. overektomi ve diyet düzenlemesi yaptıkları dişi sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada TME kıkırdağının östrojen seviyeleri ve diyet sertliğindeki değişikliklerden etkilendiğini açıkça göstermişlerdir (97). Birçok çalışmada, kıkırdak ve kemik metabolizmasını etkileyen hormonal faktörlerin eliminasyonu için erkek hayvan kullanılmaktadır (14,17,67,68,97). Biz de bu çalışmada erkek Wistar sıçan kullanımını tercih ettik.

Kondrosit ve artiküler kıkırdak dejenerasyonu için çeşitli tedavi modelleri önerilmekte olup etik nedenlerle insan çalışmalarının yapılamadığı durumlarda *in vitro* ve hayvan modeli odaklı çalışmalar önem kazanmaktadır (98). Hastalardan kıkırdak biyopsilerinin alınması etik olmadığı için OA patogenezinin değerlendirilmesinde deneysel OA modelleri geliştirilmiştir. Uygulanan deneysel OA modelleri; cerrahi,



mekanik, spontan gerçekleşen ve ilaçla oluşturulan OA modelleri olarak sınıflandırılabilir (2,14,63,64). İlaçla oluşturulan OA modeli; kolay uygulanabilir, tekrar edilebilir, diğer yöntemlere kıyasla daha kısa zamanda model oluşturulabilir, patolojik bulgular gerçeğe yakındır (2). OA modeli oluşturmak için kullanılan ilaçlar arasında CFA; literatürde bir çok araştırmada, özellikle sıçanlar üzerinde başarılı şekilde uygulanmasıyla dikkat çekmektedir (68,69,70-73). Bu yüzden çalışmamızda; sıçanlarda TME-OA modeli oluşturmak için CFA tercih edilmiştir.

Spears ve ark. (68) çalışmalarında, sıçanların TME'lerine bilateral tek doz CFA enjeksiyonu yaptıktan sonra ikinci gün, ikinci, dördüncü ve altıncı haftalarda hayvanları sakrifiye etmişler; TME ve trigeminal gangliyondaki kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP), nörotropin sinir büyüme faktörü (NGF), IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  yoğunluğunu değerlendirmişlerdir. İkinci günden altıncı haftaya kadar tüm inflamatuvar sitokin konsantrasyonları; TME'de kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bununla beraber NGF, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  konsantrasyonları ikinci gün ve ikinci hafta arasında en yüksek seviyededir. Wang ve ark. (73) CFA enjeksiyonu sonrası sıçan TME'lerinde iNOS ve IL-1 $\beta$  seviyelerini yüksek bulmuşlardır. Xu ve ark. (72) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada TME'ye tek doz CFA enjeksiyonu sonrası birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü haftalarda hayvanları sakrifiye etmişlerdir. Birinci haftadan dördüncü haftaya kadar tüm çalışma gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede kıkırdak incilmesi, kondrosit sayısında azalma ve hücre kaybına rastlamışlardır. Kramer ve ark. (69) TME' ye bilateral CFA enjeksiyonu sonrası yedinci, 21. ve 42. günlerde sakrifiye ettikleri sıçanlardan aldıkları örneklerde yedinci günden 42. güne kadar tüm gruplarda IL-1 $\beta$  seviyesini anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Bununla beraber IL-1 $\beta$  seviyesi yedinci günde en yüksek seviyede izlenmiştir.

Çalışmalar, TME'deki kıkırdak dejenerasyonu, subkondral kemik iliği lezyonları gibi morfolojik değişikliklerin ve inflamatuvar sitokin ekspresyonunun CFA enjeksiyonundan bir hafta sonra belirgin hale geldiğini göstermektedir (68,69,71,72). Bizim çalışmamızda da; CFA uygulamasından sonra erken osteoartritik değişikliklerin büyük ölçüde belirginleştiği birinci haftada resveratrol enjeksiyonuna başlanmıştır. Böylece resveratrolün TME-OA üzerindeki tedavi edici rolü değerlendirilmiştir. TME'ye yapılan tek doz intraartiküler CFA enjeksiyonu sonrası, uzamış inflamatuvar

cevabın altı haftadan fazla sürdüğü gösterilmiştir (68,69,73). Bizim çalışmamız da CFA enjeksiyonu sonrası 28. günde (dördüncü hafta) sonlandırılmıştır.

Harper ve ark. (99), deneysel OA oluşturmak için unilateral TME içi enjeksiyon yaptıkları sıçanların, kontralateral eklemlerinde de az miktarda inflamatuvar etkiler gözlemişlerdir. Ek olarak CFA ile deneysel OA modelini doğrulamak için yaptığımız ön çalışmada, kontrol grubu olarak kullandığımız kontralateral eklemler üzerinde dağınık halde az miktarda inflamatuvar hücreyle birlikte hafif ödem görülmüştür. Bu yüzden çalışmamızda hiç CFA enjeksiyonu yapılmamış ayrı bir kontrol grubu oluşturulmuştur.

Sıçanlar üzerinde bilateral CFA enjeksiyonu ile oluşturulan TME-OA'da, sıçanların öğün alma sürelerinin uzadığı görülmüştür. Bununla beraber alınan öğün sayısı ve miktarında değişiklik saptanmamıştır. (100,101). Yine de hayvanların çiğneme fonksiyonlarını baskılamamak ve öğün paterninde değişikliğe neden olmamak için bizim araştırmamızda enjeksiyonlar unilateral olarak sağ TME'ye yapılmıştır.

Okeson, OA'nın asıl sebebinin ekleme gelen aşırı mekanik yükler olduğunu ve tedavi için etkenin ortadan kaldırılması gerektiğini vurgulamıştır (36). TME-OA'nın tedavisi ve kırıldak dejenerasyonunun tamiri için bir çok yaklaşım önerilmiştir. Bunlar girişimsel olmayan tedavilerden cerrahi yaklaşıma kadar değişebilir (7-9). Her yöntemin avantajları olmakla beraber TME-OA tedavisinde kısıtlamaları da bulunmaktadır.

Non-invaziv tedavi yaklaşımlarından okluzal splintler, eklemdaki aşırı yüklemeyi ve aşırı kas aktivitesini ortadan kaldırıp diskal dokulara gelen basıncı azaltarak; kondil-disk ilişkisinin yeniden sağlanması için mandibulayı konumlandır ve bu şekilde semptomları hafifletebilirler (11,36). Bununla birlikte okluzal splintler TME-OA'nın progresif doğası karşısında tek başına yetersiz kalabilirler (11).

Farmakolojik yaklaşımda, NSAİİ'ler dejeneratif inflamatuvar eklem hastalıklarının tedavisi için sıklıkla tercih edilirler (11). Hem ağrıyı hem de inflamasyonu azaltırlar. İnflamasyonda oluşan ve eklem dejenerasyonuna yol açan serberst radikallerin ( $O_2$ ,  $OH^-$ ,  $H_2O_2$ ) oluşmasını engellerler (102). İnflamasyondaki azalma ile birlikte dejeneratif süreç de yavaşlar (2,8). Bununla birlikte kontrollü ve kohort çalışmalarda; NSAİİ'lerin uzun süreli kullanımında özellikle gastrointestinal sistem (GİS) toksisitesi için risk faktörü oldukları gösterilmiştir (103). Başta renal ve kardiyovasküler sistem ile ilgili olmak üzere NSAİİ'lerin yan etkilerinin görülme riski yaşla beraber artmaktadır ve en ciddi yan etkiler GİS'i ilgilendirmektedir (103). NSAİİ'lerin dört haftadan uzun

sureli kullanımında yan etki görülme olasılığı %25-35 olarak belirtilmiştir (104). Sonuç olarak farmakolojik tedavi TME-OA'nın progresif ve multifaktöryel doğası karşısında; uzun süreli kullanımda güvenilirlik ve tolere edilebilme konusunda yetersiz kalabilir (11).

Son yıllarda DDLT uygulamaları OA gibi dejeneratif eklem rahatsızlıklarında; analjezi, antiinflamatuvar ve biyositumulasyon etkilerinden faydalanma amacıyla kullanılmaktadır (74). DDLT'nin biyositumulasyon ve analjezik etkisini antiinflamatuvar mekanizma üzerinden gösterebileceği belirtilmiştir (67,74). OA'da histolojik olarak inflamatuvar belirtilerin gerilediğini bildiren çalışmalar olduğu gibi, DDLT'nin TME-OA'da etkisiz olduğunu savunan çalışmalar da vardır (105). Sonuç olarak TME-OA tedavisinde belirlenmiş standart bir DDLT protokolü yoktur.

Minimal invaziv yaklaşım içinde HA, kortikosteroid, simvastatin gibi çeşitli terapötik ajanların TME'ye intraartiküler enjeksiyonu savunulmuştur. (14-17,19,104). Bununla birlikte mevcut ilaçlar TME-OA'nın hem kıkırdak hem de kemik komponentlerinde istenilen etkiyi gösterememektedir (15,18,19,75,76,92).

Temporomandibular eklem osteoartriti tedavisinde sıkça kullanılan HA, GAG ailesinden bir polisakkarittir. Kıkırdak ve sinoviyal sıvı da dahil olmak üzere bir çok ekstraselüler dokuda bulunur (106). HA'nın mekanik ve metabolik olarak bir çok görevi vardır. Sinoviyal dokularda lubrikasyonu sağlar, eklem komponentlerini stabilize eder, eklem komponentleri ve çevresinde hidrostatik ve osmotik basınçlar arası dengeyi sağlar, sinoviyal sıvının viskozitesini korur, intraartiküler adezyonları engeller, avasküler kondil kıkırdağı ve diskin beslenmesini sağlar, kıkırdak formasyonunda yapısal olarak önemli bir role sahiptir (108,110). HA enjeksiyonunun sinoviyal dokulardaki doğal HA üretimini arttırabileceği savunulmuştur (109). Çalışmalar genel olarak HA'nın TME-OA'daki antiinflamatuvar ve kondroprotektif etkileri üzerinde durmaktadır (14,15,17). Bununla birlikte HA'nın subkondral kemikte koruyucu bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (15).

Duygu ve ark. (15) yüksek molekül ağırlıklı HA'nın TME-OA üzerindeki etkisini incelemek için tavşanların TME'lerinde MIA ile OA oluşturmuşlar ve birer hafta arayla toplam üç doz HA (Hylan G-F 20) enjeksiyonu yapmışlardır. Hayvanlar dördüncü, altıncı, ve sekizinci haftalarda sakrifiye edilmiştir. Kıkırdak, osteokondral birleşim, kondrosit dağılımı ve subkondral kemikteki değişimler incelenmiştir. Yüksek molekül

ağırlıklı HA'nın, OA'nın erken dönemlerindeki kıkırdak değişimlerini azalttığını, erken dönemdeki hipertrofik cevap sonucu oluşan kondrosit kümelenmelerinin HA'nın kondroprotektif etkisinin göstergesi olduğunu, HA'nın antiinflamatuvar etkisiyle ECM'deki PG kaybını önlediğini ve hasarlı kıkırdağı örterek eklem lubrikasyonunu regüle ettiğini rapor etmişlerdir. Bununla beraber osteokondral birleşimdeki invazyasyon ve zayıflama gibi değişimlerde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadığı, bunun subkondral kemikteki fibrozis ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. TME-OA'da HA enjeksiyonunun subkondral kemiğe bir etkisi olmadığı gösterilmiştir.

Çalışmalar yüksek molekül ağırlıklı HA'nın antiinflamatuvar ve eklem yapıları üzerindeki koruyucu etkisine dikkat çekmiştir. El Hakim ve ark. (14) erkek Wistar sıçanlar ile yaptıkları araştırmada hayvanlara 10 gün boyunca manuel hipermobilite uygulayarak OA oluşturmuşlar ve tedavi grubunda sağ eklem tek doz 0,12 mg HA, sol eklem salin enjeksiyonu yapmışlardır. Enjeksiyon sonrası hayvanlar birinci, ikinci ve dördüncü haftalarda sakrifiye edilmişlerdir. Dördüncü haftada HA tedavi grubunda disk yapısının normal kalınlığına döndüğünü, kondildeki fibrokartilaj yapının kalınlığının arttığını, salin grubunda görülen ve inflamasyon göstergesi olan; proliferatif fibröz tabaka ve vaskülerizasyon artışının HA tedavi grubunda görülmediğini kaydetmişlerdir. Lemos ve ark. (17) yüksek molekül ağırlıklı HA'nın TME-OA üzerindeki morfolojik ve biyokimyasal etkilerini araştırmak için yaptıkları çalışmada, deneysel OA modeli oluşturmak amacıyla erkek Wistar sıçanlara tek doz (50 µl) CFA enjeksiyonu yapmışlardır. Tedavi için CFA enjeksiyonundan bir hafta sonra başlayıp üç hafta boyunca haftada bir kez sıçanlara HA enjeksiyonu yapılmıştır. Son enjeksiyondan bir hafta sonra hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Anterior ve posterior bölgede disk kalınlığı ölçümü ile sinoviyal dokulardaki GAG konsantrasyonu ölçümünde CFA grubu ve HA tedavi grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. MMP-9 ve MMP-2 ekspresyonuna bakıldığında aktif ve latent MMP-9 ile barabar MMP-2 izoformları HA tedavi grubunda anlamlı derecede düşüktür. Bununla birlikte tüm gruplarda MMP-2 tespit edilmiştir.

Temporomandibular eklem osteoartriti tedavisinde kortikosteroid uygulaması; inflamasyonu azaltmak ve semptomları rahatlatmak amacıyla önerilmiştir. Betametazon, deksametazon, triamsinolon gibi ilaçların intraartiküler uygulanmasının ağrıyı ve inflamasyonu azalttığı, TME fonksiyonlarında iyileşmeye neden olduğu rapor

edilmiştir (16,18). Bununla beraber tek doz steroid enjeksiyonundan sonra kondilde osteoklastik aktivitede artış, rezorbsiyon, nekroz ve ankiloz olduğunu bildiren raporlar da mevcuttur (75,76). Sistemik veya lokal uygulama şekilleri ve lokal uygulamada başka ilaçlarla karşılaştırıldığında ise kortikosteroid avantajlı bulunmamıştır (16,18,19,92). Ayrıca kortikosteroidin ne kondiler kıkırdakta ne de subkondiler kemikte koruyucu bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (18,19,75,92).

Knudsen ve ark. (18), genç Sprague-Dawley cinsi sıçanlar üzerinde sistemik ve intraartiküler uygulanan deksametazonun (P-DEX), TME inflamasyonu ve mandibular kemik yapısı üzerindeki etkisini incelemişlerdir. TME-OA oluşturmak için sıçanlara bir ay ara ile iki doz intraartiküler CFA enjeksiyonu yapılmıştır. Dördüncü haftada tedavi gruplarındaki hayvanlara CFA ile birlikte P-DEX, intravenöz veya intraartiküler olarak uygulanmıştır ve hayvanlar sekizinci haftada sakrifiye edilmişlerdir. Histolojik ve mikro-bilgisayarlı tomografi (mikro-CT) inceleme sonucu; yüksek doz P-DEX her iki uygulama sonucunda da TME’de inflamasyonu azaltmış, bununla birlikte sistemik uygulama intraartiküler uygulamadan daha etkili bulunmuştur. Her iki uygulamanın da genç sıçanlarda ramus yüksekliği ve kondil genişliğini değiştirmediği ama kemik yoğunluğu ve kalitesini etkilediği rapor edilmiştir. Kortikosteroid subkondiler kemikte koruyucu bir özelliğe sahip olmadığı gibi kemik yoğunluğunda da azalmaya neden olmuştur.

El Hakim ve ark. (75), 10 gün boyunca mandibular manuel hipermobilitate uygulayarak deneysel OA oluşturdukları sıçanlara tedavi için tek doz intraartiküler veya intraperitoneal deksametazon vermişlerdir. Tedavi gruplarındaki hayvanlar enjeksiyon sonrası birinci ve altıncı haftalarda sakrifiye edilmişlerdir. Histolojik inceleme sonucu altıncı haftada intraartiküler deksametazon grubundaki hayvanlarda sinoviyal hiperplazinin azaldığı görülmüş fakat kondil başında rezorbsiyon ve osteoklastik aktivitede artış gözlenmiştir. Araştırma ekleme uygulanan lokal steroidlerin olası yan etkilerine dikkat çekmektedir. Schindler ve ark.’nın rapor ettiği vakada (76) ise 29 yaşında, TME’de kronik ağrısı olan ve kapsülit teşhisi ile intraartiküler 40 mg triamsinolon enjeksiyonu yapılan kadın hastada semptomların arttığı belirtilmiştir. Dört ay sonraki muayenede ağrı artışı, ağız açıklığında kısıtlılık ve krepitus geliştiği görülmüş ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kondilde nekroz saptanmıştır. Şiddetli ağrı ve TME’de ankiloz sebebiyle hasta cerrahi olarak tedavi edilmiştir.

Bjornland ve ark. (16) yaptıkları çalışmada TME-OA hastalarını iki gruba ayırmış; birinci gruba iki hafta ara ile iki doz HA (Hylan G-F 20), ikinci gruba ise iki hafta ara ile iki doz kortikosteroid (betametazon sodyum fosfat betametazon asetat) enjeksiyonu yapmışlardır. Hastalar 14. gün, birinci ve altıncı aylarda değerlendirilmiş; mandibular fonksiyonları, ağrı değerlendirmesi ve eklem seslerine bakılmıştır. Her iki ilacın da hastalarda ağrıyı azaltıp mandibula fonksiyonlarında ilerlemeye sebep olduğu ve krepitasyonu azalttığı, bununla beraber ağrıyı azaltmada HA'nın kortikosteroidden daha etkili olduğu belirtilmiştir.

Simvastatinler, antiinflamatuvar ve kemik anabolizması üzerinde etkileri olduğu bilinen; hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılan 3-hidroksi-3-metilgluteril-koenzim A (HMG-CoA) redüktaz inhibitörleridir. TME'deki inflamasyonu azalttığı ve kondil gelişimini olumsuz etkilemediği belirtilmiş bu sebeple dejeneratif eklem hastalıklarında kortikosteroid yerine uygulanması önerilmiştir (19,92). Bununla birlikte simvastatinin kondil kırıkdağında koruyucu bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (92).

Holwegner ve ark. (19), genç sıçanlarda tek doz intraartiküler CFA uygulanması sonrası, tedavi gruplarındaki hayvanlara CFA enjeksiyonu ile aynı anda intraartiküler triamsinolon, simvastatin ve triamsinolon + simvastatin uygulamışlardır. Bu şekilde tedavilerin TME üzerindeki koruyucu etkisini incelemek istemişlerdir. Mikro-CT ölçümlerinde lineer kondil genişliği steroid grubunda diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Kemik yoğunluğu yalnızca CFA uygulanan grupta en yüksektir. TME-OA'da intraartiküler steroid tedavisinin genç sıçanlarda kondil gelişimini sekteye uğrattığı, lokal simvastatin uygulamasının normal kondil gelişimini koruduğu sonucuna varılmıştır.

George ve ark. (92), genç sıçanlarda intraartiküler CFA ile aynı anda intraartiküler 0,15 mg triamsinolon, 0,1 mg veya 0,5 mg simvastatin enjeksiyonu yapmışlardır. Hayvanları 28 gün sonra sakrifiye etmişler ve TME dokularını histolojik olarak incelemişlerdir. Retrodiskal dokulardaki inflamasyon skorları OA grubuna göre tüm tedavi gruplarında düşük bulunmakla beraber yalnız yüksek doz (0.5mg) simvastatin uygulamasında istatistiksel olarak anlamlı düşüş sağlanmıştır. Araştırmada simvastatinin triamsinolona göre antiinflamatuvar etkisinin daha fazla olduğu vurgulanmıştır. Bununla beraber hiç bir tedavinin kırıkdağdaki prekondroblast, kondroblast ve hipertrofik tabakalarda anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı

belirtilmiştir. Sonuç olarak simvastatin kondil kıkırdığı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip değildir.

Güncel yaklaşımlar içerisinde bulunan TZP enjeksiyonunun NF-KB aktivasyonunu engelleyerek IL-1 $\beta$ 'nin indüklediği inflamatuvar süreci inhibe ettiği ve böylece kıkırdak dejenerasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (77). Kütük ve ark. (111), cerrahi olarak TME'de defekt oluşturdukları tavşanların eklemine aynı seans TZP uygulamışlar ve bu şekilde TZP'nin TME tamir ve rejenerasyonundaki etkisini incelemişlerdir. Dört hafta sonra hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Işık mikroskobu incelemesinde TZP grubundaki kemik rejenerasyonu anlamlı derecede yüksektir. Bununla beraber kıkırdak ve bağ doku formasyonunda anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Araştırmada TZP'nin osteojenik etkisi vurgulanmıştır.

Temporomandibular eklemdaki yapım ve yıkım faaliyetleri arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşan oksidatif stresin, dejeneratif eklem hastalıkları üzerinde önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir (55,102,112). Etöz ve ark. (96) TME'de ağrı ve disfonksiyon şikayeti bulunan TMD hastalarına artrosentez uygulamışlar; hastaların sinoviyal sıvılarındaki total oksidan durumu (TOS) ve total antioksidan kapasitesini (TAC) değerlendirmişlerdir. TAC değerleri TME'de ağrıyla beraber disfonksiyonu olan hastalarda anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca kadın hastalarda erkeklere göre TAC değerlerinin düşük olduğu saptanmıştır. Araştırmada oksidatif değişikliklerin TME'deki ağrı ve disfonksiyon üzerinde rolü olduğu gösterilmiş ve antioksidan ajanların TME'ye lokal olarak uygulanması önerilmiştir.

Bu güne kadar uygulanmış tedavi yöntemleri TME-OA'nın semptom ve şikayetlerini tamamen ortadan kaldırmada tam bir çözüm sunamamıştır. Mevcut durumda TME-OA'daki inflamasyonu azaltacak, katabolik prosesi baskılayacak, hem kıkırdak hem kemik gelişimini olumlu yönde etkileyecek bir tedavi edici ajana ihtiyaç duyulmaktadır.

Resveratrol (trans-3-4-5-trihidroksitilben), üzüm kabuğu, kırmızı şarap, yer fıstığı ve Polygonum cuspidatum bitkisinin kök ekstresinde yoğun konsantrasyonda bulunan, antifungal özelliği bilinen, dayanıklılık mekanizmasının oluşturulması için bitki tarafından üretilen polifenolik doğal bir antioksidandır (22,23). Resveratrol biyolojik olarak oldukça geniş bir aktiviteye sahiptir. Resveratrolün antioksidatif, antiinflamatuvar,

antiapoptotik, analjezik, osteojenik, immun düzenleyici, antikanser, kardiyoprotektif ve nöroprotektif etkileri olduğu bilinmektedir (22-26,79,117-120).

Oral alımda resveratrolün toksik doz sınırı yüksektir. Resveratrolün günlük 5 g'a kadar alımı güvenli bulunmuştur (113). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada 28 gün boyunca intragastrik gavaj yoluyla verilen 3g/kg resveratrolün sıçanların böbreklerinde toksisiteye neden olduğu bildirilmiştir (114). Başka bir araştırmada ise sıçanlara 28 gün boyunca 20mg/kg/gün resveratrol verilmiş ve hayvanlarda hiç bir toksik etki oluşmadığı bildirilmiştir (115). Bu doz ortalama bir bardak kırmızı şarapta bulunan resveratrol konsantrasyonunun 1000 katıdır. Ayrıca uzun dönem klinik çalışmalarda resveratrolün bildirilen bir yan etkisi yoktur (116).

Resveratrolün OA patogeneğinde önemli rol oynayan COX-2, IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi katabolizma ile ilgili yapıları (NF-KB aktivasyonunu engelleyerek) inhibe ettiği; insan hücre kültürü çalışmalarında gösterilmiştir (27,29-32). Ayrıca resveratrolün antiinflamatuvar ve antiapoptotik aktiviteleri sayesinde kondroprotektif etki gösterdiği *in vitro* çalışmalarla kanıtlanmıştır (27,28). Resveratrolün antiinflamatuvar etkinliğini gösteren *in vivo* çalışmalar da mevcuttur (33,34,83,90,91,121). Resveratrol bir anti-TNF- $\alpha$  molekülü olan endojen antiinflamatuvar SIRT-1'i aktive ederek NF-KB transkripsiyon aktivitesini bloke eder, katabolik faaliyetlerde önemli rolü olan HIF-2 $\alpha$ 'yı baskılar (34) ve fibroblastlarda TNF- $\alpha$  indüklü inflamasyonu inhibe eder (83). Resveratrolün SIRT-1 proteinini aktive etmesi, aynı zamanda antiapoptotik ve antioksidatif etkilerinin göstergesidir (89).

Çalışmamız TME-OA tedavisinde resveratrolün antiinflamatuvar, antiapoptotik, antioksidatif, kondroprotektif ve osteojenik aktiviteleriyle; iyileşmeye etkisi olup olmadığının belirlenmesi amacıyla planlandı. Çalışmada deneysel olarak TME-OA oluşturulan erkek Wistar sıçanlarda sinoviyal inflamasyon, eklem kıkırdağı, kondrosit apoptozu ve subkondral kemik üzerindeki etkisi incelenen resveratrolün; TME-OA tedavisinde potansiyel yeni bir tedavi ajanı olma ihtimalinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Literatürde farklı alanlarda resveratrol ile yapılmış çalışmaların olduğu görülmektedir. (18,22-26,79,116-120). Bununla birlikte OA tedavisinde resveratrolün etkinliğini değerlendiren çalışmalar azdır ve standart bir resveratrol uygulama protokolü



yoktur. Çalışmalarda resveratrol dozu, uygulama şekli, sıklığı ve süresi ile ilgili farklılıklar bulunmaktadır (33,34,90,91,121).

Chen ve ark. (90) sıçanların diz eklemlerinde intradermal CFA enjeksiyonu ile OA oluşturmuşlardır. Tedavi grubuna enjeksiyondan sonraki 12. ve 28. günler arasında intragastrik gavajla her gün 5 mg/kg selekoksib, 10 veya 50 mg/kg resveratrol verilmiş ve hayvanlar 28. günde sakrifiye edilmişlerdir. Histolojik incelemenin yanında serumda PGE2, sinoviyal dokularda lenfosit ve COX-2 protein ekspresyonuna da bakılmıştır. Resveratrolün sinoviyal hiperplazi ve pannus formasyonunu inhibe ettiği, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu, COX-2 protein ekspresyonunu ve serumdaki PGE2 konsantrasyonunu anlamlı derecede düşürdüğü rapor edilmiştir. Selekoksib için de sonuçlar benzer şekilde bulunmuştur. Aynı deney modeli ile yapılan başka bir araştırmada (91), oral alınan resveratrol (10 mg/kg) ve adjuvan indüklü artrit modeli karşılaştırılmıştır. Immunohistokimyasal incelemede resveratrolün mRNA ekspresyonunu inhibe ederek sinovisitlerdeki artmış IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  seviyelerini düşürdüğü rapor edilmiştir. Ayrıca resveratrol tedavi grubunda vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonu da anlamlı derece düşük bulunmuştur (91). Çalışmalarda resveratrolün inflamatuvar sitokin ekspresyonunu baskıladığı ve histolojik olarak OA'da inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. Bizim araştırmamızın sonuçları da benzer şekildedir. Resveratrol uygulanan TME-OA tedavi gruplarında sinoviyal membran hiperplazisi ve subsinoviyal bölge inflamasyonunda azalma tespit edilmiştir. Yine inflamasyon göstergelerinden olan artiküler disk kalınlığındaki artış, tedavi gruplarında belirgin azalma göstermiştir.

Wahba ve ark. (121) çalışmalarında oral resveratrol, fenofibrat, deksametazon ve metotreksat etkinliklerini karşılaştırmışlardır. Dişi Wistar sıçanların diz eklemlerine intradermal CFA enjeksiyonu yapılmış ve ilaçlar 13.-19. günler arasında tedavi gruplarına oral verilmiştir. Hayvanlar 20. Günde sakrifiye edilmiştir. Kan, dalak ve eklem örneklerinin histopatolojik incelemesi ile beraber immunohistokimyasal incelemede; serum romatoid faktor, MMP-3, kartilaj oligometrik matriks protein, immunoglobulin G, antinuklear antibody, TNF- $\alpha$ , IL-10, myeloperoksidaz ve C-reaktif protein seviyeleri değerlendirilmiştir. Ayrıca oksidatif stres biyobelirteçlerinden malondialdehit ve glutatyona bakılmıştır. Tüm belirteçlerde düşüş olmakla birlikte tedavi grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Yalnız resveratrol grubundaki

serum TNF- $\alpha$  değeri diğer tedavi gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Resveratrolün bu etkisinin bir anti-TNF- $\alpha$  molekülü olan endojen antiinflamatuvar SIRT-1'i uyarmasıyla ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Resveratrol OA'da inflamasyonu baskılamıştır. Bizim alışmamızda da inflamasyon bulguları ve skorları tedavi gruplarında artrit grubuna göre belirgin şekilde azalma göstermiştir. Ayrıca artrit grubunda görülen diskteki inflamasyon kaynaklı kalınlaşma tedavi gruplarında anlamlı ölçüde azalmıştır.

Resveratrolün oral biyoyararlanımının düşük olduğu tespit edilmiştir (80). Ayrıca oral alınan resveratrol barsaktaki bakteriler tarafından da metabolize edilir. Bu yüzden oral resveratrolün doza bağlı etkinliğini belirlemek zordur (122). Çalışmamızda intra-artiküler resveratrol uygulamasının hedef dokudaki biyoyararlanımı arttıracadı dşnlmştir. Bununla beraber resveratrolün intraartiküler uygulandığı çalışmalar sınırlıdır (33,34).

Elmalı ve ark. (33) tavşanların diz eklemlerinde cerrahi yolla (n çapraz bağ transeksyonu ile) OA oluşturmuş ve günlük olarak iki hafta boyunca DMSO içinde çözülmüş resveratrol (10  $\mu$ mol/kg veya 22,8 mg) enjeksiyonu uygulamışlardır. Son enjeksiyondan bir hafta sonra hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Kıkırdak dokuları ve sinoviyum histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Sinoviyal inflamasyon skorlarında anlamlı bir değişiklik bulunmamasına rağmen kıkırdak destrüksiyonu resveratrol tedavi grubunda anlamlı derecede azalmıştır. ECM'deki PG kaybı da kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. OA'nın başlangıç aşamalarında intraartiküler uygulanacak resveratrolün, kıkırdaktaki erozyon şiddetini azaltacadı sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamızın sonuçları da bunu destekler niteliktedir: Sinoviyal inflamasyon, tedavi gruplarında CFA grubuna göre azdır ama RES(Y) grubunda sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bununla birlikte tedavi grupları arasındaki fark çok azdır. Buna rağmen kıkırdak kalınlığı resveratrol gruplarında anlamlı derecede yüksektir. Bu durum TUNEL sonuçları ile de gösterilen; resveratrolün kondrositler üzerindeki antiapoptotik ve kondroprotektif etkisi ile açıklanabilir.

Li ve ark. (34) intraartiküler resveratrolün OA kıkırdağındaki SIRT-1, HIF-2 $\alpha$  ve katabolik faktörler üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Farelerin diz eklemlerinde cerrahi yolla (medial menisküs destabilizasyonu ile) OA oluşturulduktan sonraki dördüncü ve sekizinci haftalar arasında, haftalık olarak toplam dört doz yüksek doz

(100 µmol/8 µl) ve düşük doz (10 µmol/8 µl) resveratrol uygulaması yapılmıştır. Resveratrol DMSO içinde çözülmüştür. Son enjeksiyondan bir hafta sonra hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Kıkırdak, kalsifiye kıkırdak ve subkondral kemik tabakaları histopatolojik olarak incelenmiştir. İmmunohistokimyasal incelemede Tip II kollajen biyobelirteci (COL II), iNOS, MMP-13, SIRT-1, ve HIF-2α seviyelerine bakılmıştır. Kıkırdak kalınlığı OA grubuna göre yüksek doz resveratrol grubunda anlamlı derecede artmıştır. Kalsifiye kıkırdak ve subkondral kemik kalınlığı, yüksek doz resveratrol grubunda hiç bir cerrahi uygulanmayan kontrol grubuna yakın sonuçlar vermiştir. İntraartiküler yüksek doz resveratrol, OA kıkırdağındaki iNOS ve MMP-13 pozitif kondrosit sayısını anlamlı derecede azaltmıştır. Ayrıca kıkırdaktaki COL II ekspresyonunu restore etmiştir. Yine yüksek doz resveratrol grubundaki örneklerde SIRT-1 yoğun, HIF-2α pozitif kondrositler nadir olarak görülmüştür. Resveratrol katabolik faaliyetler ve HIF-2α inhibisyonundaki etkisini SIRT-1 üzerinden göstermiştir. Ayrıca resveratrolün kıkırdak kalınlığını arttırmakla beraber subkondral kemik yapısını da koruduğu ispatlanmıştır. Çalışmamızın sonuçları Li ve ark.'nın (34) sonuçlarını desteklemektedir. Bizim araştırmamızda da resveratrol tedavi gruplarında kıkırdak kalınlığı anlamlı ölçüde artmıştır. Ayrıca subkondiler kemik iliği ve trabeküler kemik morfolojisinin resveratrol tedavi gruplarında CFA grubuna göre daha düzgün yapıda olduğu görülmüştür. Bununla birlikte kondil kıkırdağı, sinoviyal membran ve periartiküler dokulardaki MMP-13 ekspresyonunun; resveratrol tedavi gruplarında CFA grubuna göre belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir.

Genel olarak OA çalışmalarının diz ekleminde uygulandığı görülmektedir (33,34,90,91,121). Literatürde TME'ye intraartiküler uygulanan resveratrolün TME üzerindeki etkisini inceleyen bir çalışma yoktur. TME anatomik ve histolojik olarak birçok özelliği ile vücuttaki diğer sinoviyal eklemlerden farklıdır. Ayrıca çiğneme fonksiyonu sırasında TME'ye gelen kuvvetler, genel vücut hareketleri sırasında diz eklemine gelen kuvvetlerden farklıdır. Bununla beraber araştırmalarda uygulama yapılan diz eklemi TME'ye göre daha geniş bir alana sahiptir. Ayrıca TME enjeksiyonlarında enjeksiyon üst eklem boşluğuna yapılmakta ve enjekte edilen ilacın alt eklem boşluğuna difüzyon yoluyla etki etmesi beklenmektedir. Biz bu çalışmada sıçan TME'si üzerinde araştırma yapmayı tercih ettik.

Sıçan TME'sine gözün arka kenarından anteroposterior yönde girilerek enjeksiyon yapılan çalışmalar mevcuttur (72). Bizim çalışmamızda ise hem gözde hasar oluşturma ihtimalinin elenmesi hem TME'ye ulaşımın daha kolay olması hem de insan TME'sine yapılan enjeksiyon yaklaşımına benzerlik göstermesi nedeniyle Spears ve ark.'nın uyguladığı enjeksiyon modeli örnek alınmıştır (2,68).

Resveratrolün TME-OA tedavisinde uygulanan standart bir tedavi protokolü mevcut değildir. Çalışmamızda yüksek doz (1 mg/80 µl) ve düşük doz (100 µg /80 µl) olmak üzere iki farklı doz resveratrol enjeksiyon protokolü hem kendi aralarında hem de kontrol ve hastalık grupları ile karşılaştırılarak TME-OA üzerindeki iyileştirici etkileri incelenmiştir. İntraartiküler uygulanacak resveratrol dozu, daha önce fareler (34) ve tavşanlar (33) üzerinde yapılan benzer çalışmalar baz alınarak belirlenmiştir. Ayrıca Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı ile konsültasyon yapılmıştır.

Osteoartrit tedavisi için intraartiküler resveratrolle yapılan çalışmalarda; Elmalı ve ark. (33) tavşanların diz eklemine iki hafta boyunca her gün toplam 14 doz, Li ve ark. (34) farelerin diz eklemlerine bir hafta ara ile toplam dört doz resveratrol enjeksiyonu yapmışlardır. Literatürde, TME-OA tedavisinde en çok intraartiküler uygulanan ilaçlardan olan HA ile de çeşitli sayılarda ve haftalık enjeksiyon şeklinde yapılmış çalışmalar mevcuttur. Duygu ve ark. (15) tavşanlarda bir hafta ara ile toplam üç doz, Lemos ve ark. (17) sıçanlarda bir hafta ara ile toplam üç doz, Bjornland ve ark. (16) insanlarda bir hafta ara ile toplam iki doz TME içine HA enjeksiyonu yapmışlardır. Mevcut araştırmaları referans alarak bu çalışmada; hem ilacın yüksek konsantrasyonda ve yeterli sürede etkinliğini sağlamak hem de eklem hasarı riskinden korunmak için resveratrolün bir haftalık aralıklarla üç hafta TME içi enjeksiyonu yeterli bulunmuştur. Yedi günden daha az aralıklarla yapılacak intraartiküler enjeksiyonların; iğne penetrasyonundan kaynaklı eklem hasarı riskini arttıracığı düşünülmüştür.

Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde etmek amacıyla kontrol grubunda beş adet, diğer gruplarda 10'ar adet olacak şekilde toplam 35 adet sıçan randomize olarak dört gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundaki beş adet sıçanın çift taraflı TME'leri diğer gruplardaki sıçanların unilateral olarak sağ TME'leri çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol ve hastalık grubuna, tedavi gruplarına uygulanan resveratrol hacmi kadar izotonik NaCl enjeksiyonu yapılmıştır. Bu uygulama, doku gerilimine ve iğne

travmasına bağlı inflamasyonu dengeleyerek gruplar arasındaki farklılığın net olarak değerlendirilmesine olanak sağlamıştır. Çalışmamızda anestezi komplikasyonları sebebiyle CFA ve tedavi gruplarından ikişer adet, işlem yapılmamış kontrol grubundan ise bir adet hayvan çalışmadan çıkarılmıştır. Son durumda kontrol grubunda dört, CFA ve tedavi gruplarında sekizer adet sıçan ile çalışma bitirilmiştir. Gruplarda kalan hayvan sayıları istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasına engel teşkil etmediğinden sayı arttırımı yapılmamıştır.

Osteoartrit kıkırdağı; erken dönemde kıkırdakta şişme, kondrosit apoptozu ve kıkırdak fibrilasyonu ile karakterize olup ilerleyen dönemde apoptotik hücre ölümüne bağlı kıkırdak nekrozunun izlendiği ve açığa çıkan subkondral kemiğin erozyona uğradığı bilinmektedir (11,54). TME-OA patogenezi ve artiküler kıkırdak dejenerasyonu; proinflamatuvar sitokin ekspresyonu (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , RANKL), sinoviyal inflamasyon, MMP artışı, ECM sentezinin azalması ve kondrosit apoptozunu içermektedir (5,6). Disk yapısında da kalınlaşma, deformasyon, dejenerasyon gibi değişiklikler gözlenir (7,17). Literatürdeki TME-OA ile ilgili çalışmalarda histolojik değerlendirmenin yanı sıra kalitatif olarak inflamasyon skorlaması ile kıkırdak kalınlığı ölümü, disk kalınlığı ölümü, apoptotik kondrosit sayımı gibi kantitatif veriler de incelenmiştir (17,72,92,94,123). İmmunohistokimyasal inceleme ile inflamasyon ve katabolizma ile ilgili faktörleri araştıran çalışmalar da vardır (17,34,90,91,121).

Çalışmamızda TME-OA belirtisi ve iyileşmenin değerlendirilmesi amacıyla sinoviyum/sinoviyal membran, kondil kıkırdağı, artiküler disk yapısı ve subkondral kemik histolojik olarak incelenmiştir. Ayrıca artiküler disk kalınlığı da llmştr. İnfamasyon sınıflaması için inflamatuvar hücre infiltrasyonu değerlendirilmiştir. Bununla birlikte TME-OA'nın önemli histolojik bulgularından kıkırdak dejenerasyonunun göstergesi olan artiküler kıkırdak kalınlığı llmş ve immunohistokimyasal incelemede apoptotik kondrosit sayımı (TUNEL ile) değerlendirilmiştir. Tip II kollajeni bölmede etkili olan ve bu yüzden eklem kıkırdağının yıkımından primer olarak sorumlu tutulan MMP-13 ekspresyonuna bakılmıştır. Kondiler kıkırdak dejenerasyonu, kıkırdak kalınlığında azalma, artiküler disk yapısında bozulma, disk kalınlığında artış, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, retrodiskal dokulardaki vazodilatasyon, vaskülerizasyon artışı, sinoviyumdaki hiperplazi, subsinoviyal dokuda ödem ve ayrılma gibi inflamasyon bulguları, subkondiler kemikte trabeküler kemik

yapısındaki bozulmalar, kondiler kıkırdak kalınlığındaki azalma ve apoptotik kondrosit sayısındaki artış TME-OA bulgusu olarak kabul edilmiştir.

Çalışmadaki başlangıç hipotezimiz intraartiküler uygulanan resveratrolün antiinflamatuvar, antiapoptotik, antioksidatif, osteojenik etki gibi biyolojik aktiviteleri sayesinde; TME-OA'daki inflamatuvar süreci ve kondral katabolik prosesi baskılayarak antiinflamatuvar ve kondroprotektif faaliyetlere neden olabileceğidir. Literatürde resveratrolün OA üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmaların az olması ve TME-OA tedavisinde intraartiküler resveratrol ile yapılan bir çalışma bulunmaması, sonuçların karşılaştırılmasını ve sağlıklı bir değerlendirme yapılmasını güçleştirmektedir.

Resveratrolün TME-OA üzerindeki etkinliğini histopatolojik, histomorfometrik ve immunohistokimyasal olarak değerlendirdiğimiz çalışmada; tedavi grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmamasına rağmen, deneysel OA grubuna göre kondil ve subkondiler kemik yapısında düzelleme, kondiler kıkırdak kalınlığında artış, sinoviyal membran hiperplazisi ve subsinoviyal bölge inflamasyonunda azalma tespit edilmiştir. Üç bölgeden yapılan artiküler disk kalınlığı ölçümlerinde; orta hat ve posterior bölgelerde anlamlı bulunan diskteki inflamasyon kaynaklı kalınlaşmanın, tedavi gruplarında belirgin şekilde azaldığı görülmüştür. Bununla birlikte yüksek doz tedavi grubundaki düşük inflamasyon skorları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Tedavi gruplarında görülen kondiler kıkırdak kalınlığındaki artışın kontrol ve deneysel OA grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum resveratrolün fibroblastlar ve kondrositler üzerindeki antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkileri sayesinde kondral katabolik faaliyetleri baskılaması ve kondroprotektif etkisi ile kondrosit rezervini arttırmasına bağlanabilir. Çalışmamızdaki apoptotik kondrosit sayımı (TUNEL) sonuçları bu düşüncüyü desteklemektedir. Resveratrol tedavi gruplarındaki apoptotik indeks deneysel OA grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca kıkırdak destrüksiyonundan sorumlu olan MMP-13 ekspresyonu tedavi gruplarında belirgin azalma göstermiştir. Resveratrol antioksidatif etkinliği sayesinde de; inflamatuvar ve katabolik faaliyetler sonucu açığa çıkan serbest radikalleri baskılayarak, TME'de iyileşmeye daha uygun bir ortam sağlayabilir. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda toksik doz oranının çok yüksek bulunması ve uzun dönem klinik kullanımda bilinen spesifik bir yan etkisinin olmaması sebebiyle, resveratrolün lokal eklem içi uygulamalarda da güvenli bir şekilde

kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Resveratrolün eklem kıkırdağı üzerindeki bilinen olumlu etkilerine rağmen, TME’de uzun dönem sonuçları yansıtan daha fazla kontrollü klinik ve hayvan çalışmasına ihtiyaç vardır.



## 8. SONUÇLAR

1. Histopatolojik, histomorfometrik ve immunohistokimyasal incelemelerde kontrol grubu ve artrit grubu karşılaştırıldığında; sıçan TME'sinde 50 µl CFA ile deneysel TME-OA modelinin başarıyla oluşturulduğu görülmüştür.

2. Histopatolojik incelemede yüksek ve düşük doz resveratrol tedavi gruplarında artrit grubuna göre kondil yapısında düzelme, kondiler kıkırdak kalınlığında artış, sinoviyal membran hiperplazisi ve subsinoviyal bölge inflamasyonunda azalma tespit edilmiştir. Resveratrol TME-OA'daki inflamasyonun kıkırdak ve sinoviyum üzerindeki etkilerini geri çevirmiştir.

3. İnflamasyon skorlarına bakıldığında; yüksek ve düşük doz resveratrol tedavileri inflamasyon skorlarını artrit grubuna göre belirgin şekilde azaltmıştır. İnflamasyon skorlarındaki azalma RES(D) tedavi grubunda anlamlı, RES(Y) tedavi grubunda anlamsız bulunmuştur ( $p=0,037$ ;  $p=0,066$ ). Bununla birlikte tedavi grupları arasındaki fark çok azdır ve istatistiksel olarak anlamsızdır ( $p=0,805$ )

4. Resveratrolün subkondral kemik üzerindeki etkisi incelendiğinde; tedavi gruplarında artrit grubuna göre trabeküler kemik ve kemik iliği kavitelerinin morfolojisinde düzelme gözlenmiştir. Resveratrol subkondral kemik üzerinde koruyucu etki göstermiştir.

5. Artiküler disk kalınlığı ölçümleri incelendiğinde; diskin anterior bölgesinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Artrit grubunda görülen orta hattaki kalınlık artışı, tedavi gruplarında belirgin azalma göstermiştir. Aradaki fark çok az olmasına rağmen sonuçlar orta hat için RES(D) grubunda anlamlı, RES(Y) grubunda anlamsız bulunmuştur ( $p=0,021$ ;  $p=0,056$ ). Posterior bölgede ise diskteki inflamasyon kaynaklı kalınlaşma RES(D) ve RES(Y) tedavi gruplarında artrit grubuna göre anlamlı düzeyde azalmıştır ( $p=0,003$ ;  $p=0,001$ ).

6. Tedavi gruplarının apoptotik indeksleri artrit grubuna göre anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ( $p=0,002$ ;  $p=0,018$ ). Tedavi grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır



( $p=0,464$ ). Resveratrol TME-OA'da kıkırdak dejenerasyonunun göstergesi olan kondrosit apoptozunu inhibe etmiştir ve kondrosit rezervini arttırmıştır.

7. Kondiler kıkırdak kalınlığı ölçümleri incelendiğinde; RES(Y) ve RES(D) tedavi gruplarındaki kıkırdak kalınlığında, artrit ve kontrol grubuna göre anlamlı artış tespit edilmiştir. [RES(Y) için  $p=0,001$ ;  $p=0,010$  RES(D) için  $p=0,004$ ;  $p=0,027$ ]. Tedavi grupları arasındaki fark anlamsız bulunmuştur ( $p=0,712$ ). Resveratrol antiinflamatuvar ve antiapoptotik aktiviteleriyle kondrosit rezervini arttırmış ve kondroprotektif etki göstermiştir.

8. Kıkırdaktaki Tip II kollajeni yıkan MMP-13 immunreaktivitesi tedavi gruplarında artrit grubuna göre belirgin azalma göstermiştir.

9. Resveratrolün TME-OA tedavisinde uzun dönem sonuçlarını yansıtan kontrollü klinik ve hayvan çalışmalarına ihtiyaç vardır.

## 9. KAYNAKLAR

1. Wang XD, Zhang JN, Gan YH and Zhou YH. Current understanding of pathogenesis and treatment of TMJ osteoarthritis. *J Dent Res.* 2015;94:666-673.
2. Wang XD, Kou XX, He DQ, Zeng MM, Meng Z, Bi RY, Liu Y, Zhang JN, Gan YH and Zhou YH. Progression of cartilage degradation, bone resorption and pain in rat temporomandibular joint osteoarthritis induced by injection of iodoacetate. *PLoS One.* 2012;7:e45036.
3. Bagheri SC, Bell RB, Khan HA. *Current Therapy in Oral and Maxillofacial Surgery.* Elsevier Saunders, Missouri; 1114, 2012.
4. Mercuri LG. Are we getting out of TMJ surgery? *J Oral Maxillofac Surg.* 2006;64:996.
5. Aigner T, Soeder S, Haag J. IL-1b and BMPs interactive players of cartilage matrix degradation and regeneration. *Eur Cell Mater.* 2006;12:49–56.
6. Loeser RF, Olex AL, McNulty MA. Disease progression and phasic changes in gene expression in a mouse model of osteoarthritis. *PLoS One.* 2013;8:e54633.
7. Tanaka E, Detamore MS, Mercuri LG. Degenerative disorders of the temporomandibular joint: etiology, diagnosis, and treatment. *J Dent Res.* 2008;87:296-307.
8. 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.* 20014;14:6-15.
9. Mercuri LG. Osteoarthritis, osteoarthrosis, and idiopathic condylar resorption. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2008;20:169-183.
10. Dionne, R. A. Pharmacologic treatments for temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;83(1),134–142.
11. Marcani RD, Carlson ER, Braun TW. *Oral and Maxillofacial Surgery Vol. II. Temporomandibular Disorders.* 2nd ed. Missouri: Saunders Elsevier, 849-960, 2009.
12. Mujakperuo, H.R., Watson, M., Morrison, R., & Macfarlane, T.V. Pharmacological interventions for pain in patients with temporomandibular disorders. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;Cd004715.

13. Mountziaris, P. M., Kramer, P. R., & Mikos, A. G. Emerging intra-articular drug delivery systems for the temporo-mandibular joint. *Methods*. 2009;47(2):134–140.
14. El-Hakim IE, Elyamani AO. Preliminary evaluation of histological changes found in a mechanical arthropatic temporomandibular joint (TMJ) exposed to an intra-articular Hyaluronic acid (HA) injection, in a rat model. *J Craniomaxillofac Surg*. 2011;39(8):610-4.
15. Duygu G, Guler N, Kurkcu M. The effects of high molecular weight hyaluronic acid (Hylan G-F 20) on experimentally induced temporomandibular joint osteoarthritis: part II. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2011; 40(12):1406-13.
16. Bjornland T, Gjaerum AA, Moystad A. Osteoarthritis of the temporomandibular joint: an evaluation of the effects and complications of corticosteroid injection compared with injection with sodium hyaluronate. *J Oral Rehabil*. 2007;34(8): 583-9.
17. Effects of high molecular weight hyaluronic acid on induced arthritis of the temporomandibular joint in rats. Lemos GA1, Rissi R2, Pimentel ER3, Palomari ET4. *Acta Histochem*. 2015;117(6):566-75.
18. Knudsen M, Bury M, Holwegner C, Reinhardt AL, Yuan F, Zhang Y, Giannini P, Marx DB, Wang D, Reinhardt RA. Effect of dexamethasone prodrug on inflamed temporomandibular joints in juvenile rats *Arthritis Res Ther*. 2015;24;17:267.
19. Holwegner C, Reinhardt AL, Schmid MJ, Marx DB, Reinhardt RA. Impact of local steroid or statin treatment of experimental temporomandibular joint arthritis on bone growth in young rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2015;147(1):80-8.
20. Idle MR, Lowe D, Rogers SN, Sidebottom AJ, Speculand B, Worrall SF. UK temporomandibular joint replacement database: report on baseline data. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2014;52:203-207.
21. 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;4:CD007261
22. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*. 1992;339:1523–1526.
23. Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the ‘French paradox’? *Eur J Endocrinol*. 1998;138:619–620.

24. Bereswill S, Muñoz M, Fischer A, Plickert R, Haag LM, Otto B, Kühl AA, Loddenkemper C, Göbel UB and Heimesaat MM: Anti-inflammatory effects of resveratrol, curcumin and simvastatin in acute small intestinal inflammation. *PLoS One*. 2010;5:e15099.
25. Tyagi A, Gu M, Takahata T, Frederick B, Agarwal C, Siriwardana S, Agarwal R and Sclafani RA: Resveratrol selectively induces DNA Damage, independent of Smad4 expression, in its efficacy against human head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2011;17:5402-5411.
26. Shindler KS, Ventura E, Dutt M, Elliott P, Fitzgerald DC and Rostami A: Oral resveratrol reduces neuronal damage in a model of multiple sclerosis. *J Neuroophthalmol*. 2010;30:328-339.
27. Csaki C, Mobasheri A, Shakibaei M. Synergistic chondroprotective effects of curcumin and resveratrol in human articular chondrocytes: inhibition of IL-1 beta induced NF-kappaB-mediated inflammation and apoptosis. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(6):R165.
28. Bhurman C, Popper B, Aggarwal BB, Shakibaei M. Resveratrol downregulates inflammatory pathway activated lymphotoxin  $\alpha$  (TNF- $\beta$ ) in articular chondrocytes: Comparison with TNF- $\alpha$ . *PloS One*. 2017;12(11):e186993.
29. Csaki C, Keshishzadeh N, Fischer K. Regulation of inflammation signalling by resveratrol in human chondrocytes in vitro. *Biochem Pharmacol*. 2008;75:677-687.
30. Shakibaei M, Csaki C, Nebrich S. Resveratrol suppresses interleukin-1beta-induced inflammatory signaling and apoptosis in human articular chondrocytes: potential for use as a novel nutraceutical for the treatment of osteoarthritis. *Biochem Pharmacol*. 2008;76:1426.
31. Tian J, Chen JW, Gao JS, Li L, Xie X. Resveratrol inhibits TNF- $\alpha$ -induced IL-1 $\beta$ , MMP-3 production in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes via modulation of PI3kinase/Akt pathway. *Rheumatol Int*. 20013;33:1829-1835.
32. Holmes-McNary M, Baldwin AS Jr. Chemopreventive properties of trans-resveratrol are associated with inhibition of activation of the IkappaB kinase. *Cancer Res*. 2000;1;60(13):3477-3483.
33. Elmali N, Baysal O, Harma A, Esenkaya I and Mizrak B: Effects of resveratrol in inflammatory arthritis. *Inflammation*. 2007;30:1-6.

34. Li W1, Cai L1, Zhang Y2, Cui L3, Shen G4. Intra-articular resveratrol injection prevents osteoarthritis progression in a mouse model by activating SIRT1 and thereby silencing HIF-2 $\alpha$ . *J Orthop Res.* 2015;33(7):1061-1070.
35. Miloro M, Ghali GE, Larsen PE, Waite PD. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery. Anatomy and pathophysiology of the temporomandibular joint.* 3rd. ed. People's Med. Pub. House, Shelton, 1033-1049, 2011.
36. Okeson JP. *Management of temporomandibular disorders and occlusions.* 7th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Mosby, 1-45, 2013.
37. Marcani RD, Carlson ER, Braun TW. *Oral and Maxillofacial Surgery Vol. II. Temporomandibular Disorders.* 2nd ed. Missouri: Saunders Elsevier, 801-815, 2009.
38. Laskin DM, Greene CS, Hylander WM. *TMDs An Evidence Base Approach to Diagnosis and Treatment. Anatomy and Function of the TMJ (Ed: Obrez A, Gallo LM).* Quintessence Publishing Co. Inc, Hanover Park, 35-53. 2006.
39. Koslin M. *Anatomy of The Temporomandibular Joint. Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2000;12(1):1-3.
40. Kuroda S, Tanimoto K, Izawa T, Fujihara S, Koolstra JH, Tanaka E. *Biomechanical and biochemical characteristics of the mandibular condylar cartilage. Osteoarthritis Cartilage.* 2009;17:1408-1415.
41. Alomar X, Medrano J, Cabratosa J, Clavero JA, Lorente M, Serra I, Monill JM, Salvador A. *Anatomy of the temporomandibular joint. Semin Ultrasound CT MR.* 2007;28:170-183.
42. Johansson AS, Isberg A. *The anterosuperior insertion of the temporomandibular joint capsule and condylar mobility in joints with and without internal derangement: a double-contrast arthrotomographic investigation. J Oral Maxillofac Surg.* 1991;49:1142-1148.
43. Yalçın S. *Dişhekimiğinde Temporomandibular Eklem Hastalarına Yaklaşım. No. K.Çekmece/İstanbul: 96. 2010.*
44. Laskin DM, Greene CS, Hylander WM. *TMDs An Evidence Base Approach to Diagnosis and Treatment. Functional Anatomy and Biomechanics of the Masticatory Apparatus (Ed: Hylander WM).* Quintessence Publishing Co. Inc, Hanover Park, 3-35. 2006.

45. Laskin DM, Greene CS, Hylander WM. TMDs An Evidence Base Approach to Diagnosis and Treatment. TMJ Disc Derangements (Ed: Stegenga B, de Bont LGM). Quintessence Publishing Co. Inc, Hanover Park, 125-137. 2006.
46. Cuccia AM, Caradonna C, Caradonna D. Manual therapy of the mandibular accessory ligaments for the management of temporomandibular joint disorders. *J Am Osteopath Assoc.* 2011;111:102-112.
47. Gallo LM. Modeling of temporomandibular joint function using MRI and jaw tracking Technologies Mechanics. *Cells Tissues Organs.* 2005;180(1):54-68.
48. De Rossi SS, Greenberg MS, Liu F, Steinkeler A. Temporomandibular disorders: evaluation and management. *Med Clin North Am.* 2014;98:1353-84. 87.
49. Machado LP, Nery Cde G, Leles CR, Nery MB, Okeson JP. The prevalence of clinical diagnostic groups in patients with temporomandibular disorders. *J Cranio.* 2009;27:194-199.
50. Peck CC, Goulet J-P, Lobbezoo F, Schiffman EL, Alstergren P, Anderson GC, De Leeuw R, Jensen R, Michelotti A, Ohrbach R, Peterson A, List T. Expanding the taxonomy of the diagnostic criteria for temporomandibular disorders. *J Oral Rehabil.* 2014;41:2-23.
51. Nazlıel HÇ, Hersek N, Özbek M. Ağız Dokuları ve Sık Görülen Ağız ve Diş Sorunları. İçinde: Temel Geriatri. Gökçe-Kutsal Y, Aslan D, Editörler, 1. Baskı. Ankara; 329-348 2007.
52. Hunter DJ, Felson DT. Osteoarthritis. *BMJ.* 2006;332(7542):639-642.
53. Onder ME, Tuz H, Kocyigit D, Kısınisci RS. Long-term results of arthrocentesis in degenerative temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107:1-5.
54. Dijkgraaf LC, de Bont LG, Boering G, Liem RS. The structure, biochemistry, and metabolism of osteoarthritic cartilage: a review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995; 53:1182-92.
55. Nitzan DW, Goldfarb A, Gati I, Kohen R. Changes in the reducing power of synovial fluid from temporomandibular joints with anchored disc. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002;60:735-740
56. Sambajon V et al: The effects of mechanical strain on synovial fibroblasts, *J Oral Maxillofac Surg.* 2003;61:707-712.

57. Sutton, S. The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis. *Vet. J.* 2009;179:10-24.
58. Evcik, D., and Babaoğlu, Ü. Osteoartrit etyopatogenezi. In *Tanıdan Tedaviye Osteoartrit*. M. Sarıdoğan, editor. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul 51-71, 2007.
59. Gu Z, Shibata T, Cao Z. Chondrocyte apoptosis in temporomandibular joints with disc displacement, *J Oral Maxillofac Surg.* 2002;60(9):1026-1031.
60. Bendele AM. Animal models of osteoarthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2001;1:363-376.
61. Herring SW. Animal models of TMJ research. *J. Musculoskel. Neuron Interact.* 2003;3(4):391-394.
62. Porto GG, Vasconcelos BC, Andrade ES, Silva-Junior VA. Comparison between human and rat TMJ: anatomic and histopathologic features. *Acta Cir Bras.* 2010;25(3):290-293.
63. Li W1, Cai L1, Zhang Y2, Cui L3, Shen G4. Intra-articular resveratrol injection prevents osteoarthritis progression in a mouse model by activating SIRT1 and thereby silencing HIF-2 $\alpha$  *J Orthop Res.* 2015;33(7):1061-1070.
64. Orajarvi M1, Hirvonen O, Yu SB, Liu X, Tiilikainen P, Wang M, Raustia A, Pirttiniemi P Effect of estrogen and altered diet hardness on the expression of estrogen receptor alpha and matrix metalloproteinase-8 in rat condylar cartilage. *J Orofac Pain.* 2011;25(3):261-268.
65. De Souza A1, ca Lde L, Ribela MT, Keeble JE, Costa SK, Muscará MN. Participation of peripheral tachykinin NK1 receptors in the carrageenan-induced inflammation of the rat temporomandibular joint. *Eur J Pain.* 2009;13(8):812-819.
66. Chaves HV1, Ribeiro RA, De Souza AM, Rodrigues Silva AA, Gomes AS, Vale ML, Bezerra MM, Brito GA. Experimental model of zymosan-induced arthritis in the rat temporomandibular joint: role of nitric oxide and neutrophils. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:707985.
67. Alves AC, Vieira R, Leal-Junior E, dos Santos S, Ligeiro AP, Albertini R, Junior J, de Carvalho P. Effect of low-level laser therapy on the expression of inflammatory mediators and on neutrophils and macrophages in acute joint inflammation. *Arthritis Research & Therapy.* 2013;15:R116.

68. Spears R, Dees LA, Sapozhnikov M, Bellinger LL, Hutchins B. Temporal changes in inflammatory mediator concentrations in an adjuvant model of temporomandibular joint inflammation. *J Orofac Pain*. 2005;19(1):34-40.
69. Kramer PR, Kerins CA, Schneiderman E, Bellinger LL. Measuring persistent temporomandibular joint nociception in rats and two mice strains. *Physiol Behav*. 2010;99(5):669-678.
70. Kameoka S, Kuroki Y, Honda K, Kijima N, Matsumoto K, Asano M, et al. Diagnostic accuracy of microcomputed tomography for osseous abnormalities in the rat temporomandibular joint condyle. *Dentomaxillofac Radiol*. 2009;38(7):465-469.
71. Kuroki Y, Honda K, Kijima N, Wada T, Arai Y, Matsumoto N, et al. In vivo morphometric analysis of inflammatory condylar changes in rat temporomandibular joint. *Oral Dis*. 2011;17(5):499-507.
72. Liqin Xu, Huilin Guo, Cheng Li, Jie Xu, Wei Fang, Xing Long A time-dependent degeneration manner of condyle in rat CFA-induced inflamed TMJ *Am J Transl Res*. 2016;8(2):556-567.
73. Wang XD, Kou XX, Mao JJ, Gan YH, Zhou YH. Sustained inflammation induces degeneration of the temporomandibular joint. *J Dent Res*. 2012;91(5):499-505.
74. Mazzetto MO, Da Silva MA, de Felicio CM. Effects of Oral Motor Exercises and Laser Therapy on Chronic Temporomandibular Disorders: A Randomized Study with Follow up. *Lasers Med. Sci*. 2016;31(5):945-954
75. El-Hakim IE, Abdel-Hamid IS, Bader A. Temporomandibular joint response to intraarticular dexamethasone injection following mechanical arthropathy: A histological study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2005;34:305-310.
76. Schindler C, Paessler L, Eckelt U, Kirch W. Severe temporomandibular dysfunction and joint destruction after intra-articular injection of triamcinolone. *J Oral Pathol Med*. 2005;34:184-188.
77. Van Buul GM, Koevoet WL, Kops N, Bos PK, Verhaar JA, Weinans H, Bernsen MR, Van Osch GJ. Platelet-rich plasma releasate inhibits inflammatory processes in osteoarthritic chondrocytes. *Am J Sports Med*. 2011;39:2362-2370.
78. Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *J Clin Lab Anal*. 1997;11:287-313.



79. Cottard CH, Nivet-Antoine V, Laguillier-Morizot C, Beaudoux JL. Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Mol Nutr Food Res*. 2010;54(1):7-16.
80. Walle T, Hsieh F, DeLegge MH. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab Dispos*. 2004;32:1377–1382.
81. Tak PP, Gerlag DM, Aupperle KR, van de Geest DA, Overbeek M, Bennett BL. Inhibitor of nuclear factor kappaB kinase beta is a key regulator of synovial inflammation. *Arthritis Rheum*. 2001;44(8):1897–907.
82. Holmes-McNary M, Baldwin AS Jr. Chemopreventive properties of trans-resveratrol are associated with inhibition of activation of the IkappaB kinase. *Cancer Res*. 2000;1;60(13):3477–83.
83. Zhu X, Liu Q, Wang M ve diğ. Activation of Sirt1 by resveratrol inhibits TNF-alpha induced inflammation in fibroblasts. *PLoS One*. 2011;6:e27081.
84. Casati MZ, Algayer C, Cardoso da Cruz G, Ribeiro FV, Casarin RC, Pimentel SP, Cirano FR. Resveratrol decreases periodontal breakdown and modulates local levels of cytokines during periodontitis in rats. *J Periodontol*. 2013;84(10):58-64.
85. Boissy P, Andersen TL, Abdallah BM, Kassem M, Plesner T, Delaisse JM. Resveratrol inhibits myeloma cell growth, prevents osteoclast formation, and promotes osteoblast differentiation. *Cancer Res*. 2005;65(21):9943-9952.
86. Casarin R, Casati M1, Pimentel SP, Cirano FR, Algayer M, Pires PR, et al. Resveratrol improves bone repair by modulation of bone morphogenetic proteins and osteopontin gene expression in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2014;43(7):900-906.
87. Uysal T, Gorgulu S, Yagci A, Karslioglu Y, Gunhan O, Sagdic D. Effect of resveratrol on bone formation in the expanded inter-premaxillary suture: early bone changes. *Orthod Craniofac Res*. 2011;14(2):80-87.
88. Athar M, Back JH, Tang X ve diğ. Resveratrol: a review of preclinical studies for human cancer prevention. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007;224:274-83.
89. Li J, Feng L, Xing Y, Wang Y, Du L, Xu C, Cao J, Wang Q, Fan F. Radioprotective and Antioxidant Effect of Resveratrol in Hippocampus by Activating Sirt1. *Int J Mol Sci*. 2014;15(4):5928-5939.
90. Chen X, Lu J, An M, Ma Z, Zong H, Yang J. Anti-inflammatory effect of resveratrol on adjuvant arthritis rats with abnormal immunological function via the

reduction of cyclooxygenase-2 and prostoglandin E2. *Molecular Medicine Reports*. 2014;9:2592-2598

91. Chen XY, Wang ZC, Li J, Liu XL and Sun Y. Regulation of synoviocyte activity by resveratrol in rats with adjuvant arthritis *Exp Ther Med*. 2013;6:172-176.

92. Effect of simvastatin injections on temporomandibular joint inflammation in growing rats. George MD1, Owen CM, Reinhardt AL, Giannini PJ, Marx DB, Reinhardt RA. *J Oral Maxillofac Surg*. 2013;71(5):846-853.

93. Kristensen KD, Stoustrup P, Kuseler A, Pedersen TK, Nyengaard JR, Hauge EM, Herlin T. Quantitative histological changes of repeated antigen-induced arthritis in the temporomandibular joints of rabbits treated with intraarticular corticosteroid. *J Oral Pathol Med*. 2008;37:437-744.

94. Luo Y, Zhang L, Wang WY, Hu QF, Song HP, Su YL, Zhang YZ Alendronate retards the progression of lumbar intervertebral disc degeneration in ovariectomized rats. *Bone*. 2013;55(2):439-448.

95. Milam SB, Aufdemorte TB, Sheridan PJ, Triplett RG, Van Sickels JE, Holt GR. Sexual dimorphism in the distribution of estrogen receptors in the temporomandibular joint complex of the baboon. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1987;64: 527-532.

96. Etöz OA, Akçay H, Neşelioğlu S, Erel Ö, Alkan A. Total antioxidant capacity and total oxidant status of synovial fluids in patients with temporomandibular joint pain and dysfunction. *Clin Oral Investig*. 2012;16(6):1557-1561.

97. Orajärvi M, Thesleff I, Hartikainen H, Raustia A, Pirttiniemi P. Effect of Estrogen and Food Hardness on Metabolism and Turnover of Condylar Cartilage. *J Oral Facial Pain Headache*. 2015;29(3):297-307.

98. Schek RM, Taboas JM, Hollister SJ, Krebsbach PH. Tissue engineering osteochondral implants for temporomandibular joint repair. *Orthod Craniofac Res*. 2005;8(4):313-319.

99. Harper RP, Kerins CA, McIntosh JE, Spears R., Bellinger LL. Modulation of the inflammatory response in the rat TMJ with increasing doses of complete Freund's adjuvant. *Osteoarthritis Cartilage*. 2001;9(7):619-624.

100. Harper RP, Kerins CA, Talwar R, Spears R, Hutchin B, Carlson DS, Mcintosh JE, Bellinger LL. Meal pattern analysis in response to temporomandibular joint inflammation in the rat. *J Dent Res*. 2000;79(9):1704-1711.

101. Kerins C1, Carlson D, McIntosh J, Bellinger L. A role for cyclooxygenase II inhibitors in modulating temporomandibular joint inflammation from a meal pattern analysis perspective. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(8):989-995.
102. Deauer N, Reilly JS, Seawright AA. Anti-inflammatory drugs inhibit degradation of equine synovial fluid induced by free radicals. *Aust Vet Sci.* 1991;68(12):403-405.
103. Kean WF, Buchanan WW. The use of NSAIDs in rheumatic disorders 2005: a global perspective. *Inflammopharm.* 2005;13(4):343-370.
104. Buttgereit, F., Burmester, G. R. and Simon, L. S. Gastrointestinal toxic side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2-specific inhibitors, *Am. J. Med.* 2001;110(Suppl. 3A):13S-19S.
105. Memis S, Candirli C, Kerimoglu G. Short term histopathological effects of GaAlAs laser on experimentally induced TMJ osteoarthritis in rabbits. *Braz Oral Res.* 2018;32:e90.
106. Knudsen M, Bury M, Holwegner C, Reinhardt AL, Yuan F, Zhang Y, Giannini P, Marx DB, Wang D, Reinhardt RA. Effect of dexamethasone prodrug on inflamed temporomandibular joints in juvenile rats. *Arthritis Res Ther.* 2015;17:267-274.
107. Magnani A, Rappuoli R, Lamponi S, Barbucci R. Novel polysaccharides hydrogels: characterization and properties. *Polym Adv Technol.* 2000;11:488e493.
108. Cascone P, Fonzi Dagger L, Aboh IV. Hyaluronic acid's biomechanical stabilization function in the temporomandibular joint. *J Craniofac Surg.* 2002;13(6):751-754.
109. Kim C, Lee B, Seo K, Park J, Lee J, Choi E, Hong J, Lee Y, Park J. Therapeutic effect of Hyaluronic acid on experimental osteoarthritis of Ovine temporomandibular joint. *J Vet Med Sci.* 2001;63(10):1083-1089.
110. Guarda-Nardini L, Stifano M, Brombin C, Salmaso L, Manfredini D. A one-year case series of arthrocentesis with hyaluronic acid injections for temporomandibular joint osteoarthritis. *Oral Surg. Oral Med Oral Pathol. Oral Radiol Endod.* 2007;103:14-22.
111. Kütük N, Baş B, Soyly E, Gönen ZB, Yılmaz C, Balcıgolu E, Özdamar S, Alkan A. Effect of platelet rich plasma on fibrocartilage and bone repair in temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014;72(2):277-284.

112. Milam SB, Zardeneta G, Schmitz JP. Oxidative stress and degenerative temporomandibular joint disease: a proposed hypothesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1998;56:214-123.
113. Patel K.R., Scott E., Brown V.A., Gescher A.J., Steward W.P., Brown K. Clinical trials of resveratrol. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2011;1215:161-169.
114. Crowell JA1, Korytko PJ, Morrissey RL, Booth TD, Levine BS. Resveratrol associated renal toxicity. *Toxicol Sci.* 2004;82(2):614-619.
115. Juan ME, Vinardell MP, Planas JM. The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *J Nutr.* 2002;132:257–260.
116. Tomé-Carneiro J, González M, Larrosa M, Yáñez-Gascón MJ, García-Almagro FJ, Ruiz-Ros JA, Tomás-Barberán FA, García-Conesa MT, Espín JC Grape resveratrol increases serum adiponectin and downregulates inflammatory genes in peripheral blood mononuclear cells: a triple-blind, placebo-controlled, one-year clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2013;27(1):37-48.
117. Yazir Y, Utkan T, Gacar N, Aricioglu F. Resveratrol exerts anti-inflammatory and neuroprotective effects to prevent memory deficits in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Physiol Behav.* 2015;138:297-304.
118. Yazir Y, Demirtaş Şahin T, Furat Rençber S, Gacar G, Halbutoğulları ZS, Utkan T, Aricioglu F. Restorative effect of resveratrol on expression of endothelial and neuronal nitric oxide synthase in cavernous tissues of chronic unpredictable mild stress-exposed rats: an impact of inflammation. *Int J Impot Res.* 2018;30(6):318-326.
119. Yazir Y, Utkan T, Şahin TD, Gocmez SS. Improvement of penile neurogenic and endothelial relaxant responses by chronic administration of resveratrol in rabbits exposed to unpredictable chronic mild stress. *Int J Impot Res.* 2018;30(4):163-170.
120. Gocmez SS, Şahin TD, Yazir Y, Duruksu G, Eraldemir FC, Polat S, Utkan T. Resveratrol prevents cognitive deficits by attenuating oxidative damage and inflammation in rat model of streptozotocin diabetes induced vascular dementia. *Physiol Behav.* 2019;201:198-207.
121. Wahba MG, Messiha BA, Abo-Saif AA. Protective effects of fenofibrate and resveratrol in an aggressive model of rheumatoid arthritis in rats. *Pharm Biol.* 2016;54(9):1705-1715.

122. Bode L.M., Bunzel D., Huch M., Cho G.S., Ruhland D., Bunzel M., Bub A., Franz C.M., Kulling S.E. In vivo and in vitro metabolism of trans-resveratrol by human gut microbiota. *Am. J. Clin. Nutr.* 2013;97:295–309.
123. Wang J. GaoJS, Chen JW, Li F, Tian J. Effect of resveratrol on cartilage protection and apoptosis inhibition in experimental osteoarthritis of rabbit. *Rheumatol Int.* 2012;32(6):1541-1548.



## 10. ETİK KURUL ONAYI



T.C.  
**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**



<b>PROJE NO:</b> 2017/14	<b>ARAŞTIRMANIN ADI</b>	Adjuvan indüklü tempomandibular eklem osteoartriti üzerinde resveratrolün kıkırdak destruksiyonu ve sinoviyal inflamasyon üzerine antiinflamatuvar etkisinin histolojik olarak incelenmesi
<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	<b>SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVAN/ADI KURUMU</b>	Yrd.Doç.Dr.Hatice Hoşgör KOU Diş Hek. Fak. Ağız, Diş ve Çene cerrahisi Anabilimdalı
	<b>YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR</b>	Arg.Gör Pınar Yüce, Doç.Dr.Yusufohan Yazır, Arg.Gör Selen Önder
<b>DEĞERLENDİRİLEN BELGE</b>	<b>ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ</b>	x
<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	Yukarıda başvuru bilgileri bulunan araştırma projesi Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneçleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine dayanarak gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler açısından incelenmiş olup, araştırmanın yürütülmesinin etik açıdan <b>uygun</b> olduğu kararına varılmıştır. <b>KARAR NO: KOU HADYEK 3/5-2017</b> <b>KARAR TARİHİ: 16.03.2017</b>	

ETİK KURUL ÜYELERİ			
ÜNVAN/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Prof. Dr. Hüsnü EFENDİ Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOU) Tıp Fakültesi Nöroloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Mine ŞEHİRALTI Başkan Vekili	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Deontoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Cüneyt Özer Raportör	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yrd. Doç. Dr. Sabri CORA Üye	KOU Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yard. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Canan BAYDEMİR Üye	KOU Tıp Fakültesi Biyostatistik ve Tıbbi Bilgi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yard. Doç. Dr. Gürler AKPINAR Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Akın Ziya ÜNAL Üye	Hayvan Hakları Derneği Veterinerler Odası	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	

Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneçleri Yerel Etik Kurulu Sekreterliği, Umuttepe Yerleşkesi, Eski İstanbul Yolu 10.km, 41380 Umuttepe / İZMİT  
Tel: 0 262 303 70 15; - Faks: 0 262 303 70 03

## ÖZGEÇMİŞ

31.05.1985 tarihinde İstanbul'da doğdu. İlköğrenimini Balıkesir Şehit Rahmi İlkokulu'nda, ortaöğrenimini Balıkesir Gönen Anadolu Lisesi'nde, lise öğrenimini Tekirdağ Fen Lisesi'nde tamamladı. 2003 yılında Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne girdi ve 2009 yılında mezun oldu. 2014 yılı Temmuz ayında Kocaeli Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimine başladı. Uzmanlık eğitimi süresinde Kocaeli Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nde klinik ve akademik faaliyetlerde bulundu.

İngilizce bilmektedir.

