



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

ERKEN DÖNEM DENEYSEL OSTEoarTRİT MODELİNDE
İNTRAARTİKÜLER UYGULANAN STATİN VE TETRASİKLINLERİN
KONDROPROTEKTİF ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Mustafa DİNÇ

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2009



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

ERKEN DÖNEM DENEYSEL OSTEOARTRİT MODELİNDE
İNTRAARTİKÜLER UYGULANAN STATİN VE TETRASİKLİNLERİN
KONDROPROTEKTİF ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Mustafa DİNÇ

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Ömer Faruk Bilgen

BURSA- 2009

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Türkçe Özet	ii
İngilizce Özet	iv
Giriş	1
Gereç ve Yöntem	5
Bulgular	13
Tartışma ve Sonuçlar	34
Kaynaklar	48
Teşekkür	54
Özgeçmiş	55

ÖZET

Bu çalışmada tavşanlarda geliştirilen erken dönem deneysel osteoartrit (OA) modelinde intraartiküler uygulanan statin ve tetrasiklinin kıkırdak ve sinovyal doku üzerindeki kondroprotektif etkilerinin araştırılması amaçlandı.

OA oluşturmak amacıyla ön çapraz bağı kesilen 30 tavşan rastgele üç gruba ayrıldı. Kontrol grubuna serum fizyolojik, statin grubuna atorvastatin, tetrasiklin grubuna doksisisiklin birer hafta ara ile üç kez intraartiküler uygulandı. Tavşanlar 12. haftada sakrifiye edilerek diz eklemi kıkırdak dokusu makroskopik ve histopatolojik, sinovyal doku ise histopatolojik olarak değerlendirildi ve hücre tabakası kalınlığı ölçüldü. Sonuçlar istatistiksel olarak gruplar arasında karşılaştırıldı.

Makroskopik değerlendirmede ortalama puanlar kontrol grubunda 3,0, statin grubunda 0,56, tetrasiklin grubunda 2,5 olarak bulundu. Statin grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,05$). Tetrasiklin grubu ile kontrol grubu arasında fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Kıkırdak doku histopatolojik değerlendirmesinde femur medial kondili için kontrol grubu, statin grubu ve tetrasiklin grubundaki değerler sırası ile ortalama $14,60 \pm 1,00$, $2,20 \pm 1,30$ ve $12,7 \pm 5,39$, tibia medial platosu için ise sırasıyla ortalama $14,33 \pm 8,68$, $2,89 \pm 1,96$ ve $15,90 \pm 7,03$ olarak bulundu. Statin grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,05$). Tetrasiklin grubu ile kontrol grubu arasında fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Sinovyal doku histopatolojik değerlendirmesinde kontrol grubu, statin grubu, tetrasiklin grubundaki değerler sırası ile ortalama $12,22 \pm 3,63$, $4,33 \pm 2,69$, $10,70 \pm 2,62$ idi. Sinovyal hücre tabakasının kalınlığı ise sırasıyla ortalama $14,46 \pm 2,35 \mu\text{m}$, $10,56 \pm 1,01 \mu\text{m}$, $12,80 \pm 0,79 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü. Statin grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,05$). Tetrasiklin grubu ile kontrol grubu arasında fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Sonuç olarak tetrasiklinin etkinliğinin az olmasının; in vivo ve intra-artiküler uygulamada yetersizliği, kimyasal olarak modifiye edilmiş form gerekliliği ve doz bağımlı etkisinin olduğu dşncesindeyiz bununla birlikte statinin kondroprotektif etkisinin olduğu, farklı kimyasal uygulamalardan geçirilerek terapötik etkisinin arttırılması ile OA tedavisinde güncel yaklaşımlardan biri olabileceği ve bu etkilerinin in vivo çalışmalarla birlikte klinik, makromorfolojik, histopatolojik, histomorfometrik ve moleküler düzeyde araştırmaların yapılması ile belirgin olarak ortaya konabileceği kanısındayız.

Anahtar kelimeler: Statin, Tetrasiklin, Deneysel osteoartrit, Kondroprotektif etki

SUMMARY

Assessment of Chondroprotective Effects of Intraarticularly Applied Statine and Tetracyclines on Early Stage Experimental Osteoarthritis

Aim of this study is to compare the effects of intraarticularly applied statin and tetracyclines on cartilage and synovial tissue at early stage experimental osteoarthritis.

30 rabbits whose anterior cruciate ligaments had been cut to create osteoarthritis were divided randomly into 3 groups. Serum physiologic to control group, atorvastatine to statine group and doxycycline to tetracycline group were applied intraarticularly once a week for 3 times. All rabbits were sacrificed at 12th week. Joint chondral tissue was evaluated macroscopically and histopathologically. Synovial tissues were evaluated histopathologically and synovial tissue cell layer was measured. Results were statistically compared between groups.

Average values at macroscopic evaluation were 3,0 at control group, 0,56 at statine group and 2,5 at tetracycline group. There was a statistically significant difference between statine and control group ($p < 0,05$). There was no statistically significant difference between tetracycline and control group ($p > 0,05$).

Average values at histopathological evaluation of femur medial condyle cartilage tissue were $14,60 \pm 1,00$ at control group, $2,20 \pm 1,30$ at statine group and $12,7 \pm 5,39$ at tetracycline group. Average values for tibia medial plateau were $14,33 \pm 8,68$ at control group, $2,89 \pm 1,96$ at statine group, and $15,90 \pm 7,03$ at tetracycline group. There was a statistically significant difference between statine and control group ($p < 0,05$). There was no statistically significant difference between tetracycline and control group ($p > 0,05$).

Average values at histopathological evaluation of synovial tissue were $12,22 \pm 3,63$ at control group, $4,33 \pm 2,69$ at statine group and $10,70 \pm 2,62$ at

tetracycline group. Average values of synovial tissue cell layer thickness were $14,46 \pm 2,35 \mu\text{m}$ at control group, $10,56 \pm 1,01 \mu\text{m}$ at statine group and $12,80 \pm 0,79 \mu\text{m}$ at tetracycline group. There was a statistically significant difference between statine and control group ($p < 0,05$). There was no statistically significant difference between tetracycline and control group ($p > 0,05$).

In conclusion we think that the reasons why tetracycline has little effect are insufficiency of in vivo and intraarticullary use, need of a chemically modified form, dose dependent effect. Also statins have chondroprotective effects and these drugs become novel therapeutic agent at osteoarthritis management with processing chemically and we think together with in vivo studies, clinical, macromorphological, histopathological, histomorphometric and molecular studies will show their effectivity more clearly.

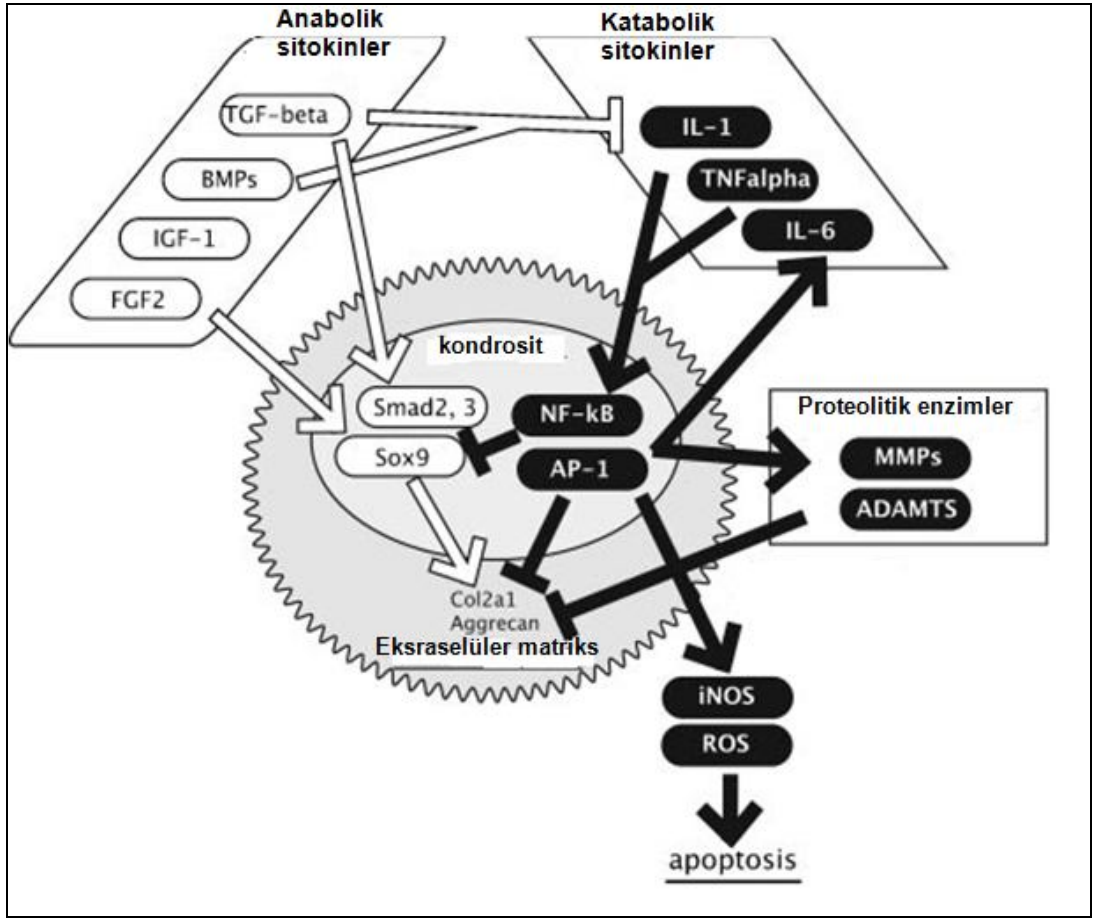
Key words: Statine, Tetracycline, Experimental osteoarthritis, Chondroprotective effect

GİRİŞ

Osteoartrit (OA), en sık karşılaşılan artrit formu olup, özellikle yük taşıyan eklemlerde kıkırdak dokusunun yavaş ve ilerleyici yıkımı ile seyreden bir hastalıktır. Bu hastalık patolojik olarak eklem kıkırdak harabiyeti, eklem kenarlarında yeni kemik oluşumu (osteofit), subkondral kemikte değişiklikler, sinovit ve eklem kapsülünde fibrozis ile karakterizedir (1, 2). OA, yaşam beklentisinin uzaması ve günlük yaşam aktivitesinin artması ile önemli derecede büyüyen sağlık sorunu haline gelmiştir. Hastalığın kronik doğası ve benign karakterde olması sonucu, artan nüfusta görülme sıklığı birçok sosyal ve ekonomik sonuçlara yol açmaktadır. Bu nedenle OA'de kıkırdak harabiyetini yavaşlatacak ve tedavide son basamak olan cerrahi uygulamaları geciktirecek kıkırdak koruyucu ajanların geliştirilmesi amacıyla günümüzde birçok araştırma yapılmaktadır (3-6).

Eklem kıkırdağı, kondrositler ve bu hücreleri çevreleyen hücre dışı matriksin (HDM) oluşturduğu özelleşmiş bir bağ dokusudur. Eklem kıkırdağında anabolik ve katabolik sinyaller denge içerisinde bulunmaktadır. Bu sinyal dengesinde katabolizmanın baskın hale gelmesi sonucu kıkırdak harabiyeti ve sonrasında osteoartrit meydana gelmektedir (2, 7). Osteoartritin patogenezinde hücreler ve ekstraselüler matriks arasında homeostazın (anabolik ve katabolik denge) bozulmasını etkileyen birçok farklı etken tarif edilmiştir (2, 8, 9). Kıkırdak dokuda kondrositlerden ve sinovyal dokuda sinovyal hücrelerden üretilen, katabolik etkiye uyarıcı sinyal oluşturan tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) ve nitrik oksit (NO) gibi sitokinlerin, kıkırdak matriks yıkımına neden olan kolajenaz, jelatinaz, agrekanaz, elastaz ve fibronektin-yıkıcı sitromelesin-1 gibi matriks metalloproteinazları (MMP) aktifleştirdiği gösterilmiştir (8-11). Kıkırdak dokuda yıkıma neden olan bu mediatörlerin etkilerini önleyebilecek, proteolitik enzimleri baskılayabilecek ve matriks sentezini arttıracak birçok farklı ajan deneysel OA modellerinde araştırılmıştır (1, 7, 12). Kıkırdak sentezini olumlu yönde etkileyen insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve

fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi büyüme faktörleri, hyaluronik asit (HA) ve HA aktive edici ajan (HASA) gibi makromoleküller ile kıkırdak yıkımını önleyebilecek faktörlerden insan fibroblast kolajenaz inhibitörü benzeri glikoprotein, α 2-makroglobulin ve doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) deneysel OA modellerinde tedavi edici etkileri araştırılan moleküllerdir (Şekil-1) (7, 11, 13).



Şekil-1: Anabolik ve katabolik sinyal aktivitesi, kıkırdak homeostazı (2).

Son yıllarda, OA patofizyolojisinin anlaşılması ile kıkırdak yıkımını durdurucu ve ilerleyişini yavaşlatıcı farmakolojik ajanlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu ilaçlardan antibiyotik olan tetrasiklinler ve lipit düşürücü ajan olan statinlerin bağ dokusu üzerinde antiinflamatuvar ve immünomodulatör pleotrofik (gerçek etkisi dışındaki etki) etkilerinin olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (14-21). Bu ajanların özelleşmiş bağ dokusu olan

kıkırdak dokusu üzerinde de kıkırdak koruyucu etkilerinin olabileceği düşünülmüş ve bu yönde sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır (6, 17, 22-26).

Statinler, hidrosimetilglutaril (HMG)-CoA redüktaz enziminin inhibitörü olan ve kolesterol biyosentezine etki ederek serum kolesterolünün düşürülmesinde yaygın olarak kullanılan ajanlardır (27). Son dönemlerde bu ilaçların kolesterol düşürücü etkilerinden bağımsız olarak antiinflamatuvar etkilerinin olduğu gösterilmiştir (14, 16, 20, 21, 28). Bu hipoteze dayanılarak statinlerin genel antiinflamatuvar ve immünomodulatör etkilerinin olabileceği ortaya atılmıştır (29-32). Statinlerin antiinflamatuvar etki mekanizmaları incelendiğinde, bu ilaçların çeşitli hücre tiplerinde inflamasyon öncesi sinyali sağlayan indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) enzim salınımını inhibe ettiği (33-36) ve inflamatuvar sitokinlerden IL-6, IL-1 ve TNF- α üretimini azalttığı veya engellediği bildirilmiştir (36-40). Aynı zamanda bu ajanların matriks yıkımında rol oynayan matriks metalloproteinazların (MMP) salınımı ve yapımını engellendiği de çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (14, 22, 41, 42).

Tetrasiklinlerin antibiyotik etkilerinin dışında bağ dokusu üzerine etkileri ilk defa Galub ve ark. (15) tarafından diabetik farelerde periodantal kolajenaz aktivitenin engellenmesi ile gösterilmiştir. Bu çalışmadan sonra tetrasiklinlerin antiinflamatuvar etkileri dışında pleotrofik etkilerinin de olduğu bildirilmiştir. Bu ilaçların sıçan modelinde endotoksin ile aktive edilmiş nitrik oksit (NO) sentezini azalttığı gösterilmiş (15, 43) ve matriks metalloproteinazlar (MMP) üzerinde baskılayıcı etkileri tespit edilmiştir (23, 44).

OA patofizyolojisi göz önünde bulundurulduğunda statinlerin ve tetrasiklinlerin pleotrofik etkileri ile OA gelişiminde rol oynayan uyarıcı sitokinlerin ve yıkımdan sorumlu proteolitik enzimlerin salınım ve üretiminde de etkili olabileceği hipotezi ortaya atılmış ve bu iki ilacın özelleşmiş bir bağ dokusu olan kıkırdak doku üzerinde kondroprotektif etkilerinin olabileceği düşünülerek son yıllarda bu ilaçlar ile ilgili birkaç deneysel hayvan modelinde erken dönem OA'te etkilerini araştıran çalışma yapılmıştır (6, 10, 17, 23-26).

Çalışmamızda tavşanlarda geliştirilen erken dönem deneysel OA modelinde intraartiküler uygulanan statin ve tetrasiklinin kırık ve sinovyal doku üzerindeki kondroprotektif etkilerini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırmaları Etik Kurulu'ndan alınan gerekli izin sonrası Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen ağırlıkları 2500-4000 gr arasında olan 30 adet erişkin Yeni Zelanda tavşanını kullandık. Deneysel diz OA oluşturmak amacı ile Yoshioka ve ark.'nın (45) tanımladığı gibi tavşanların ön çapraz bağı (ÖÇB) kesilerek oluşturulan model kullanıldı.

Tavşanlar intraartiküler enjeksiyon uygulaması için rastgele 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 0,5 ml serum fizyolojik, statin grubuna 100 ml serum fizyolojik içerisine 40 mg atorvastatin eklenerek elde edilen karışımdan (Ator®; Pfizer, USA) 0,4 mg/ml/kg ve tetrasiklin grubuna 100 ml serum fizyolojik içerisine 100 mg doksisisiklin eklenerek elde edilen karışımdan (Tetradox® Fako İlaç, İstanbul) 1 mg/ml/kg olacak şekilde uygulandı.

Cerrahi Teknik

Enfeksiyon profilaksisi için cerrahi girişimden 30 dakika önce 50 mg/kg sefazolin sodyum (Sefazol®; Mustafa Nevzat İlaç Sanayi, İstanbul, Türkiye) kas içine uygulandı. Anestezi amacıyla % 2'lik ksilazin hidroklorür (Rompun®; Bayer Healthcare, Leverkusen, Germany) 8 mg/kg ve ketamin hidroklorür (Ketalar®; Pfizer, USA) 100 mg/kg dozunda kas içine uygulandı. Sağ arka ekstremiteleri tıraş edilen tavşanların ameliyat sahası %10 povidin iyod (Batticon®; Adeka, Samsun, Türkiye) solüsyonu kullanılarak temizlendi ve steril olarak örtüldü. Ön-orta hattan yapılan longitudinal cilt insizyonu sonrası medial parapatellar artrotomi ile patella laterale disloke edilerek yeterli açılım sağlandı. Diz tam fleksiyonda iken ön çapraz bağ (ÖÇB) kesildi. Ön çapraz bağı tam kat kesildiği ön çekmece testi ile doğrulandı. Eklem boşluğu steril serum fizyolojik ile yıkandı ve eklem kapsülü 3/0 emilebilen iplik ile (Safil-Aesculap AG and CO.KG-Braun), cilt ise 3/0 emilmeyen iplik ile (Ethilon- Ethicon- Johnson and Johnson) kapatıldı. Cerrahi sonrası analjezi

amacıyla içme sularına 1-2 mg/kg/100 ml parasetamol konulan tavşanlar standart yem ile beslenerek kafes aktivitesine bırakıldı.

İntraartiküler ilaç enjeksiyonu uygulaması için 30 mg/kg ketamin hidroklorür ile sedasyon sağlanan tavşanlar randomize olarak her grupta 10 tavşan olacak şekilde üç gruba ayrıldı ve yapılan cerrahi sonrası birinci haftadan itibaren birer hafta ara ile toplam üç kez kontrol grubuna 0,5 ml hacminde serum fizyolojik, statin grubuna 100 ml serum fizyolojik içerisine 40 mg atorvastatin eklenerek elde edilen karışımdan 0,4 mg/ml/kg olacak şekilde ve tetrasiklin grubuna ise 100 ml serum fizyolojik içerisine 100 mg doksisisiklin eklenerek elde edilen karışımdan 1mg/ml/kg olacak şekilde eklem içine uygulandı. Deney hayvanları son enjeksiyondan 12 hafta sonra dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Deneysel OA modeli geliştirmek için ÖÇB'ı kesilen diz eklemleri sinovya, femur ve tibia eklem yüzeylerini içerecek şekilde çıkartıldı. Diz eklemlerinin medial kompartmanı (medial femoral kondil ve tibia medial platosu) Pelletier ve ark.(46) tarafından tanımlanan morfolojik evreleme sistemi kullanılarak, kıkırdak dokusundaki erozyon derinliği ve dejeneratif değişiklikler minimal fibrilasyon, yüzeyel ve orta tabakada erozyon, derin tabakada erozyon ve subkondral kemikte erozyon varlığına göre değerlendirildi (Tablo-1).

Tablo-1: Pelletier evreleme sistemine göre kıkırdak doku lezyonlarının makroskopik evrelemesi (46).

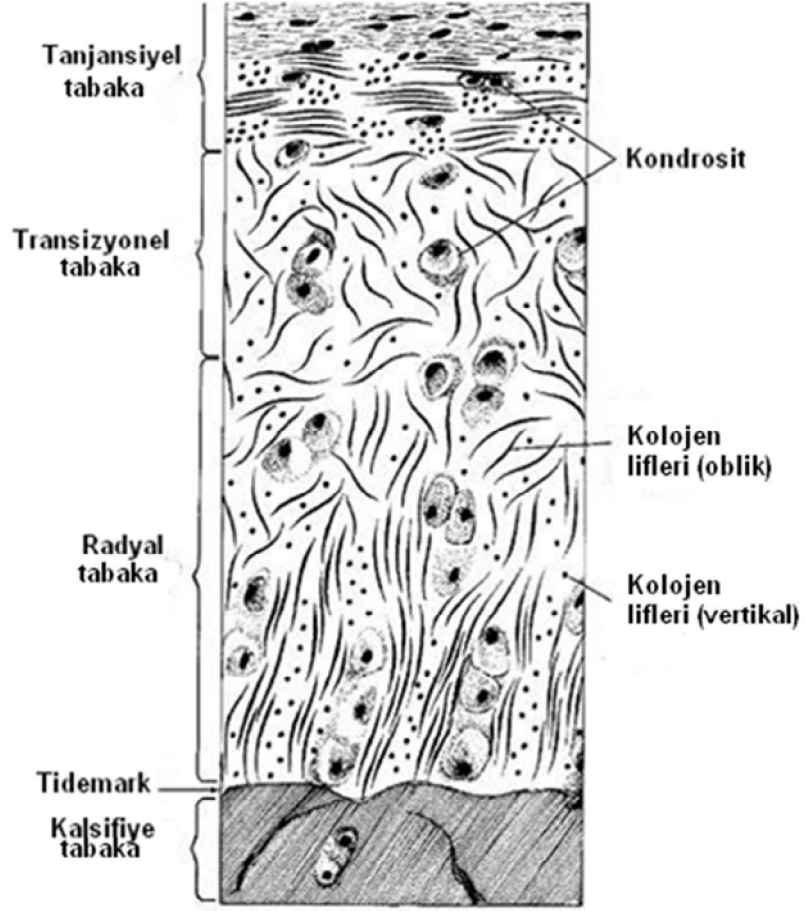
Evre 0	Sağlam yüzey
Evre 1	Minimal fibrilasyon veya yüzeyel sarımtırak renk değişikliği
Evre 2	Yüzeyel veya orta tabakada erozyon
Evre 3	Derin tabakada erozyon
Evre 4	Subkondral kemikte erozyon

Doku Hazırlanması

Deney hayvanlarının cerrahi girişim uygulanan diz eklemleri femur ve tibiaya ait eklem yüzeylerini ve sinovyal dokuyu içerek şekilde eklem mesafesinden 2 cm uzaklıktan kesilerek çıkartıldı. Çevre yumuşak dokuların uzaklaştırılmasını takiben histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit solüsyonunda 5 gün süreyle dokuların fiksasyonu sağlandı. Takiben %10'luk formik asit solüsyonu içinde kemik dokusu dekalsifiye olana kadar bekletildi. Örnekler dehidratasyonu takiben parafin bloklara gömüldü. Rutin takip işlemler sonrası 5 mikron kalınlığında sagittal kesitler alınarak histopatolojik değerlendirme için hematoksil-eosin ve safranin-O ile boyandı.

Histopatolojik Değerlendirme

Kıkırdak dokudaki histolojik ve histokimyasal değişikliklerin değerlendirilmesi için kıkırdak dokunun 4 tabakası incelendi. Yüzeyel (tanjansiyel) tabakada yassı kondrositler ve eklem yüzeyine paralel yerleşim gösteren kolajen lifleri bulunur. Orta (transizyonel) tabakada, kondrositler daha büyük ve yuvarlak, kolajen lifleri ise rastgele organize olmuşlardır. Derin (radyal) tabakada ise kondrositler geniş, vertikal yerleşimli ve kolajen lifleri ise radyal uzanımlı olarak bulunurlar. En alt tabaka olan kalsifiye tabakada kondrositler mineralize matris içine gömülmüş ve non-kalsifiye kıkırdaktan tidemark yapısı ile ayrılmıştır (Şekil-2).



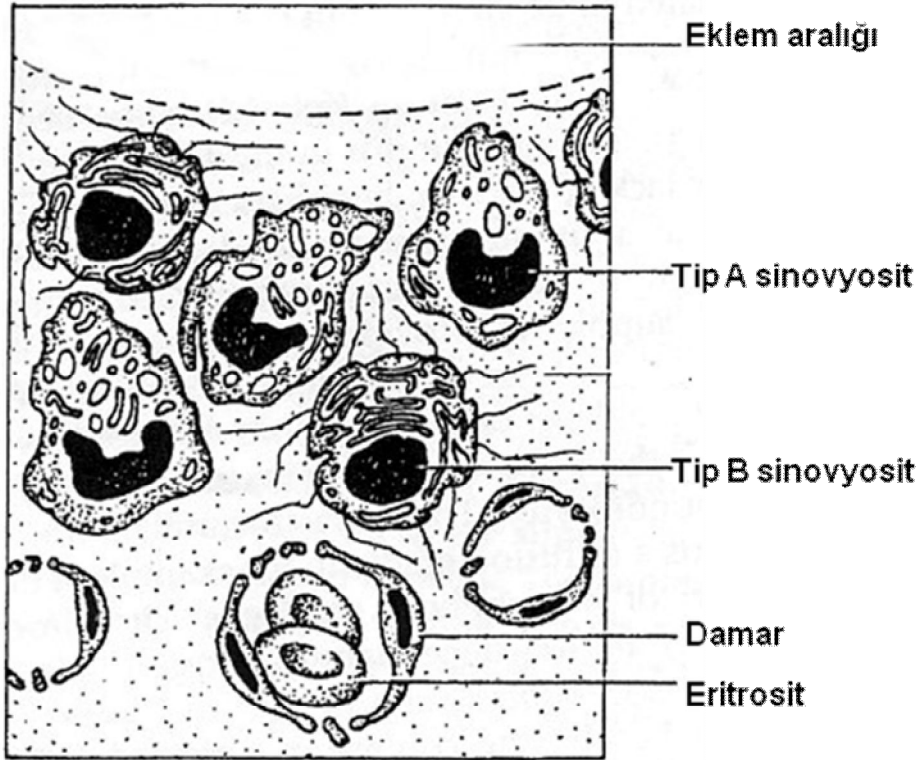
Şekil-2: Eklem kıkırdağının histolojik katmanları (47).

Eklem kıkırdak dokusu, Mankin ve ark.'nın (48) tanımladığı, Yoshimi ve ark.(49) tarafından modifiye edilen eklem kıkırdak lezyonlarının histolojik ve histokimyasal evreleme sistemi kullanılarak; kıkırdak doku tabakalarındaki histolojik yapısal değişiklikler, hücresel değişiklikler, safranin-O tutulumu, tidemark yapısının bütünlüğü ve pannus oluşumu değerlendirildi. Elde edilen toplam puanlar gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo- 2).

Tablo-2: Modifiye Mankin sistemine göre eklem kıkırdak lezyonlarının histolojik ve histokimyasal evrelemesi (49).

I.Yapı		
	Normal	0
	Hafif yüzey düzensizliği	1
	Orta derece yüzey düzensizliği	2
	Ciddi yüzey düzensizliği	3
	Transizyonel tabakada yarık	4
	Radyal tabakada yarık	5
	Kalsifiye tabakada yarık	6
	Transizyonel tabaka kaybı	7
	Radyal tabaka kaybı	8
	Kalsifiye tabaka kaybı	9
	Tam dezorganizasyon	10
II. Hücre		
1.Tanjansiyel tabaka		
	Normal	0
	Şişme	1
	Hücre kaybı	2
2.Transizyonel ve radyal tabaka		
	Normal	0
	Hafif hiperselüerite	1
	Orta derece hiperselüerite	2
	Ciddi hiperselüerite	3
	Hafif klonlaşma	4
	Orta derece klonlaşma	5
	Ciddi klonlaşma	6
	Hafif hiposelüerite	7
	Orta derece hiposelüerite	8
	Ciddi hiposelüerite	9
	Hücre kaybı	10
III. Safranin-O tutulumu		
	Normal	0
	Hafif azalma	1
	Orta derece azalma	2
	Ciddi derecede azalma	3
	Hiç tutulum yok	4
IV. Tidemark		
	İntakt	0
	Çok seviyeli	1
	Belirsiz	2
	Damarlanma	3
V.Pannus oluşumu		
	Yok	0
	Hafif	1
	Orta derece	2
	Belirgin	3

Sinovyal doku, tüm eklem yüzeyini kaplayan vasküler bir bağ dokusudur. Bu doku subintimal (subsinovyal) ve intimal (sinoviyayı döşeyen hücre tabakası) olmak üzere iki tabakadan oluşur. Subintimal tabaka kapsüle en yakın kısım olup fibröz, areolar ve yağ dokularından oluşur. Bu tabaka damarlanma yönünden zengindir ve sinovyal sıvı üretiminden sorumludur. İntimal tabaka farklı tip sinovyal hücrelerden oluşur. Tip A sinoviositler, makrofaj benzeri hücreler olup partikül temizliğinden sorumludur. Tip B sinoviositler ise eklem metabolizması için gerekli kolajen, sitokinler, proteinazlar gibi makromoleküllerin ve proteinlerin salınımını gerçekleştirir (Şekil-3).



Şekil-3: Sinovyal doku histolojisi (50)

Sinovyal dokudaki değişikliklerin histolojik değerlendirilmesinde Yoshimi ve ark. (49) tarafından tanımlanan ve iki ana bölümden oluşan derecelendirme sistemi kullanıldı. Bu derecelendirme sisteminde sinoviyayı döşeyen hücre tabakasında hücrelerin hipertrofisi, hiperplazisi ve inflamatuvar

hücre infiltrasyonunu inceleyen birinci kısım değerlendirilmesinden elde edilen puanlar ile ikinci kısımdaki incelemeyi oluşturan subsinovyal alanın granülasyon doku proliferasyonu, vaskülarizasyonu ve inflamatuvar hücreler tarafından infiltrasyonunun değerlendirilmesinden elde edilen ikinci kısım puanları toplanarak her üç gruba ait toplam puanlar oluşturuldu ve istatistiksel olarak karşılaştırıldı (Tablo-3). Sinovyal dokunun değerlendirilmesi amacı ile sinovyal hücre tabakasının kalınlığı mikron (μm) cinsinden ölçülerek üç gruptaki sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Elde edilen veriler SPSS for Windows 13.0 ortamında bilgisayara kayıt edildi. Makroskopik ve mikroskopik değerlendirmeye ilişkin değişkenler ortalama ve standart hata ile birlikte verilmiştir. Sonuçlara göre değerler arası karşılaştırmada Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Çalışmada $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Tablo-3: Yoshimi evreleme sistemine göre sinovyal doku değişikliklerinin histolojik sınıflaması (49).

I. sinovyaı döşeyen hücre tabakası

1. Sinovyaı döşeyen hücrelerin hiperplazisi

Normal	0
Hafif	1
Orta derece	2
Ciddi	3

2. Sinovyaı döşeyen hücrelerin hipertrofisi

Normal	0
Hafif	1
Orta derece	2
Ciddi	3

3. İnflamatuar hücrelerin infiltrasyonu

Normal	0
Hafif	1
Orta derece	2
Ciddi	3

II. Subsinovyal doku

1. Granülasyon dokusunun proliferasyonu

Normal	0
Hafif	1
Orta derece	2
Ciddi	3

2. Vaskülarizasyon

Normal	0
Hafif	1
Orta derece	2
Ciddi	3

3. İnflamatuar hücrelerin infiltrasyonu

Normal	0
Hafif	1
Orta derece	2
Ciddi	3

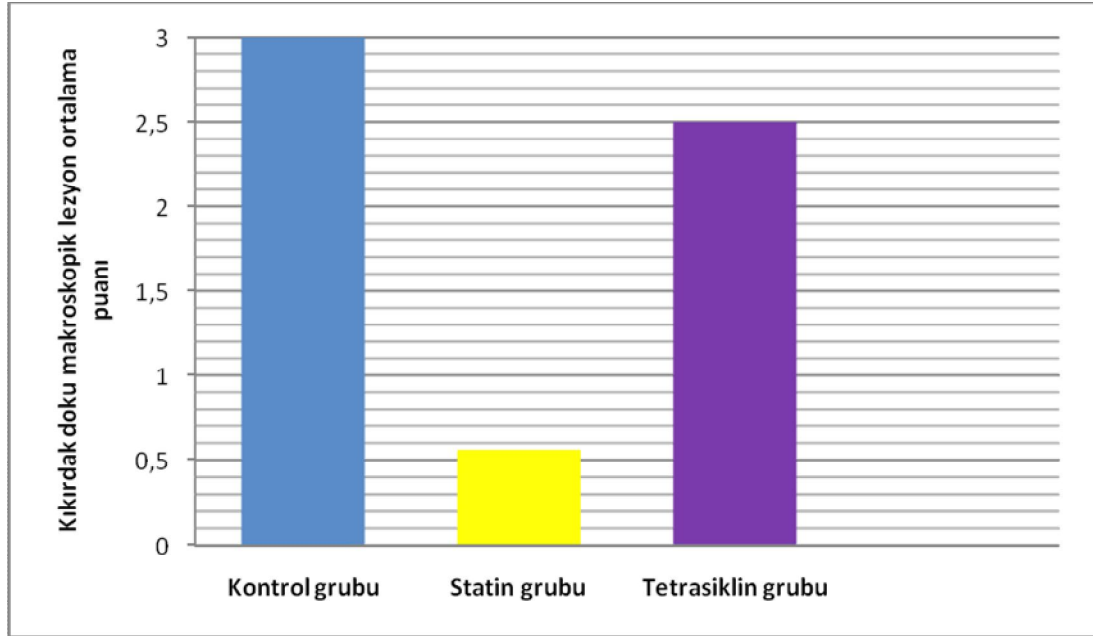
BULGULAR

Çalışmamız sürecinde kontrol grubundan bir tavşan erken solunum problemleri nedeniyle ve statin grubundan bir tavşan septik artrit nedeniyle öldüğü için deney 28 tavşan ile sonuçlandırıldı (Kontrol grup n: 9, Statin grup n: 9, Tetrasiklin grup n: 10).

Diz eklemi medial kompartmanı (femur medial kondil ve tibia medial plato) kıkırdak dokusunda oluşan lezyonların makroskopik evrelemesine göre; fibrilasyon, yüzeysel ve orta tabakada erozyon, derin tabakada erozyon ve subkondral kemikte erozyon değerlendirildiğinde, kontrol grubundaki tavşanların 2'sinde evre 2 (%22), 5'inde evre 3 (%55), 2'sinde evre 4 (%22) dejeneratif değişiklik tespit edilirken; statin grubunda tavşanların 5'inde evre 0 (%55), 3'ünde evre 1 (%33) ve 1'inde (%11) evre 2 dejeneratif değişiklik saptandı. Tetrasiklin grubunda ise 5 tavşanda evre 2 (%50), 5 tavşanda evre 3 (%50) dejeneratif değişiklik gözlemlendi. İleri evre kıkırdak hasarı, derin tabaka ve subkondral kemikte erozyon, kontrol grubunda 7 tavşanda (%77), tetrasiklin grubunda 5 tavşanda (%50) gözlenirken statin grubunda hiç bir tavşanda (%0) ileri derece dejeneratif değişiklik tespit edilmedi (Tablo-4). Bu sonuçların gruplar arası istatistiksel değerlendirilmesinde; kontrol grubu ile statin grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0,05$) (Şekil-5, 6), kontrol grubu ile tetrasiklin grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p > 0,05$) (Şekil-4).

Tablo-4: Diz eklemi medial kompartman eklem kıkırdak doku yüzeyinde gelişen makroskopik lezyonlarının Pelletier evreleme sistemine göre gruplara dağılımı ve ortalama puanları.

	Evre 0-2 (n)	Evre 3-4 (n)	Ortalama puan	Toplam (n)
Kontrol grubu	2	7	3,0	9
Statin grubu	9	-	0,56	9
Tetrasiklin grubu	5	5	2,5	10



Şekil-4: Diz eklemi medial kompartmanı kıkırdak yüzeyi makroskopik lezyonlarının dejeneratif değişiklik ortalama puanlarının gruplar arası karşılaştırılması. Statin grubunda, kontrol grubu ve tetrasiklin grubuna göre medial kompartmanda derin tabaka ve subkondral kemikte erozyon ile seyreden ileri derecede kıkırdak doku erozyonunun engellendiği gözlenmektedir ($p<0,05$). Tetrasiklin grubu ile kontrol grubu arasındaki fark anlamsızdır ($p>0,05$). Gruplar arası sonuçlar ortalama puan olarak standart deviasyon (SD) ile birlikte verilmiştir.



Şekil-5: Kontrol grubu makroskopik değerlendirme evre 4 kıkırdak hasarı görülmektedir.

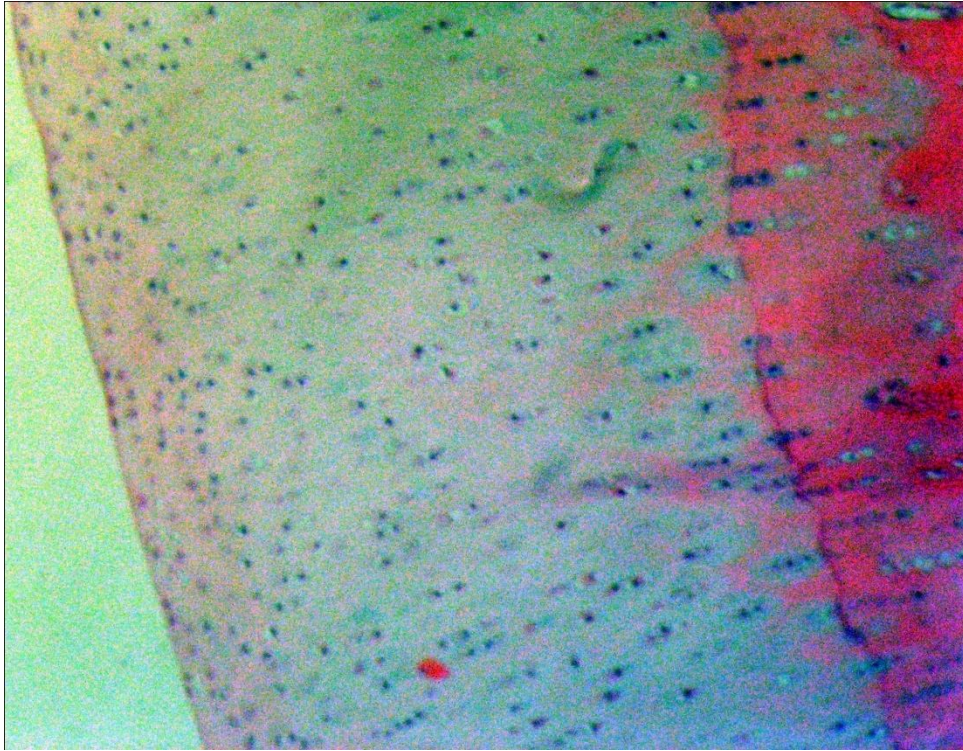


Şekil-6: Statin grubu makroskopik incelemesi evre 0 kıkırdak hasarı görülmektedir.

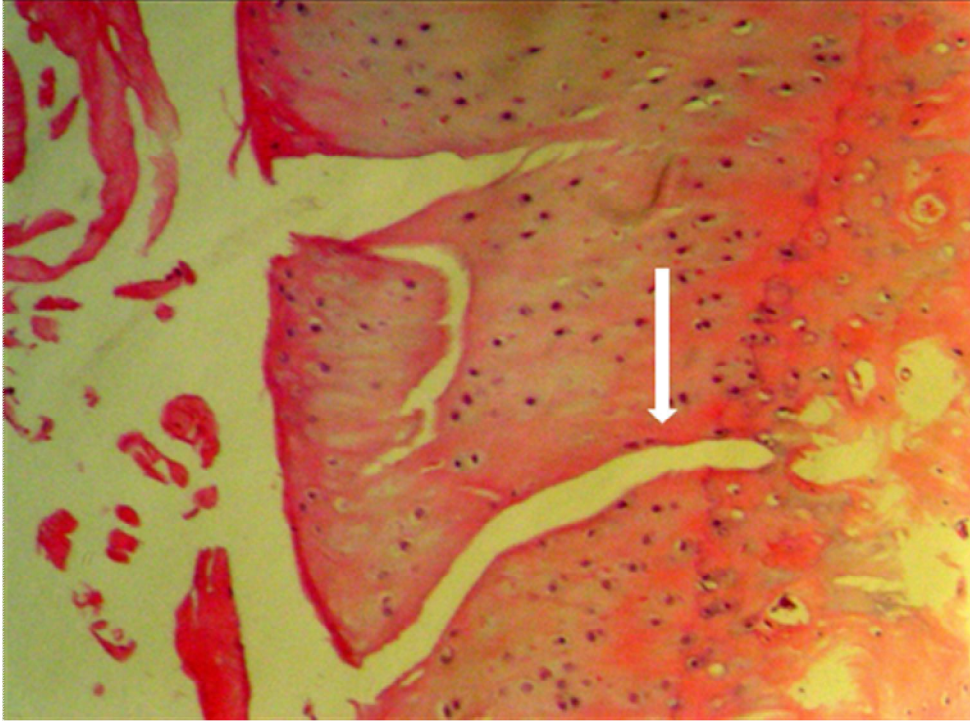
Diz eklemi medial kompartmanı kıkırdak dokusundaki lezyonların histolojik ve histokimyasal değişikliklerinin değerlendirilmesinde kullanılan derecelendirme sisteminin 1. bölümü olan kıkırdak yapısının incelenmesinde femur medial kondilinde; kontrol grubundaki tavşanların 2'sinde (% 22) orta derecede yüzey düzensizliği, 3'ünde (%33) ciddi yüzey düzensizliği, 1'inde (%11) transizyonel tabakada yarık ve 3'ünde (%33) tam dezorganizasyon (Şekil-9) tespit edildi. Statin grubunda ise tavşanların 4'ünde (%44) normal kıkırdak yapısı (Şekil-7), 5'inde (%56) hafif yüzey düzensizliği tespit edilirken tetrasiklin grubundaki tavşanların 3'ünde (%30) hafif yüzey düzensizliği, 2'sinde (%20) ciddi yüzey düzensizliği, 2'sinde (%20) transizyonel tabakada yarık, 2'sinde (%20) radyal tabakada yarık (Şekil-8) ve 1'inde (%10) kalsifiye tabakada yarık saptandı (Tablo-5). Tibia medial platosunun değerlendirmesinde ise; kontrol grubundaki tavşanların 3'ünde (%33) orta derece yüzey düzensizliği, 2'sinde (%22) ciddi yüzey düzensizliği, 1'inde (%11) transizyonel tabakada yarık, 1'inde (%11) radyal tabakada yarık (Şekil-8) ve 2'sinde (%22) tam dezorganizasyon (Şekil-9) saptandı. Statin grubunda ise tavşanların 3'ünde (%33) normal kıkırdak dokusu (Şekil-7), 4'ünde (%44) hafif yüzey düzensizliği, 1'inde (%11) ciddi yüzey düzensizliği ve 1'inde (%11) tanjansiyel tabakada yarık saptanırken, tetrasiklin grubunda ki tavşanların 1'inde (%10) hafif yüzey düzensizliği, 1'inde (%10) orta derece yüzey düzensizliği, 2'sinde (%20) transizyonel tabakada yarık, 5'inde (%50) radyal tabakada yarık (Şekil-8) ve 1'inde (%10) tam dezorganizasyon belirlendi (Şekil-9) (Tablo-5).

Tablo-5: Diz eklemi medial kompartman kıkırdak dokusunun yapısal incelemesinin tavşanlarda gruplara göre dağılımı.

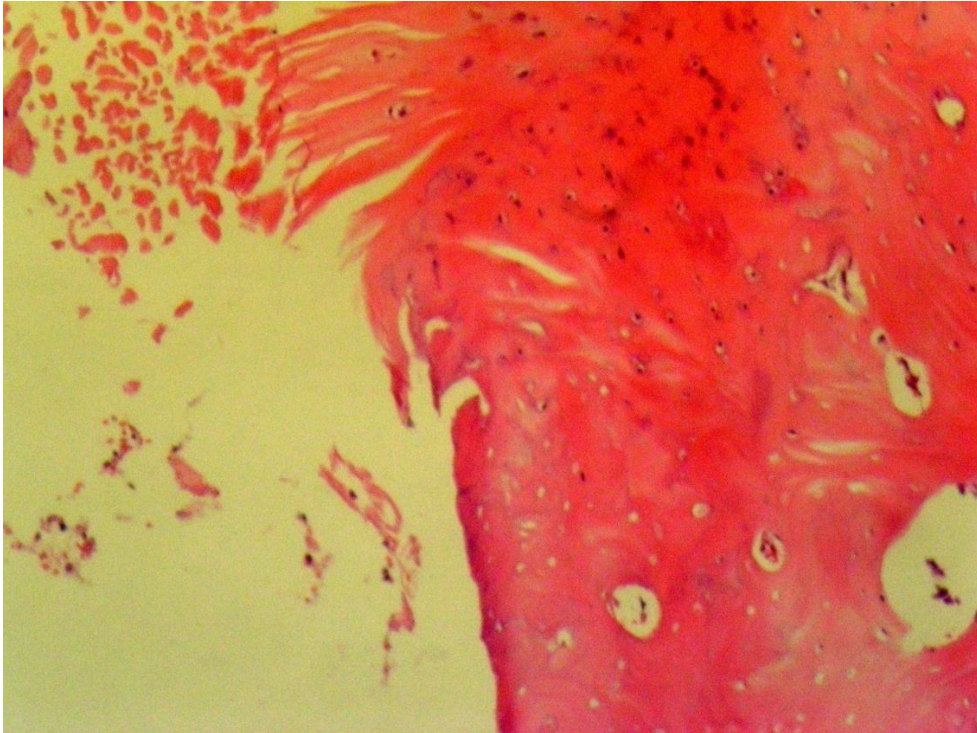
	Femur medial kondil			Tibia medial plato		
	Kontrol	Statin	Tetrasiklin	Kontrol	Statin	Tetrasiklin
			I.Yapı			
Normal	-	4	-	-	3	-
Hafif yüzey düzensizliği	-	5	3	-	4	1
Orta yüzey düzensizliği	2	-	-	3	-	1
Ciddi yüzey düzensizliği	3	-	2	2	1	-
Transizyonel tabaka	1	-	2	1	1	2
Radyal tabakada yarı	-	-	2	1	-	5
Kalsifiye tabakada yarı	-	-	1	-	-	-
Transizyonel tabaka	-	-	-	-	-	-
Radyal tabaka kaybı	-	-	-	-	-	-
Kalsifiye tabaka kaybı	-	-	-	-	-	-
Tam dezorganizasyon	3	-	-	2	-	1
Toplam	9	9	10	9	9	10



Şekil-7: Normal eklem kıkırdağı histolojisi görülmektedir (statin grubu), (HE, X200).



Şekil-8: Radyal bölgeye kadar uzanan yarık görülmektedir Beyaz ok işareti yarığı göstermektedir.(kontrol grubu), (HE, X200).



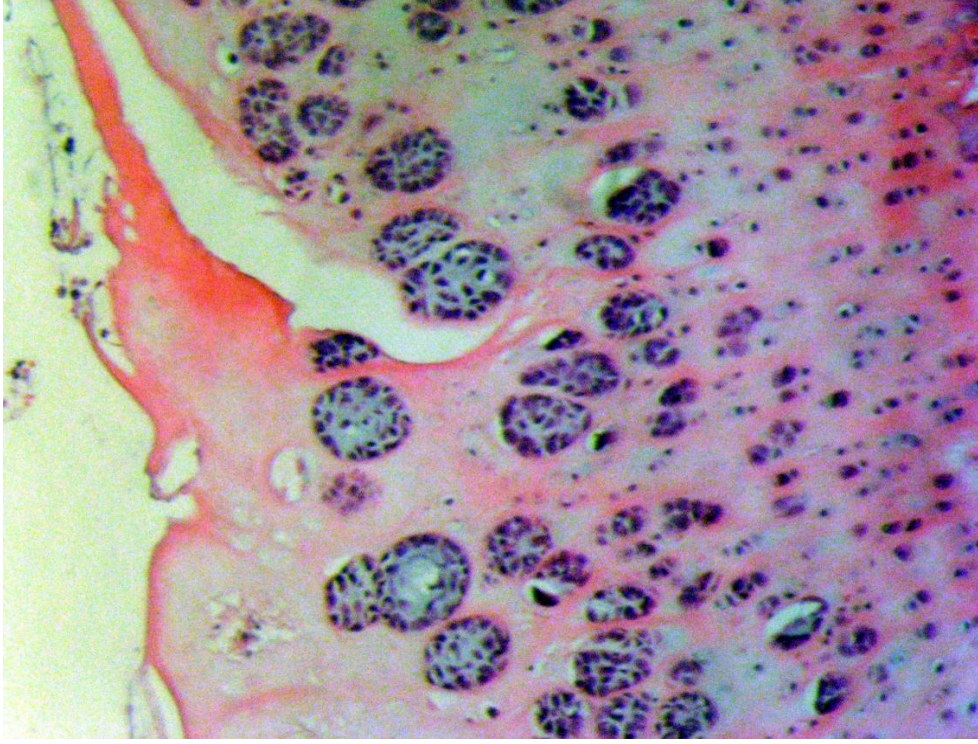
Şekil-9: Eklem kıkırdağında tam dezorganizasyon gözükmemektedir (HE, X200).

Diz eklemi medial kompartmanı eklem kıkırdak lezyonlarının histolojik ve histokimyasal derecelendirme sisteminin 2. bölümü olan tanjansiyel, transizyonel ve radyal tabakadaki hücresel değişikliklerin incelenmesinde; kontrol grubunda femur medial kondil kıkırdak dokusunda tanjansiyel tabakada tavşanların 5'inde (%56) normal hücre, 4'ünde (%44) hücre kaybı tespit edildi. Transizyonel ve radyal tabakada ise tavşanların 1'inde (%11) orta derece hiperselüerite, 3'ünde (%33) ciddi hiperselüerite, 1'inde (%11) orta derece klonlaşma, 1'inde (%11) ciddi klonlaşma ve 3'ünde (%33) hücre kaybı tespit edildi. Statin grubunda ise tanjansiyel tabakada tavşanların hepsinde (%100) normal hücre gözlenirken, transizyonel ve radyal tabakada tavşanların 1'inde (%12) normal hücre ve 8'inde (%88) hafif hiperselüerite tespit edildi. Tetrasiklin grubunda ise tanjansiyel tabakada tavşanların 3'ünde (%30) normal hücre, 1'inde (%10) hücrelerde şişme ve 6'sında (%60) hücre kaybı gözlenirken, transizyonel tabaka ve radyal tabakadaki hücrelerde tavşanların 1'inde (%10) orta derece hiperselüerite, 3'ünde ciddi hiperselüerite, 1'inde (%10) hafif klonlaşma, 1'inde (%10) orta derece klonlaşma, 3'ünde (%30) ciddi klonlaşma ve 1'inde (%10) orta derece hiposelüerite saptandı (Tablo-6). Tibia medial platosu kıkırdak dokusunda hücre değişiklikleri incelendiğinde ise; kontrol grubunda tanjansiyel tabakada tavşanların 5'inde (%56) normal hücre, 4'ünde (%44) hücre kaybı gözlenirken transizyonel ve radyal tabakada tavşanların 1'inde (%11) orta derece hiperselüerite, 5'inde (%55) ciddi hiperselüerite, 1'inde (%11) ciddi klonlaşma (Şekil-10) ve 2'sinde (% 22) hücre kaybı saptandı. Statin grubunda ise tanjansiyel tabakada tavşanların 7'sinde (%77) normal hücre, 1'inde (%11) hücrelerde şişme, 1'inde (%11) hücre kaybı saptanırken transizyonel ve radyal tabakada ise tavşanların 1'inde (%11) normal hücre, 6'sında (%66) hafif hiperselüerite, 1'inde (%11) orta derece hiperselüerite, 1'inde (%11) ciddi hiperselüerite tespit edildi. Tetrasiklin grubunda ise tanjansiyel tabakada tavşanların 1'inde (%10) normal hücre, 2'sinde (%20) hücrelerde şişme, 7'sinde (%70) hücre kaybı tespit edilirken transizyonel ve radyal tabakada ise tavşanların 1'inde (%10) hafif hiperselüerite, 1'inde (%10) ciddi hiperselüerite, 1'inde (%10) hafif klonlaşma, 1'inde (%10) orta

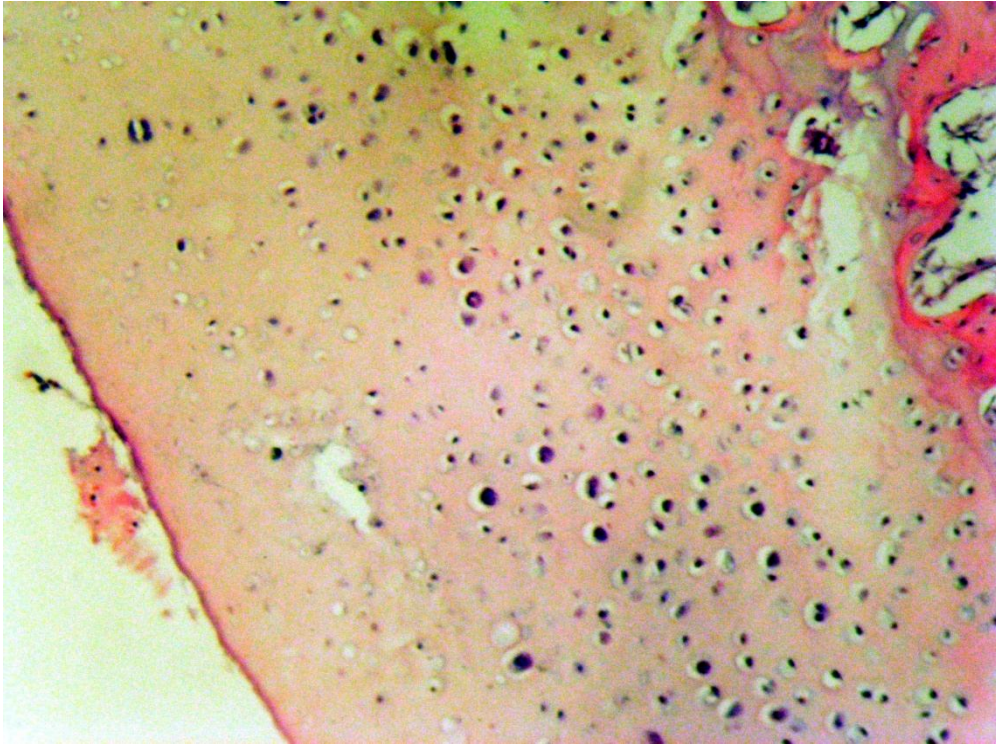
derece klonlaşma, 2'sinde (%20) hafif hiposelüerite, 2'sinde (%20) orta derece hiposelüerite (Şekil-11), 2'sinde (%20) ciddi hiposelüerite saptandı (Tablo-6).

Tablo-6: Diz eklemi medial kompartman kırıldak doku tabakalarında hücresel değişikliklerin tavşanlarda gruplara göre dağılımı.

	Femur medial kondil			Tibia medial plato		
	Kontrol	Statin	Tetrasiklin	Kontrol	Statin	Tetrasiklin
II. Hücre						
1.Tanjansiyel tabaka						
Normal	5	9	3	5	7	1
Şişme	-	-	1	-	1	2
Hücre kaybı	4	-	6	4	1	7
Toplam	9	9	10	9	9	10
2.Transizyonel ve radyal tabaka						
Normal	-	1	-	-	1	-
Hafif hiperselüerite	-	8	-	-	6	-
Orta hiperselüerite	1	-	1	1	1	1
Ciddi hiperselüerite	3	-	3	5	1	1
Hafif klonlaşma	-	-	1	1	-	1
Orta klonlaşma	1	-	1	-	-	1
Ciddi klonlaşma	1	-	3	-	-	-
Hafif hiposelüerite	-	-	-	-	-	2
Orta hiposelüerite	-	-	1	-	-	2
Ciddi hiposelüerite	-	-	-	-	-	2
Hücre kaybı	3	-	-	2	-	-
Toplam	9	9	10	9	9	10



Şekil-10: Transizyonel ve radyal tabakada kondrositlerde ciddi klonlaşma görülmektedir (tetrasiklin grubu), (HE, X200).

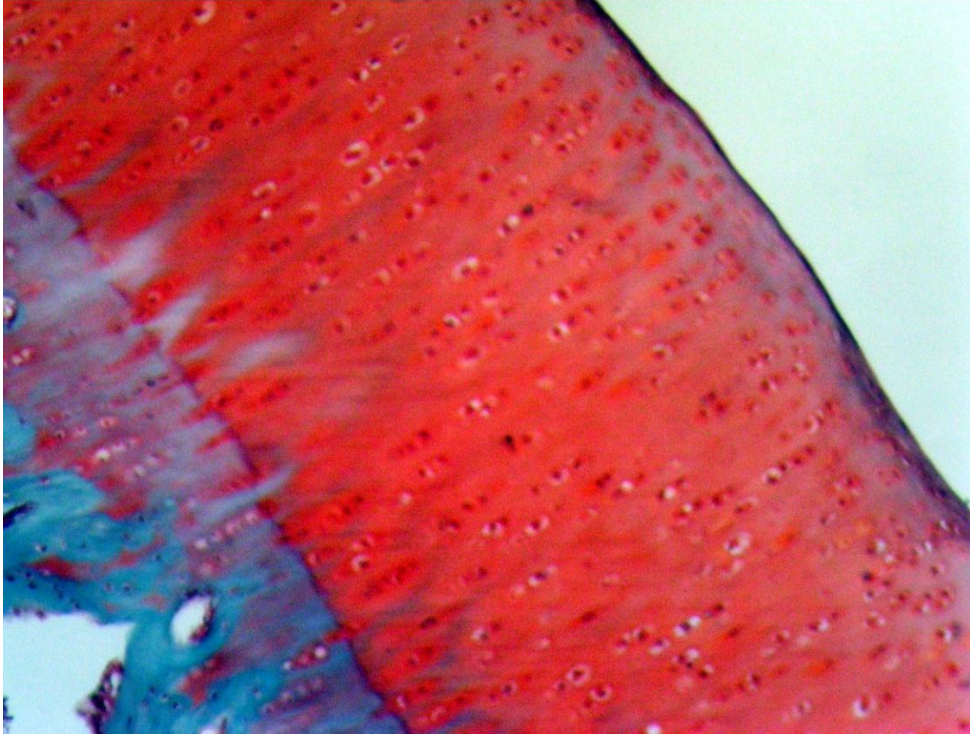


Şekil-11: Transizyonel ve radyal tabakada kondrositlerde orta derecede hiposelülarite görülmektedir. (tetrasiklin grubu), (HE, X200).

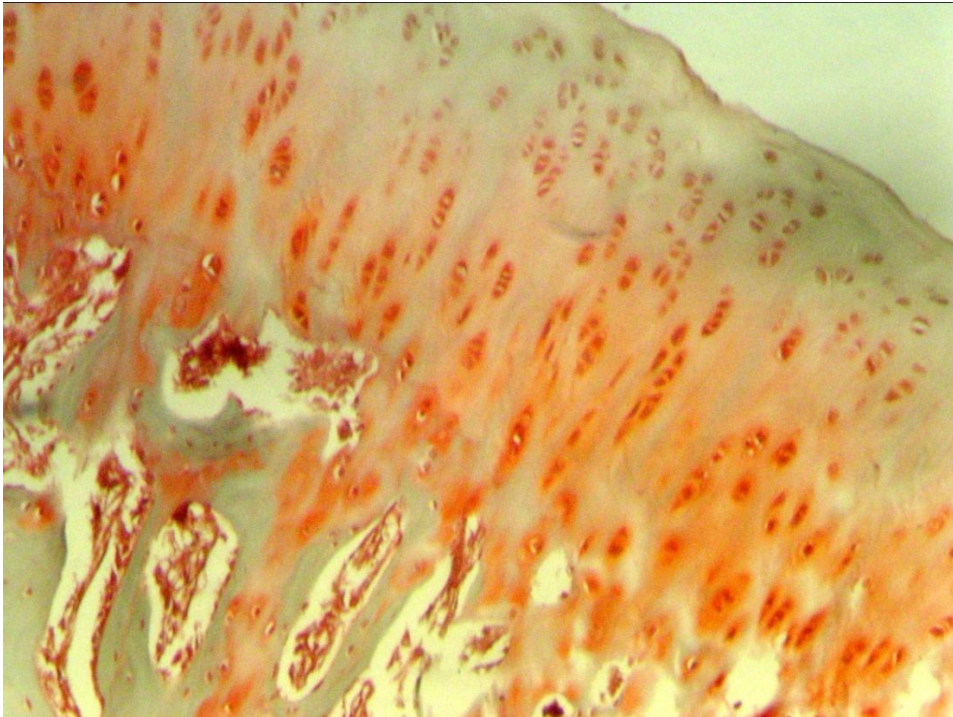
Diz eklemi medial kompartmanı kıkırdak lezyonlarının histolojik ve histokimyasal derecelendirme sisteminin 3. bölümü olan safronin-O tutulumu değerlendirildiğinde; kontrol grubunda femur medial kondilinde tavşanların 2'sinde (%22) normal tutulum (Şekil-12), 2'sinde (%22) hafif azalma, 3'ünde (%33) orta derecede azalma, 1'inde (%11) ciddi kayıp (Şekil-13) ve 1'inde (%11) hiç tutulum gözlenmezken, statin grubunda ise tavşanların 3'ünde (%33) normal tutulum (Şekil-12), 5'inde (%55) hafif azalma ve 1'inde (%12) orta derece azalma gözlemlendi. Tetrasiklin grubunda ise tavşanların 1'inde (%10) hafif azalma, 5'inde (%50) orta derece azalma, 4'ünde (%40) ciddi kayıp tespit edildi (Şekil-13) (Tablo-7). Tibia medial plato değerlendirmesinde ise; kontrol grubunda tavşanların 3'ünde (%33) hafif azalma, 3'ünde (%33) orta derecede azalma, 1'inde (%11) ciddi kayıp (şekil13) saptanıp 2'sinde (%22) hiç tutulum gözlenmezken statin grubunda ise tavşanların 3'ünde (%33) normal tutulum (Şekil-12), 4'ünde (%44) hafif azalma ve 2'sinde (%22) ciddi kayıp saptandı (Şekil-13). Tetrasiklin grubunda ise tavşanların 2'sinde (%20) hafif azalma, 2'sinde (%20) orta derecede azalma, 5'inde (%50) ciddi kayıp (Şekil-13) gözlenirken 1'inde (%10) hiç tutulum gözlenmedi (Tablo-7).

Tablo-7: Diz eklemi medial kompartman kıkırdak doku lezyonlarının safronin-O tutulumunun değerlendirilmesinde tavşanların gruplara göre dağılımı.

	Femur medial kondil			Tibia medial plato		
	Kontrol	Statin	Tetrasiklin	Kontrol	Statin	Tetrasiklin
III. Safronin-O tutulumu						
Normal	2	3	-	-	3	-
Hafif azalma	2	5	1	3	4	2
Orta derecede azalma	3	1	5	3	-	2
Ciddi kayıp	1	-	4	1	2	5
Hiç tutulum yok	1	-	-	2	-	1
Toplam	9	9	10	9	9	10



Şekil-12: Normal eklem kıkırdağında safranin-O tutulumu (statin grubu), (Safranin-O, X200).



Şekil-13: Safranin-O tutulumunda ciddi kayıp görülmektedir (kontrol grubu), (Safranin-O, X200).

Diz eklemi medial kompartmanı eklem kıkırdak lezyonlarının histolojik ve histokimyasal derecelendirme sisteminin 4. bölümü olan tidemark yapısının değerlendirilmesinde; kontrol grubunda femur medial kondilde tavşanların 5'inde (%55) intak, 1'inde (%11) çok seviyeli düzensizlik ve 3'ünde (%33) belirsiz yapı tespit edildi. Statin grubunda ise tavşanların hepsinde (%100) tidemark intak olarak tespit edildi. Tetrasiklin grubunda ise tavşanların 5'inde (%50) intak tidemark, 4'ünde (%40) çok seviyeli düzensizlik, 1'inde (%10) belirsiz tidemark yapısı gözlemlendi (Tablo-8). Tibia medial platosu incelendiğinde; kontrol grubunda tavşanların 4'ünde (%45) intak ve 5'inde (%55) belirsiz tidemark yapısı saptanırken, Statin grubunda ise tüm tavşanlarda (%100) intak tidemark gözlemlendi. Tetrasiklin grubunda ise tavşanların 7'sinde (%70) intak, 2'sinde (%20) çok seviyeli düzensizlik ve 1'inde (%10) belirsiz tidemark yapısı tespit edildi (Tablo-8).

Tablo-8: Diz eklemi medial kompartman kıkırdak dokusunda tidemark yapısının bütünlüğünün değerlendirilmesinde tavşanların gruplara göre dağılımı

	Femur medial kondil			Tibia medial plato		
	Kontrol	Statin	Tetrasiklin	Kontrol	Statin	Tetrasiklin
	IV. Tidemark					
İntak	5	9	5	4	9	7
Çok seviyeli	1	-	4	-	-	2
Belirsiz	3	-	1	5	-	1
Damarlanma	-	-	-	-	-	-
Toplam	9	9	10	9	9	10

Diz eklemi medial kompartman eklem kıkırdak lezyonlarının histolojik ve histokimyasal derecelendirme sisteminin 5. bölümü olan pannus oluşumu değerlendirmesinde; Kontrol grubunda femur medial kondilinde tavşanların 7'sinde (%78) pannus oluşumu gözlenmezken, 2'sinde (%22) hafif pannus oluşumu saptandı. Statin grubunda ise tavşanların hiçbirinde (%100) pannus oluşumu gözlenmedi. Tetrasiklin grubundaki tavşanların 2'sinde (%20) hafif, 2'sinde (%20) orta derece pannus oluşumu saptanırken 6'sında (%60) pannus oluşumu gözlenmedi (Tablo-9). Medial tibia platosunda ise kontrol grubunda 1 tavşanda (%11) hafif, 3 tavşanda (%33) orta derecede pannus oluşumu gözlenirken 5 tavşanda (%55) pannus oluşumu saptanmadı. Statin

grubunda ise tavşanların hiçbirinde (%100) pannus oluşumu gözlenmedi. Tetrasiklin grubunda 2'sinde (%20) hafif, 2'sinde (%20) orta derecede pannus oluşumu saptanırken 6'sında (%60) pannus oluşumu saptanmadı (Tablo-9).

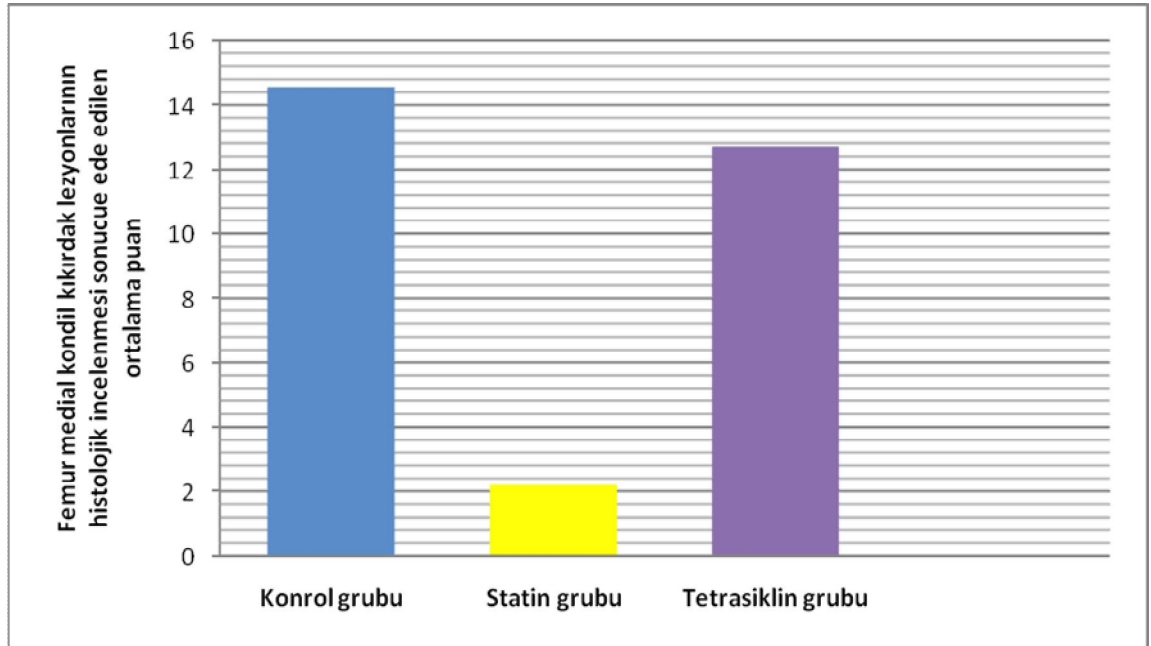
Tablo-9: Diz eklemi medial kompartman kıkırdak dokusunda pannus oluşumunun değerlendirilmesinde tavşanların gruplara göre dağılımı.

	Femur medial kondil			Tibia medial plato		
	Kontrol	Statin	Tetrasiklin	Kontrol	Statin	Tetrasiklin
	V.Pannus oluşumu					
Yok	7	9	6	5	9	6
Hafif	2	-	2	1	-	2
Orta derece	-	-	2	3	-	2
Belirgin	-	-	-	-	-	-
Toplam	9	9	10	9	9	10

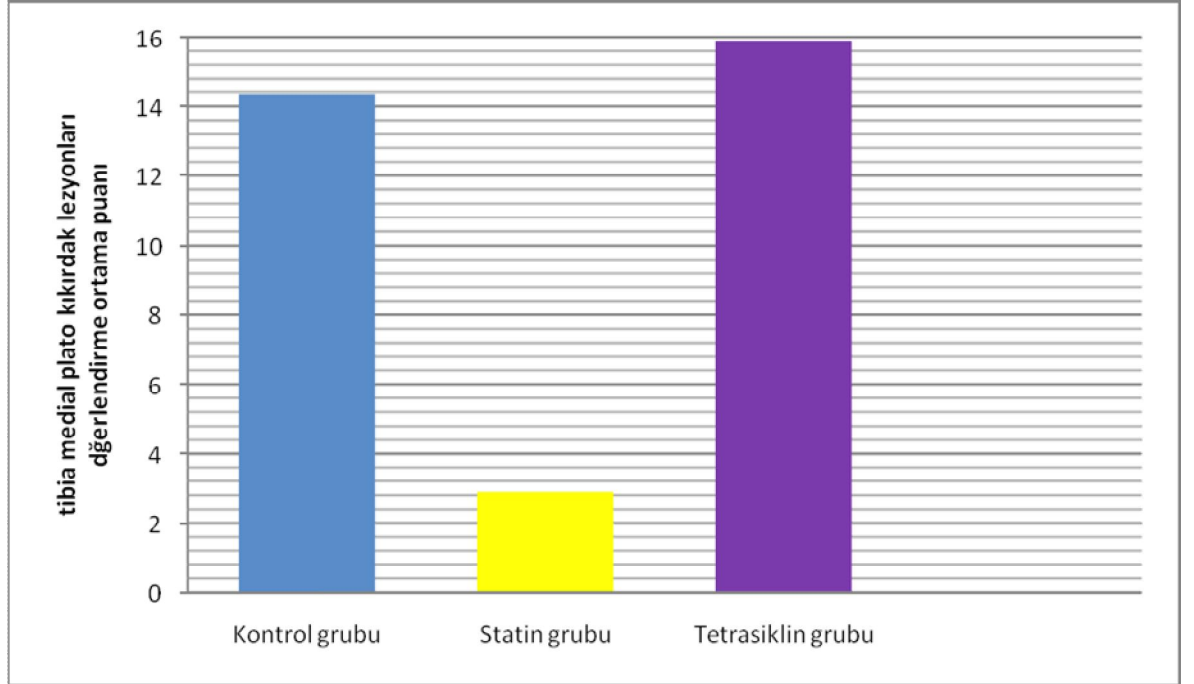
Diz eklemi medial kompartmanı kıkırdak dokusunun lezyonlarının histolojik ve histokimyasal evrelemesinde kullanılan modifiye Mankin derecelendirme sistemine göre; kıkırdağın yapısı, tanjansiyel, transizyonel ve radyal tabakadaki hücresel değişiklikler, safranin-O tutulumu, tidemark yapısındaki bozukluk ve pannus oluşumunun incelenmesi sonucunda; femur medial kondilinde gelişen lezyonların değerlendirilmesi sonucu elde edilen toplam puan kontrol grubunda ortalama $14,56 \pm 1,00$, statin grubunda $2,2 \pm 1,30$ ve tetrasiklin grubunda $12,70 \pm 5,39$ iken tibia medial plato kıkırdak dokudaki toplam puanlar sırası ile ortalama $14,33 \pm 8,68$, $2,89 \pm 1,96$ ve $15,90 \pm 7,03$ olarak tespit edildi (Tablo-10). Femur medial kondil ve tibia medial plato kıkırdak dokusu için elde edilen puanlar gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile statin grubu arasında anlamlı fark saptanırken ($p < 0,05$); kontrol grubu ile tetrasiklin grubu arasında fark gözlenmedi ($p > 0,05$). Statin grubu ile tetrasiklin grubu karşılaştırılmasında statin grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p < 0,05$) (Şekil-14, 15).

Tablo-10: Modifiye Mankin evreleme sistemine göre diz eklemi medial kompartman kıkırdak lezyonlarının histolojik ve histokimyasal değerlendirilmesi ile her bir grupta elde edilen toplam puanların ortalaması.

	Femur medial kondil (ortalama puan)	Tibia medial plato (ortalama puan)
Kontrol grubu	14,56 ± 1,00	14,33 ± 8,68
Statin grubu	2,2 ± 1,30	2,89 ± 1,96
Tetrasiklin grubu	12,70 ± 5,39	15,90 ± 7,03



Şekil-14: Diz eklemi femur medial kondil kıkırdak dokusu lezyonlarının histolojik inceleme sonucu elde edilen ortalama puanların gruplar arasında karşılaştırılması. Statin grubunda, kontrol grubu ve tetrasiklin grubuna göre medial kompartman kıkırdak dokusunda normal ve hafif yüzey düzensizliği, kıkırdak tabakalarında normale yakın hücre yapısı, normal safranin-O tutulumu, intak tidemark yapısı ve pannus oluşumunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p < 0,05$). Tetrasiklin grubu ile kontrol grubu arasındaki ise fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($p > 0,05$). Gruplar arası sonuçlar ortalama puan olarak standart deviasyon (SD) ile birlikte verilmiştir.



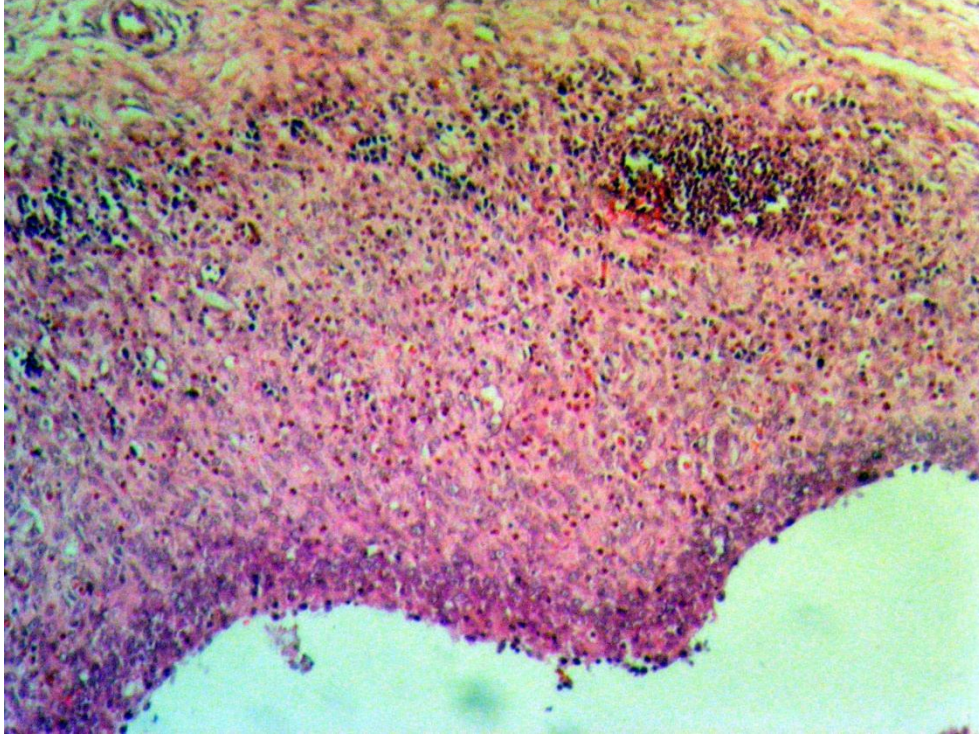
Şekil-15: Diz eklemi tibia medial kondil kırkırdak dokusu lezyonlarının histolojik inceleme sonucu elde edilen ortalama puanların gruplar arasında karşılaştırılması. Statin grubunda, kontrol grubu ve tetrasiklin grubuna göre medial kompartman kırkırdak dokusunda normal ve hafif yüzey düzensizliği, kırkırdak tabakalarında normale yakın hücre yapısı, normal safranin-O tutulumu, intak tidemark yapısı ve pannus oluşumunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p < 0,05$). Tetrasiklin grubu ile kontrol grubu arasındaki ise fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($p > 0,05$). Gruplar arası sonuçlar ortalama puan olarak standart deviyasyon (SD) ile birlikte verilmiştir.

Sinovyal doku değişikliklerinin histolojik değerlendirmesinde, sinovyalı döşeyen hücre tabakasında hücrelerin hiperplazisi, hipertrofisi, inflamatuvar hücre infiltrasyonu incelenmesinden elde edilen sonuçlara göre sinovyalı döşeyen hücre tabakasında; kontrol grubunda hücre hiperplazisi tavşanların 2'sinde (%22) hafif, 4'ünde (%44) orta derece ve 3'ünde (%33) ciddi derecede idi (Şekil-16). Hücre hipertrofisi tavşanların 2'sinde (%22) hafif, 4'ünde (%44) orta derece ve 3'ünde (%33) ciddi derecede idi (Şekil-16). İnflamatuvar hücre infiltrasyonu ise 4'ünde (%44) hafif, 3'ünde orta derece ve 2'sinde (%22) ciddi derecede idi. Statin grubunda ise hücre hiperplazisi tavşanların 3'ünde (%33) gözlenmez iken, 4'ünde (%44) hafif ve 2'sinde (%22) orta derecede idi; hücre hipertrofisi 3'ünde (%33) gözlenmez iken, 4'ünde (%44) hafif ve 2'sinde (%22) orta derecede idi. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu ise tavşanların 3'ünde (%33) hafif ve 1'inde (%11) ciddi

derecede iken 5'inde (%55) inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptanmadı. Tetrasiklin grubunda hücre hiperplazisi tavşanların 6'sında (%60) hafif, 3'ünde (%30) orta derece ve 1'inde (%10) ciddi derecede idi (Şekil-16); hücre hipertrofisi tavşanların 6'sında (%60) hafif ve 3'ünde (%30) orta derece, 1'inde (%10) ciddi derecede idi (Şekil-16). İnflamatuvar hücre infiltrasyonunun tavşanların 2'sinde (%20) hafif ve 8'inde (%80) orta derecede olduğu tespit edildi (Tablo-11).

Tablo-11: Yoshimi evreleme sistemine göre sinovyal dokuda sinoviyayı döşeyen hücre tabakasının histolojik değerlendirmesinde tavşanların gruplara dağılımı.

	Kontrol grubu	Statin grubu	Tetrasiklin grubu
Sinoviyayı döşeyen hücre tabakası			
I. Hiperplazi			
Normal	-	3	-
Hafif	2	4	6
Orta derece	4	2	3
Ciddi	3	-	1
Toplam	9	9	10
II. Hipertrofi			
Normal	-	3	-
Hafif	2	4	6
Orta derece	4	2	3
Ciddi	3	-	1
Toplam	9	9	10
III. İnflamasyon			
Normal	-	5	-
Hafif	4	3	2
Orta derece	3	-	8
Ciddi	2	1	-
Toplam	9	9	10



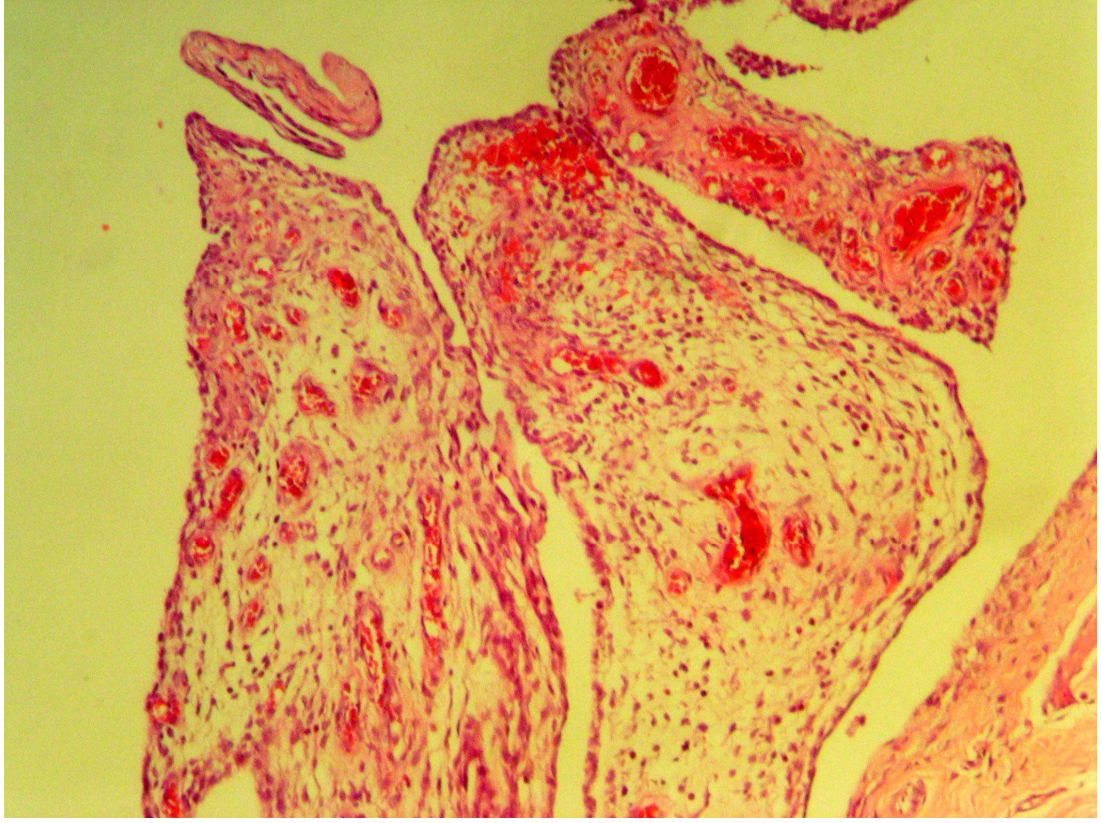
Şekil-16: Sinoviyayı döşeyen hücre tabakasında orta derecede hiperplazi ve hipertrofi, subsinovyal alanda ciddi inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmektedir (kontrol grubu), (HE, X100).

Sinovyal doku değişikliklerinin histolojik değerlendirmesinde, subsinovyal bölgedeki granülasyon dokusunun proliferasyonu, vaskülarizasyonu, inflamatuvar hücre infiltrasyonu incelenmesinden elde edilen sonuçlara göre; kontrol grubunda granülasyon dokusunun proliferasyonunun tavşanların 4'ünde (%44) hafif, 3'ünde (%33) orta derece ve 2'sinde (%22) şiddetli olduğu, statin grubunda ise tavşanların 5'inde (%55) normal, 3'ünde (%33) hafif, 1'inde (%11) şiddetli olduğu, tetrasiklin grubunda ki tavşanların 2'sinde (%20) hafif, 8'inde (%80) orta derecede olduğu saptandı. Vaskülarizasyonun incelemesinde; kontrol grubunda tavşanların 2'sinde (%22) hafif, 4'ünde (%44) orta derece ve 2'sinde (%22) şiddetli olduğu (Şekil-17), statin grubunda ise tavşanların 3'ünde (%33) vaskülarizasyon olmadığı, 5'inde (%55) hafif, 1'inde (%11) şiddetli vaskülarizasyon olduğu (Şekil-17), tetrasiklin grubundaki tavşanların 2'sinde (%20) hafif ve 8'inde (%80) orta derece olduğu tespit edildi. İnflamatuvar hücre infiltrasyonunun değerlendirilmesinde; kontrol grubunda tavşanların 3'ünde (%33) hafif, 4'ünde (%44) orta derece ve 2'sinde (%22) şiddetli

infiltrasyon (Şekil-16), statin grubunda ise tavşanların 2'sinde (%22) normal, 6'sında (%66) hafif, 1'inde (%11) şiddetli infiltrasyon olduğu, tetrasiklin grubundaki tavşanların 1'inde (%10) hafif, 5'inde (%50) orta derecede ve 4'ünde (%40) (Şekil-16) ciddi derecede infiltrasyon olduğu tespit edildi (Tablo-12).

Tablo-12: Yoshimi evreleme sistemine göre sinovyal dokuda subsinovyal doku değişikliklerinin histolojik değerlendirmesinde tavşanların gruplara dağılımı.

	Kontrol grubu	Statin grubu	Tetrasiklin grubu
Subsinovyal doku			
I. Granülasyon dokusunun proliferasyonu			
Normal	-	3	-
Hafif	2	5	2
Orta derece	5	-	8
Ciddi	2	1	-
Toplam	9	9	10
II. Damarlanma			
Normal	-	2	-
Hafif	1	6	2
Orta derece	4	-	8
Ciddi	4	1	-
Toplam	9	9	10
III. İnflamasyon			
Normal	-	2	-
Hafif	3	6	1
Orta derece	4	-	5
Ciddi	2	1	4
Toplam	9	9	10

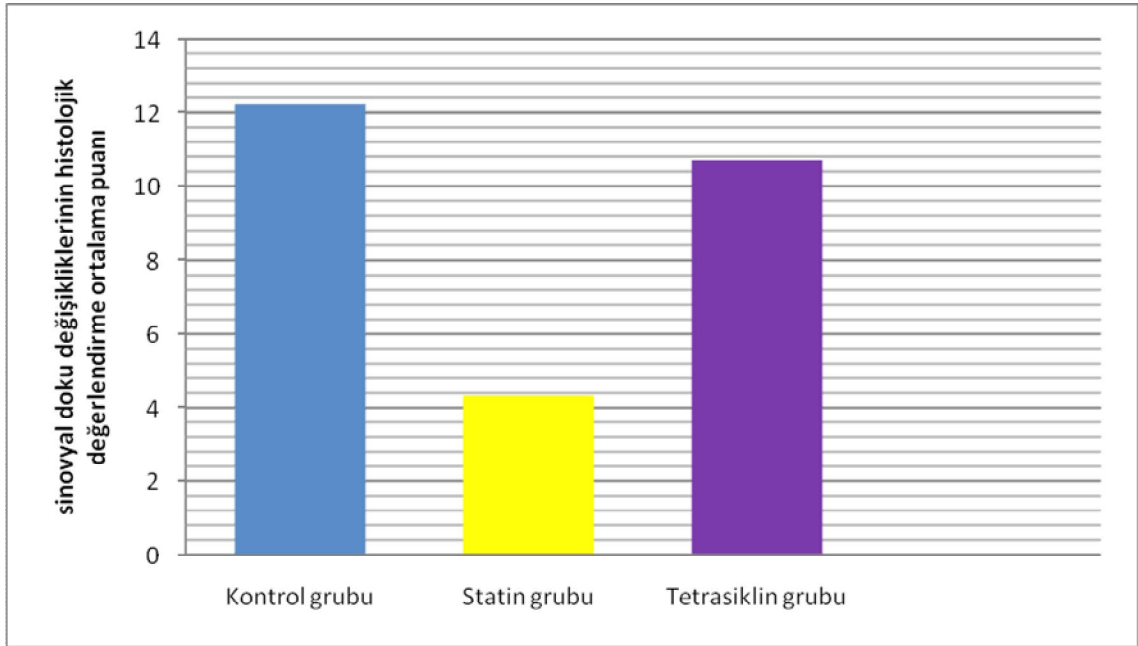


Şekil-17: Subsinovyal bölgede ciddi vaskülarizasyon görülmektedir (kontrol grubu), (HE, X100).

Sinovyal doku değişikliklerinin histolojik değerlendirmesinde, sinoviyayı döşeyen hücre tabakasında hücrelerin hiperplazisi, hipertrofisi, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve subsinovyal bölgede granülasyon dokusunun proliferasyonu, vaskülarizasyonu, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun incelenmesi ile elde edilen toplam puanlar, kontrol grubunda $12,22 \pm 3,63$, statin grubunda $4,33 \pm 2,69$ ve tetrasiklin grubunda ise $10,70 \pm 2,62$ olarak tespit edildi (Tablo-13). Gruplardan elde edilen puanlar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile statin grubu arasında anlamlı fark saptanırken ($p < 0,05$), kontrol grubu ile tetrasiklin grubu arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p > 0,05$). Statin grubu ile tetrasiklin grubu arasında istatistiksel değerlendirmede statin grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p < 0,05$) (Şekil-18).

Tablo-13: Yoshimi evreleme sistemine göre sinovyal doku değişikliklerinin histolojik değerlendirilmesi ile her bir grupta elde edilen toplam puanların ortalaması.

Sinovya değişikliği	Kontrol grubu	Statin grubu	Tetrasiklin grubu
Ortalama puan	12,22 ± 3,63	4,33 ± 2,69	10,70 ± 2,62



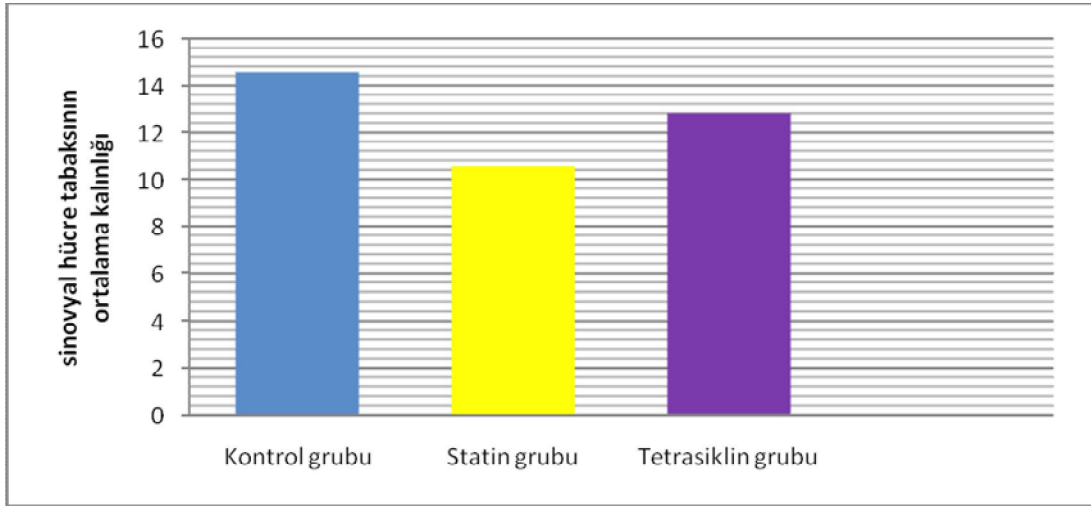
Şekil-18: Sinovyal doku değişikliklerinin histolojik değerlendirilmesinden elde edilen ortalama puanların gruplar arasında karşılaştırılması. Statin grubunda, kontrol grubu ve tetrasiklin grubuna göre sinoviyayı döşeyen hücre tabasında hücre hiperplazisi, hipertrofisi ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma ve subsinovyal bölgedeki granülasyon dokusunun proliferasyonunda, damarlanmasında ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,05$). Tetrasiklin grubu ile kontrol grubu arasında fark saptanmadı ($p > 0,05$). Gruplar arası sonuçlar ortalama puan olarak standart deviyasyon (SD) ile birlikte verilmiştir.

Sinovyal hücre tabakasının kalınlığı kontrol grubunda ortalama $14,56 \pm 2,35 \mu\text{m}$, statin grubunda ortalama $10,56 \pm 1,01 \mu\text{m}$ ve tetrasiklin grubunda $12,80 \pm 0,79 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü. Sonuçların istatistiksel olarak karşılaştırılmasında kontrol grubu ile statin grubu arasında anlamlı fark saptanırken ($p < 0,05$), kontrol grubu ile tetrasiklin grubu arasında anlamlı fark

saptanmadı ($p>0,05$). Statin grubu ile tetrasiklin grubu karşılaştırmasında statin grubu lehine anlamlı fark saptandı ($p<0,05$) (Tablo-14) (Şekil-19).

Tablo-14: Sinovyalı döşeyen hücre tabakasının kalınlığının değerlendirilmesi ile her bir grupta elde edilen toplam puanların ortalaması.

	Kontrol grubu	Statin grubu	Tetrasiklin Grubu
Sinovyalı döşeyen hücre tabakasının kalınlığı (μm)	14,56 \pm 2,35	10,56 \pm 1,01	12,80 \pm 0,79



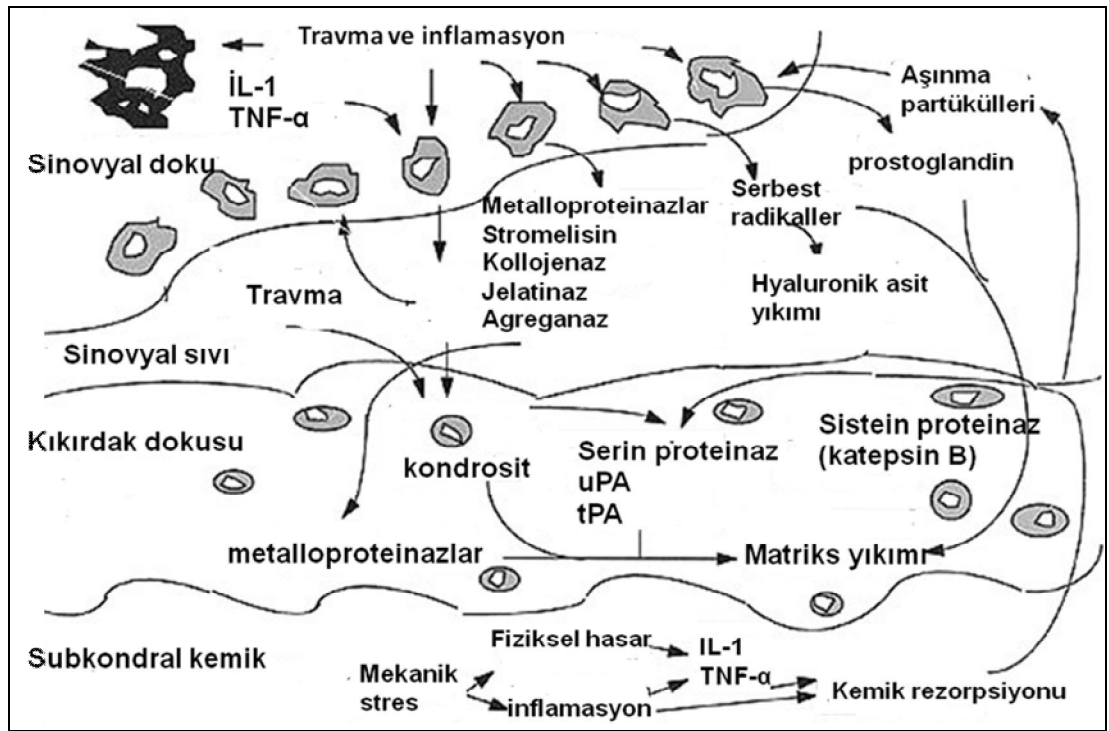
Şekil-19: Sinovyalı döşeyen hücre tabakasının ortalama kalınlığının gruplar arası karşılaştırılması. Statin grubunda, kontrol grubu ve tetrasiklin grubuna göre sinovyal doku hücre tabakası kalınlığında istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ($p<0,05$). Tetrasiklin uygulaması ile kontrol grubu arasında fark anlamsızdı ($p>0,05$). Gruplar arası sonuçlar ortalama puan olarak standart deviyasyon (SD) ile birlikte verilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sinovyal eklemleri etkileyen ve progresif seyirli bir hastalık olan OA, orta ve ileri yaş popülasyonda en sık eklem ağrısı ve fonksiyonel kayıp nedenidir (51). OA'in nedenlerinin tam olarak anlaşılmamış olmasına karşın eklem kıkırdağını ve subkondral kemiği etkileyen biyomekanik stresler ve eklem kıkırdak dokusunda ve sinovyal membranda oluşan metabolik (anabolik ve katabolik) değişiklikler, genetik faktörler ve yaş bu hastalığın oluşumunda önemli derecede yer almaktadır (52-54). Tek ya da aynı anda birden fazla eklemi ilgilendiren bu hastalıkta çoğunlukla diz, kalça, ayak bileği, omurga ve el eklemleri tutulmaktadır. Eklem kıkırdağına ek olarak sinovyal doku, bağlar, kapsül, kas, subkondral ve metafizial kemikte de patolojik değişiklikler görülmektedir (55, 56). Bu hastalığın tedavisinde amaç; ağrı ve fonksiyon kaybını gidermektir. Tedavisinde konservatif ve cerrahi birçok farklı metodun uygulandığı bu olgularda kıkırdak hasarını engellemek veya ilerlemesini yavaşlatmak hedeflenmektedir. İleri evre kıkırdak hasarı olan OA' li olguların cerrahi tedavisinde günümüzde sıkça uygulanan ve başarılı orta-uzun dönem izlem sonuçları olan total eklem protezlerinin gelecek iki dekatta uygulanmasında altı kata varan oranda artış olacağı bildirilmektedir. Hastalığın tedavisinde gelişebilecek sorunlar, bu sorunların çözümündeki güçlükler ve yüksek maliyet araştırmacıları uygulaması kolay, maliyeti düşük ve etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yönelmiştir (57, 58).

OA'in patogenezinde birçok farklı etken tanımlanmıştır (8, 52). Viskoelastik ve kompresif özellikleri olan kıkırdak dokunun bu özellikleri hücre dışı matriks (HDM) yapısının korunabilmesine bağlıdır. Normal kıkırdak dokuda HDM metabolizması yapım ve yıkım işlemlerinin dengede olduğu dinamik bir süreçtir. Bu dengenin yıkım lehine bozulduğu bir hastalık olan OA' te yıkıma neden olan katabolik enzimlerin sentez ve salınımı artar. Kıkırdak hücreleri ve sinovyal hücreler üzerinde travma, mekanik stres ve inflamasyon katabolik aktivasyona sahip olan IL-1, TNF- α , IL-6 ve NO gibi

sitokinlerin salınımını uyarır ve katabolik sinyal oluşturan bu mediatörlerin kıkırdak matris yıkımına neden olan kolajenaz, jelatinaz, agreganaz, elastaz ve fibrin yıkıcı stromelin-1'in oluşturduğu matris metalloproteinazları (MMP) aktifleştirdiği gösterilmiştir (8-10). Matris metalloproteinazların gelişen kıkırdak yıkımı sonucu eklem içerisine glikozaminoglikan (GAG) salınımına neden olduğu ve sinovyal sıvıda sitokinlerin artmasına yol açarak sinovyal hücrelerde inflamasyon gelişmesi sonucu reaksiyonel sinovite sebep olduğu bildirilmiştir (6, 59, 60) (Şekil-20).



Şekil-20: Kıkırdak matris yıkımında rol alan mediatörler (47).

Kıkırdak dokuda yıkıma neden olan mediatörlerin etkilerini önleyebilecek, proteolitik enzimleri baskılayabilecek veya matris sentezini arttıracak terapötik ajanlar günümüzde OA tedavisinde koruyucu yöntemlerin geliştirilmesinde araştırma konularını oluşturmaktadır (1, 7). Son yıllarda lipit düşürücü ilaç olan statinlerin ve antimikrobal bir ajan olan tetrasiklinlerin antiinflamatuvar ve immünomodulator pleotrofik (esas etki dışındaki etkiler) etkilerinin olabileceği çeşitli hastalık gruplarında ve özellikle farklı bağ dokuları üzerinde gösterilmiştir (16, 21, 61-63). Statinlerin kültür ortamında

farklı bağ dokuları üzerindeki etkinliğinin 2-25 µM aralığında değişen dozlarda yapılan çalışmalarla araştırıldığı bildirilmiştir (20, 64, 65). Statinlerin antiinflamatuvar etkileri ilk olarak koroner arter hastalığında, arterial inflamasyonu azaltması ve aterosklerotik plakları stabilize etmesi ile tespit edilmiştir (16). Pahan ve ark. (21) statinlerin beyin bağ dokusundaki astrositlerden, mikroglialardan ve makrofajlardan, Madonna ve ark. (61) embriyonik kardiyak myoblastlardan ve Wagner ve ark. (62) aortik endotel hücrelerinden NO salınımını azalttığını veya engellediğini göstermişlerdir. Bununla birlikte Luan ve ark. (14) statinlerin vasküler düz kaslardan, Molloy ve ark. (66) karotid plaklardan, Pillinger ve ark. (63) gastrik epitel hücrelerinden MMP salınımını engellediğini bildirmişlerdir. Takemoto ve ark. (28) statinlerin vasküler endotel hücrelerinde NO salınımı engelleyerek ve makrofajlardan MMP salınımını baskılayarak aterosklerotik lezyonların yıkımını engellediğini, bu sayede koroner arter hastalığında etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Zhao ve ark. (67) hipertansiyonu olan hastalara günlük 40 mg simvastatin 1 hafta süre ile uyguladıkları çalışmalarında hastalardan elde ettikleri periferik kanda enzim ilişkili immüno-sorbant assey (ELİSA) yöntemi ile IL-1 konsantrasyonlarını değerlendirmişler ve sonuç olarak statinlerin periferik mononükleer hücrelerden IL-1 salınımını engellendiğini bildirmişlerdir. Kim ve ark. (20) farelerin akciğer dokusundan bronkoalveoler lavaj ile elde ettikleri alveoler makrofajlara sigara dumanına maruz bırakılan akciğer doku örneklerinin eklenmesinden 1 saat önce 10 µM simvastatin uyguladıkları çalışmalarında PCR yöntemi ile inceledikleri örneklerde kronik obstrüktif pulmoner hastalıkta amfizematöz değişikliklerde önemli rol oynayan MMP-9'un (jelatinaz B) simvastatin tedavisi ile alveoler makrofajlardan üretimini engellediğini göstermişlerdir. Thunyakitpisal ve ark. (64) ise yeni doğan fare parietal kemiklerinden elde ettikleri örneklerle insan osteosarkom ve fibrosarkom hücrelerini ekledikleri ve 2,5-15 µM dozunda simvastatin uygulayarak 48 saat inkübasyon yaptıkları çalışmalarında zimografi ve Western blot yöntemi ile kültür dokusundaki osteoblastlarda ve fibrosarkom hücrelerinde simvastatinin MMP-9 mRNA ekspresyonunu baskılayarak üretimini engellediğini rapor etmişlerdir. Ayrıca Henrich ve ark. (65) periferik

kandan izole ettikleri endotel progenitor hücrelere 5 gün süre ile TNF- α ve 25 μ M simvastatin uyguladıkları çalışmalarında hücre ölümünü (apoptozis) TACS-Annexin-V-FITC analizi ile saptamışlar ve sonuç olarak simvastatinin endotel progenitor hücrelerde (EPC) TNF- α ile uyarılan hücre ölümünü (apoptozis) engellediğini göstermişlerdir.

Tetrasiklinler geniş spektrumlu antibiyotikler olup yaygın bir kullanım alanına sahiptirler. Bu ajanların antibiyotik etkileri dışında antiinflamatuvar ve immünomodulator etkileri ilk olarak Galub ve ark. (15) tarafından diabetik farelerde periodantal kolajenaz aktivitenin azaldığının gösterilmesiyle ortaya konmuştur. Tetrasiklinlerin farklı bağ dokuları üzerindeki etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda 10-100 mg aralığında değişen dozlarda intraperitoneal ve oral olarak uygulandığı bildirilmiştir (18, 19, 68). Küçük ve ark. (18) farelerde renal reperfüzyon yaralanması oluşturdukları çalışmalarında intraperitoneal olarak 10 mg/kg doksisisiklin ile tedavi edilen grupta MMP-2, IL-1, IL-6, TNF- α etkisinin belirgin olarak azaldığını, bununla birlikte apoptotik hücrelerde belirgin azalma gözlemlendiğini tespit etmişlerdir. Lavieno ve ark. (68) kronik blefaritli hastalarda 4 hafta 100 mg doksisisiklin uyguladıkları çalışmalarda MMP-9 aktivitesinin anlamlı olarak azaldığını bildirmişlerdir. Huang ve ark. (19) ise farelerde deneysel inflamatuvar kolit geliştirdikleri çalışmalarında intraperitoneal olarak 30 mg/kg tetrasiklin uygulamasının intestinal dokularda iNOS ekspresyonunu engellediğini, proinflamatuvar sitokin oluşumunu azalttığını ve MMP-2, 3, 9 ve 13 mRNA transkripsiyonunu engellediğini göstermişlerdir. Bu çalışmalar ışığında statinlerin ve tetrasiklinlerin özelleşmiş bir bağ dokusu olan kıkırdak dokusu üzerinde de etkisinin olabileceği ve OA gelişimini yavaşlatabileceği veya engelleyebileceği düşünülmüş ve bununla ilgili kısıtlı sayıda çalışma yapılmıştır (6, 17, 22-26). Yapılan çalışmalar özellikle in vitro ortamda OA patogenezinde rol oynayan sitokinlerin ve bu sitokinler ile aktive olan MMP'lerin belirlenmesine yöneliktir. Fakat bu çalışmaların birçoğunda statinlerin ve tetrasiklinlerin kıkırdak doku üzerinde makromorfolojik ve histomorfolojik değişiklikleri incelenmemiştir. Bunun için çalışmamızda deneysel tavşan modelinde ön çapraz bağı keserek oluşturulan erken dönem

osteoartritte intraartiküler statin ve tetrasiklinlerin kıkırdak doku üzerinde in vivo etkinliğini kontrol grubu ile karşılaştırılarak makroskopik ve mikroskopik olarak incelendi.

Yavaş seyirli bir hastalık olan osteoartritin gelişimi, ilerlemesi ve tedavisi ile ilgili deneysel araştırmaları insanlarda yapmanın etik olmaması ve kıkırdak dejenerasyon sürecinin uzun olması nedeniyle çeşitli deneysel modeller geliştirilmiştir (69-72). Uygun deneysel OA modeli; ekonomik, uygulaması kolay, tekrarlanabilir olmalı değerlendirme için yeterli miktarda doku elde edilmesine olanak sağlamalı, mekanizma ve histopatolojik değişiklikler açısından insanlarda gelişen osteoartrite benzer özellikte olmalıdır. Köpek, at, fare ve tavşan gibi farklı birçok deney hayvanının kullanıldığı bu modellerde OA geliştirmek amacıyla immobilizasyon, menisektomi, ekstremitte denervasyonu, kimyasal ajanlar ve eklemi instabil hale getiren yöntemler uygulanmıştır (69, 70, 72-74). Evans ve ark. (75) fare dizlerinde immobilizasyon uygulayarak oluşturdukları modelin insan OA'indeki süreç ile benzer olduğunu belirtirken Yoshioko ve ark. (45) ise bu modelde kıkırdak onarım özelliklerinin insandaki spontan OA'ten farklı olabileceğini ayrıca parsiyel medial menisektomi yöntemi ile geliştirilen osteoartritik değişikliklerin de çok yavaş progresyonlu olduğunu belirtmişlerdir. Hulth ve ark. (70) bu süreci hızlandırmak amacıyla total medial menisektomi ile birlikte iç yan bağ ve her iki çapraz bağı keserek oluşturdukları modelde, uygulanan cerrahi işlem sonrası gelişen yoğun inflamasyonun, eklem çevresinde fibroze ve buna bağlı hareket kısıtlılığına neden olması sonucu OA modelinde meydana gelen dejeneratif değişikliklerin değerlendirme için yeterli düzeyde olmadığını bildirmişlerdir. Eklem stabilizasyonunu azaltarak biyomekanik yüklenmeleri değiştiren ön çapraz bağ kesilmesi yöntemi ise uygulaması kolay, komplikasyonu az olup insandakine benzer özellikte osteoartritik değişiklikler geliştirmesi nedeniyle farklı birçok deneysel çalışmada tercih edilen yöntem olmuştur (69, 76, 77).

Deneysel OA modellerinde kullanılacak hayvan türünün de çalışma sonuçlarını değerlendirmede etkili olabileceği belirtilmektedir (49, 69). İdeal deney hayvanı, biyomekanik olarak insan eklemi ile benzer özellikler taşıyan,

OA oluşturmak amacıyla yapılacak cerrahinin kolayca uygulanabileceği, değerlendirme için yeterli doku teminine olanak veren, ucuz ve bakımı kolay olarak tanımlanabilir. Pond ve Nuki (78), köpeklerde ÖÇB'ı keserek oluşturdukları OA modelinde, gelişen dejeneratif değişikliklerin insandakine benzer özellikte olduğunu göstermelerine karşın, köpeklerin cerrahi uygulanmış ekstremitelerine yük vermeden hareket edebilme yeteneği taşıması ve maliyetin yüksek olması nedeniyle çalışmalarda daha az tercih nedeni olduğu bildirilmektedir (49). İnsan dizi ile benzer yapısal özellikler gösteren ve cerrahi uygulanmış ekstremitelerini de hareket sırasında kullanan tavşanda ise ön çapraz bağ kesilmesi sonrası kıkırdak dokuda gelişen erken dönem değişikliklerin yavaş seyretmesi ve morfolojik özelliklerinin insanlardaki osteoartrit ile uyum göstermesi, bu modelin deneysel çalışmalarda sıkça tercih edilmesine neden olmaktadır. Bununla birlikte, tavşan dizlerinde küçük bir insizyondan medial menisküse zarar vermeden ÖÇB'ın kesilebilmesi, ameliyat sonrası kanama ve sinovitin az olması ve kıkırdak dejenerasyonunun kademeli olarak gelişmesi, bu modelin ek avantajları olup uygulanan ajanların terapötik etkinliğini değerlendirmede seçilebilir bir yöntem olduğu belirtilmektedir (49, 79). Statinlerin ve tetrasiklinlerin kıkırdak ve sinovyal doku üzerindeki etkinliklerinin kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirildiği bu çalışmada deneysel OA oluşturmak amacıyla tavşanlarda ÖÇB'ın kesildiği model kullanıldı.

Erken dönem OA'te görülen hücre dansitesinde azalma, yüzeysel kıkırdak tabakasında bozulma veya fibrilasyonun oluşması için deneysel modellerde farklı süreler kullanılmıştır (45, 69, 77). Tavşan diz ekleminde ÖÇB kesilmesi sonrası erken dönem osteoartritik değişikliklerin gelişmesi için gereken bu sürenin genellikle 6-8 hafta olduğu belirtilmektedir (80). Yoshioka ve ark.'nın (45) 30 tavşanı 3 gruba ayırdıkları ve ÖÇB kesimi sonrası osteoartritik değişiklikleri 4, 8 ve 12. haftalarda değerlendirdikleri çalışmalarında, erken dönem değişikliklerin 4. haftada başladığını ancak hiçbir deney hayvanında kıkırdak tabakalarında tam kat tutulum olmadığını, 8 ve 12. haftalarda ise tavşanların % 50'sinde tam kat tutulumun görüldüğünü tespit etmişlerdir. Papaioannou ve ark. (69) ise aynı modeli kullanarak

yaptıkları çalışmalarında erken dönem değişikliklerin ilk 8 haftada hızla geliştiğini, 16. haftadaki değerlendirmelerinde ise onarım sürecine bağlı olarak progresyonun azaldığını, 8 ve 16. haftalarda makroskopik ve eklem kıkırdak morfolojisinin mikroskopik değerlendirme sonuçları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda deneysel OA modelinin gelişmesi için 12 hafta kullanılmış olup bu süre sonunda incelenen kontrol grubu kıkırdak dokusunun tüm tabakalarında dejeneratif değişikliklerin geliştiği tespit edilmiştir.

Deneysel OA modellerinde kıkırdak ve sinovyal dokuların değerlendirmesinde birçok evreleme sistemi kullanılmaktadır. Her sistemin avantaj ve dezavantajları mevcuttur. İdeal evreleme sistemi objektif değerlendirme kriterleri içermeli ve kullanımı kolay olmalıdır. Kıkırdak ve sinovyal dokunun histopatolojik incelemesinde Mankin, Mendolson, Yoshimi, Sellers, Wakitani, Pineda değerlendirmeleri ve bunların modifikasyonları birçok çalışmada kullanılmıştır (48, 49, 81-84). Bu değerlendirme sistemleri kıkırdak ve sinovyal dokudaki dejeneratif değişiklikleri ışık mikroskobu ile histopatolojik ve histokimyasal özelliklerini kriter olarak kullanan yarı kantitatif değerlendirme yöntemleridir. Değerlendirme sistemlerinde subjektif hataları azaltmak ve histolojik bulguların kantitatif olarak değerlendirilmesini sağlamak amacıyla son yıllarda histomorfometrik analizler çalışmalarda kullanılmaktadır (45). Bununla birlikte bu analiz yöntemlerinin ek donanım, tecrübeli ekip ve buna paralel olarak ek maliyet gerektirmesi kullanımlarını kısıtlamaktadır. Çalışmamızda kullanımı kolay olan, kıkırdak ve sinovyal dokudaki değişiklikleri yarı kantitatif olarak değerlendiren modifiye Mankin (48) ve Yoshimi (49) evreleme sistemleri kullanılmıştır.

Osteoartrit tedavisinde güncel yaklaşım olan kıkırdak koruyucu ajanların etki gücü ve mekanizması ile ilgili farklı görüşler ortaya sürülmüştür (6, 22-26). Son yıllarda kolesterol düşürücü statinlerin ve antimikrobial ajan olan tetrasiklinlerin antiinflamatuvar ve immünomodulatör pleotrofik etkilerinin çeşitli hücre tiplerinde ve bağ dokularında etkinliğinin gösterilmesi ile bu iki ilacın osteoartritte kıkırdak koruyucu ajan olarak kullanabileceği gündeme gelmiştir. Birçok çalışmada kıkırdak yıkımında matriks metalloproteinazların

önemli rolü olduğu gösterilmiştir (6, 22, 24). Bu yıkıcı proteolitik enzimlerin kondrositlerin aktive edici sitokinlerle uyarılması sonucu üretilip, salgılanarak kıkırdak matriksin tüm komponentlerinin yıkımına neden olduğu tespit edilmiştir (22). Araştırmacılar OA mekanizmasında rol oynayan IL-1, IL-6 ve NO gibi sitokinlerin ve bunların aktive ettiği matriks metalloproteinazların etkilerini moleküler düzeyde ve çoğunlukla kıkırdak kültürü üzerinde yaptıkları çalışmalarla araştırmışlardır (6, 22, 24). Simopoulou ve ark. (24) primer osteoartritli hastalardan aldıkları kıkırdak örneklerine kültür ortamında 2 gün süre ile 50 µM statin uygulayıp statinlerin inflamatuvar sitokinlerin ve proteolitik enzimlerin üretimi üzerine etkilerini değerlendirmek için reverse transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve Western blot analizi kullandıkları çalışmalarında; bu ajanın IL-1 üretimini azalttığını ve MMP-13 mRNA transkripsiyonunu engellediğini bildirmişlerdir. Lazzerini ve ark. (22) osteoartritlik kalça kıkırdak dokusundan elde ettikleri örneklerde kültür ortamında IL-1 ve statin ekleyerek 48 saat inkübasyon yaptıkları çalışmalarında ELİSA yöntemi kullanarak kondrositlerde MMP-3 üretiminin engellendiğini göstermişlerdir. Leung ve ark. (85) farelerde 0 ve 21. günde intradermal olarak sığır tip II kolajeni uygulayarak oluşturdukları artritte 21. günden itibaren 14 gün süre ile intraperitoneal 40 mg/kg simvastatin uygulaması sonrası bu ajanın kolajen spesifik Th-1 humoral ve selüler immün yanıtı baskıladığını, anti-CD3 ve anti-CD28 proliferasyonunu azalttığını ve mononükleer hücrelerden IFN-γ salınımını engellediğini göstermişlerdir. Bu moleküler düzeyde tespit edilen etkilerin kıkırdak doku yıkımını engellediğini göstermek için kıkırdak doku incelemesi yaptıklarında simvastatinlerin kıkırdak yüzey erozyonunu ve GAG kaybını anlamlı olarak azalttığını tespit etmişlerdir. Akasaki ve ark. (6), ön çapraz bağı keserek osteoartrit oluşturdukları tavşan diz modelinde 0,01 mg/ml, 0,1 mg/ml ve 0,5 mg/ml dozunda 0,2 ml/kg olacak şekilde eklem içi mevastatin uyguladıkları çalışmalarında makroskopik ve histolojik olarak inceledikleri kıkırdak dokusu tabakalarında tam kat erozyonun ve subkondral kemik erozyonunun azaldığını ve kıkırdak doku yapısında tam dezorganizasyonunu ve tabakalarda hiposelüleriteyi engellediğini göstermişlerdir. Ayrıca sinovyal

dokunun ELİSA ve RT-PCR yöntemi ile incelenmesi sonucunda monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1), IL-1, MMP-3 ve MMP-13 gen ekspresyonlarını engelleyerek üretimlerini azalttığını göstermişlerdir. Shlopov ve ark. (23) total diz replasmanı yapılan hastalardan elde ettikleri kıkırdak doku örneklerini 24 saat serbest kültür ortamında bekletip 24 saat ise TNF- α ile uyararak 0,1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ ve 50 $\mu\text{g/ml}$ doksisisiklin ile inkübe ettikleri çalışmalarında, Northern blot ve Western blot analizi ile değerlendirme sonuçlarında MMP-13 üzerinde 50 $\mu\text{g/ml}$ dozun %84, 10 $\mu\text{g/ml}$ dozun %72 ve 0,1 $\mu\text{g/ml}$ dozun ise sadece %40 azalmaya neden olduğunu, MMP-1 üzerinde ise sırasıyla %88, %72, %58 azalmaya neden olduğunu tespit etmişler ve doksisisiklinin etkilerinin doz bağımlı olduğu sonucuna varmışlardır. Bowyer ve ark. (26) guinea farelerinde 66 gün subkutan olarak tetrasiklin enjeksiyonu sonrası florokin assey ile kıkırdak değerlendirmesinde MMP-13 ve 8 aktivitesinde %100, MMP-9 aktivitesinde %65 ve MMP-1 aktivitesinde %24 azalma tespit etmişlerdir. Sonuç olarak tetrasiklinlerin matriks metalloproteinazlar üzerine seçici etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir. Vidal ve ark. (25) çalışmalarında tetrasiklinlerin C-4 dimetilamino grubunun koternizasyonu sonucu kimyasal olarak modifiye edilmiş formunun kıkırdak matriksinde daha iyi konsantre olduğunu ve bunların kıkırdak doku üzerinde etkilerinin normal tetrasiklinlerden anlamlı olarak daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. De Beri ve ark. (17) ise guinea farelerinde yaptıkları çalışmalarında 3 gruba ayırdıkları tavşanları kimyasal olarak modifiye edilmiş 12 α deoksi 4-dedimetilaminotetrasiklin ve doksisisiklin ile oral olarak tedavi uygulamışlar ve kimyasal modifiye ajanın kıkırdak dokuda tidemark yapısını koruduğu, fibrilasyonu, kıkırdak eburnasyonu ve subkondral sklerozu anlamlı olarak azalttığını belirtirken doksisisiklin ile tedavi edilmiş grubun kontrol grubu ile karşılaştırmasında histolojik ve biyokimyasal olarak hiç bir fark saptamadıklarını bildirmişlerdir. Tetrasiklinlerin intraartiküler uygulama örneklerinin olmaması ve çalışmamızın doz belirleme çalışması olmaması nedeniyle tetrasiklin dozunu, etkinliği gösterilmiş olan statin dozuna benzer miktarda uyguladık. Bu çalışmada, OA patogenezinde rol oynayan inflamatuvar sitokinlerin ve proteolitik enzimlerin üretiminde statin ve

tetrasiklinlerin birçok çalışmada gösterilmiş olan etkinliğinin, geliştirilen deneysel OA modelinde intraartiküler uygulanarak kontrol grubuna göre kıkırdak ve sinovyal dokuda makroskopik ve histolojik düzeyde koruyucu etkileri değerlendirildi.

Çalışmamızda intraartiküler uygulanan statin ve tetrasiklinin etkinliğinin makroskopik değerlendirmesinde, kontrol grubunda tavşanların %77' sinde kıkırdak doku derin tabaka ve subkondral kemikte erozyon ile seyreden ileri evre osteoartritik değişiklikler saptanmış olup statin grubunda ise tavşanların hiçbirisinde ileri evre osteoartritik değişiklik tespit etmedik. Bu grupta kıkırdak doku lezyonlarının sadece minimal fibrilasyon düzeyinde olduğu tespit edildi. Tetrasiklin grubunda ise tavşanların % 50'sinde kıkırdak doku ve subkondral kemikte erozyon (ileri evre) gözlemlendi. Sonuç olarak statinlerin makroskopik kıkırdak doku yapısında belirgin olarak derin tabaka erozyonunu ve subkondral kemik erozyonu engellediği tespit edildi ($p<0,05$). Buna karşın tetrasiklinlerin ileri evre osteoartritik değişiklikler üzerine etkisinin anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$).

Çalışmamızda kıkırdak dokunun histolojik ve histokimyasal değerlendirmesinde femur medial kondil kıkırdak tabakalarındaki yapısal değişikliklerin incelemesinde, kontrol grubunda %33 tam dezorganizasyon ve %33 transizyonel tabakada yarı saptanırken statin grubunda %44 normal kıkırdak yapısı ve %56 hafif yüzey düzensizliği gözlemlendi. Bununla birlikte tetrasiklin grubunda ise transizyonel, radyal ve kalsifiye tabakada tavşanların %60'ında yarı tespit edildi. Kıkırdak doku hücresel incelemesinde ise kontrol grubunda tanjansiyel tabakada %44 hücre kaybı, transizyonel ve radyal tabakada %33 hücre kaybı tespit edilirken; Statin grubunda tanjansiyel tabaka tüm deneklerde normal saptanmış olup transizyonel ve radyal tabakada sadece hafif hiperselülerite gözlemlendi. Tetrasiklin grubunda tanjansiyel tabakada %60 hücre kaybı tespit edildi. Tidemark yapısı ve pannus oluşumuna bakıldığında statin grubunda tüm tavşanlarda pannus gelişmediği ve tidemarkın intakt olduğu gözlenirken tetrasiklin grubunda %40 çok seviyeli tidemark yapısı, kontrol grubunda ise %33 belirsiz tidemark yapısı tespit edildi. Çalışmamızda kıkırdak dokusunun histolojik incelenmesi

sonucunda; statinlerin normal kıkırdak yapısını ve bütünlüğünü kontrol grubuna göre belirgin olarak koruduğu, kıkırdak hücre kaybını anlamlı olarak azalttığı tespit edildi. ($p < 0,05$). Tetrasiklin ve kontrol grubu arasında fark olmadığı gözlemlendi ($p > 0,05$). Akasaki ve ark. (6), çalışmalarında statini en yüksek 0.5 mg/ml dozunda 0,2 ml/kg olacak şekilde uyguladıkları 3. gruba ait bulguları kontrol grubu ile kıyasladıklarında makroskopik dejeneratif değişikliklerin %33, histolojik değişikliklerin %37 oranında ve sinovyal doku değişikliklerinin de %34 oranında engellendiğini göstermişlerdir. Çalışmamızda statini 0,4mg/ml/kg dozunda kullandığımız statin grubunda elde edilen bulgular kontrol grubu ile kıyaslandığında makroskopik lezyonların %80 oranında, kıkırdak dokudaki histolojik değişikliklerin %85 oranında ve sinovyal doku inflamasyonunun %65 oranında engellendiği tespit edildi. Çalışmamızda elde edilen bu bulguların oranının yüksek olmasının nedeninin kullanılan statin dozu ile ilişkili olduğu kanısındayız.

Çalışmamızda kıkırdak dokunun makroskopik, histolojik ve histokimyasal değerlendirmesinde statinlerin etkin şekilde osteoartritik değişikliklerin gelişimini engellemesinin, daha önce birçok çalışmada gösterildiği gibi osteoartrit patofizyolojisinde de rol oynayan uyarıcı sitokinlerin (IL-1, IL-6, TNF- α) ve bu sitokinlerin salınımı sonucu aktifleşen matriks metalloproteinazların (MMP) baskılanması ve aynı zamanda hücre ölümü (apoptozis) oranının azaltılması ile ilişkili olduğu kanısındayız. Kıkırdak doku lezyonları gelişimi üzerine koruyucu etkinliği birçok çalışmada gösterilmiş olmasına karşın çalışmamızda tetrasiklinlerin etkinliği kontrol grubu ile kıyaslandığında fark tespit edilmedi. Bunun nedeni olarak bu ajanların in vivo etkinliğinin olmaması ve intraartiküler uygulama için elverişli olmamasından kaynaklanmış olabileceği kanısındayız. Ayrıca bazı çalışmaların göstermiş olduğu gibi çalışmamızda da tetrasiklinin farklı dozlarının kullanılmamasından dolayı doz bağımlı etkisinin olabileceğini ve kullanılan doksisisiklinin kimyasal olarak modifiye edilmiş ajan olmamasının da bu sonuçlara yol açabileceğini düşünmekteyiz.

Kıkırdak dokusunda kompresif yüklenmelere karşı dayanıklılığı sağlayan önemli moleküllerden birisi de glikozaminoglikanlardır (86-88).

Osteoartrit gelişen eklemlerde kıkırdak dokuda agreganaz ile proteoglikan yıkımı olduğu ve GAG salınımında artma gözlemlendiği bildirilmiştir. Çalışmamızda proteoglikan yıkımı ve salınımı indirekt olarak safranin – O tutulumu ile değerlendirildi. Buna göre kontrol grubunda % 55 oranında orta-ciddi derecede proteoglikan kaybı gözlenirken, statin grubunda ise % 85 oranında kıkırdak dokunun proteoglikan içeriğinin korunduğu tespit edildi. Tetrasiklin grubunda % 40 oranında ciddi derecede GAG kaybı tespit edildi. De Bri ve ark. (87) deneysel hayvan modeli çalışmalarında doksisisiklin ile tedavi uyguladıkları deneklerin kıkırdak dokusunun GAG içeriğinin kontrol grubundan farksız olduğunu ve doksisisiklin kullanımının etkin olmadığını bildirirken, Blumberg ve ark. (86) düşük ve yüksek enerjili travma uygulanan kıkırdak dokusundan elde edilen kültür ortamında yaptıkları in vitro çalışmada 2 hafta doksisisiklin uygulaması sonucu düşük enerjili travma uygulanan grupta doksisisiklinlerin kıkırdak doku GAG içeriğinin korunmasında etkili olduğunu yüksek enerjili travma uygulanan grupta ise etkili olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda kontrol grubu ile tetrasiklin grubu kıkırdak doku GAG içeriği kaybı yönünden karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu gözlemlendi ($p>0,05$). Statin grubunda ise kıkırdak doku proteoglikan içeriğinin korunmasının kontrol ve tetrasiklin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Statinlerin belirgin şekilde katabolik matriks metalloproteinazların (MMP) üretimini ve salgılanmasını engelleyerek GAG yıkımını azalttığı ve bu nedenle kıkırdak proteoglikan içeriğinin korunmasını sağladığı düşüncesindeyiz.

Osteoartritte kıkırdak doku ile birlikte sinovyal doku da etkilenmektedir. OA'in non-inflamatuvar artrit olarak isimlendirilmesi sinovyal dokudaki lökosit sayısının $< 2000/mm^3$ den az olması ile karakterizedir. Fakat OA klinik bulguları olan şişlik, efüzyon ve sertlik sinovyal inflamasyonun varlığını yansıtmaktadır. Artroskopik çalışmalarda, OA hastalarının %50 sinden fazlasında sinovyal dokuda proliferatif ve inflamatuvar değişikliklerin gözlemlendiği bildirilmiştir (89). Sinovyal dokuda histolojik olarak sinovyal hipertrofi, hiperplazi ve subsinovyal dokuda inflamatuvar hücre infiltrasyonunun meydana gelmesi sonucunda aktive olan sinovyal hücrelerden proteolitik

enzimlerin ve sitokinlerin salgılandığı belirtilmiştir (89, 90). Bondeson ve ark. (90) osteoartritte belirgin şekilde sinovyal inflamasyonla birlikte sinovyal dokunun döşeyici hücrelerinde hiperplazi ve yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonunun meydana geldiğini göstermişlerdir. Bu çalışmalarda OA' in sadece kıkırdak hücrelerindeki yıkım ve yapım dengesinin bozulması sonucu olmadığı ve dejeneratif osteoartritin patomekanizmasında sinovyal dokunun da önemli katkısının olduğu öne sürülmüştür. Birçok çalışmada OA patomekanizmasında kıkırdak dokusu üzerine çalışma yapılmış ve sinovyal dokunun etkisi incelenmemiştir. Akasi ve ark. (6) statinlerin kıkırdak dokuda IL-1, MMP-3 ve MMP-13 salınımını ve üretimini engellemediğini gösterirken sinovyal dokuda uyarıcı sitokinlerin ve katabolik matriks metalloproteinazların (MMP) salınımını azalttığını bildirmişlerdir. Borderie ve ark. (91) osteoartrit nedeniyle eklem cerrahisi yapılan hastalardan elde ettikleri sinovyal doku örneklerinin IL-1 ve TNF- α ile uyarılan kültür ortamına tetrasiklin uygulayıp sinovyal dokuları florometrik ve immüno blot analizi kullanarak inceledikleri çalışmalarının sonucunda tetrasiklinlerin iNOS sentezini azalttığını ve bu etkinin doz bağımlı olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda sinovyal doku histopatolojik değişiklikleri ve sinovyal doku kalınlığının değerlendirilmesi sonucunda kontrol grubunda %77 oranında orta ve ciddi hücre hiperplazisi, %77 oranında orta ve ciddi hücre hipertrofisi ve %66 oranında orta ve ciddi derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptanırken, statin grubunda %33 oranında normal hücre yapısı, %44 oranında hafif hiperplazi ve %33 oranında hafif, %11 oranında ciddi inflamatuvar hücre infiltrasyonu tespit edildi. Tetrasiklin grubu değerlendirmesinde %40 oranında orta-ciddi derece hücre hiperplazisi, %40 oranında orta-ciddi derecede hücre hipertrofisi ve %80 oranında orta derece inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Subsinovyal doku, granülasyon dokusu proliferasyonu, vaskülarizasyonu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu yönünden değerlendirildiğinde, statin grubundaki değişikliklerin kontrol ve tetrasiklin grubuna göre az olduğu ve değişikliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0,05$). Sonuç olarak statinlerin kıkırdak doku üzerindeki etkinliklerinin yanında sinovyal inflamasyonu anlamlı derecede

azalttığı gözlemlendi ($p < 0,05$) Çalışmamızda statinlerin sinovyal inflamasyonu engellemesinin, birçok çalışmada gösterilen uyarıcı sitokinleri, katabolik enzimleri ve MCP-1 üretimini azaltarak etkilediği kanısındayız.

Bu çalışmada;

- 1- ÖÇB kesilmesi ile oluşturulan deneysel OA modelinin terapötik ajanların etkilerinin değerlendirilmesinde uygun bir yöntem olduğu
- 2- Statin ve serum fizyolojik (kontrol) uygulamalarının kıkırdak doku üzerine olan etkileri karşılaştırıldığında statinlerin kondroprotektif etkinliğinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu
- 3- Statinlerin bu kondroprotektif etkilerini proinflamatuvar sitokinleri baskılayarak ve proteolitik MMP'lerinin üretim ve salınımını engelleyerek ve apoptozisi durdurarak gerçekleştirdiği
- 4- Statinlerin aynı zamanda osteoartrit gelişiminde önemli rol oynayan sinovyal dokuda sinovyalı döşeyen hücrelerdeki reaksiyonel değişiklikleri ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak dejeneratif değişikliklere yol açan sinoviti engellediği
- 5- Deneysel OA modelinde intraartiküler uygulanan statinlerin kıkırdak ve sinovyal dokuda gelişen makroskopik ve histolojik değişiklikleri engelleme oranının kullanılan doz ile ilişkili olduğu kanısındayız.
- 6- Tetrasiklinler ve serum fizyolojik (kontrol) uygulamalarının kıkırdak doku üzerine olan etkileri karşılaştırıldığında tetrasiklinlerin kondroprotektif etkinliğinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı
- 7- Tetrasiklinin etkinliğinin az olmasının; in vivo ve intra-artiküler uygulamada yetersizliği, kimyasal olarak modifiye edilmiş form gerekliliği ve doz bağımlı etkisinin olduğu kanısındayız.

Sonuç olarak statinin kondroprotektif etkisinin olduğu, farklı kimyasal uygulamalardan geçirilerek terapötik etkisinin artırılması ile OA tedavisinde güncel yaklaşımlardan biri olabileceği ve bu etkilerinin in vivo çalışmalarla birlikte klinik, makromorfolojik, histopatolojik, histomorfometrik ve moleküler düzeyde araştırmaların yapılması ile belirgin olarak ortaya konabileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Raynauld JP. Most recent developments in strategies to reduce the progression of structural changes in osteoarthritis: today and tomorrow. *Arthritis Res Ther* 2006;8:206.
2. Hashimoto M, Nakasa T, Hikata T, Asahara H. Molecular network of cartilage homeostasis and osteoarthritis. *Med Res Rev* 2008;28:464-81.
3. Guilak F, Fermor B, Kneefe FJ, et al. The role of biomechanics and inflammation in cartilage injury and repair. *Clin Orthop Relat Res* 2004; 423:17-26.
4. Ge Z, Hu Y, Heng BC, et al. Osteoarthritis and therapy. *Arthritis Rheum* 2006;55:493-500.
5. Hochberg MC, Altman RD, Brandt KD, et al. Guidelines for the medical management of osteoarthritis. Part II. Osteoarthritis of the knee. American College of Rheumatology. *Arthritis Rheum* 1995;38:1533-4.
6. Akasaki Y, Matsuda S, Nakayama K, et al. Mevastatin reduces cartilage degradation in rabbit experimental osteoarthritis through inhibition of synovial inflammation. *Osteoarthritis Cartilage* 2009;17:235-43
7. Verbruggen G. Chondroprotective drugs in degenerative joint diseases. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45:129-38.
8. Hashimoto M, Nakasa T, Hikata T, Asahara H. Molecular network of cartilage homeostasis and osteoarthritis. *Med Res Rev* 2008;28:464-81.
9. Buttle DJ, Bramwell H, Hollander AP. Proteolytic mechanisms of cartilage breakdown: a target for arthritis therapy. *Clin Mol Pathol* 1995;48:M167-M177.
10. Goldring MB. Osteoarthritis and cartilage: the role of cytokines. *Curr Rheumatol Rep* 2000;2:459-65.
11. Goldring SR, Goldring MB. The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;427 Suppl:27-36.
12. Krasnokutsky S, Samuels J, Abramson SB. Osteoarthritis in 2007. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2007;65:222-8.
13. Sgaglione NA. The future of cartilage restoration. *J Knee Surg* 2004;17:235-43.
14. Luan Z, Chase AJ, Newby AC. Statins inhibit secretion of metalloproteinases-1, -2, -3, and -9 from vascular smooth muscle cells and macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:769-75.
15. Golub LM, Ramamurthy N, McNamara TF, et al. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. A new mechanism in the treatment of periodontal disease. *J Periodontal Res* 1984;19:651-5.
16. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1712-9.
17. De Bri E, Lei W, Svensson O, et al. Effect of an inhibitor of matrix metalloproteinases on spontaneous osteoarthritis in guinea pigs. *Adv Dent Res* 1998;12:82-5.

18. Kucuk A, Kabadere S, Tosun M, et al. Protective effects of doxycycline in ischemia/reperfusion injury on kidney. *J Physiol Biochem* 2009;65:183-91.
19. Huang TY, Chu HC, Lin YL, et al. Minocycline attenuates experimental colitis in mice by blocking expression of inducible nitric oxide synthase and matrix metalloproteinases. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009;237:69-82
20. Kim SE, Thanh Thuy TT, Lee JH, et al. Simvastatin inhibits induction of matrix metalloproteinase-9 in rat alveolar macrophages exposed to cigarette smoke extract. *Exp Mol Med* 2009;41:277-87
21. Pahan K, Sheikh FG, Namboodiri AM, Singh I. Lovastatin and phenylacetate inhibit the induction of nitric oxide synthase and cytokines in rat primary astrocytes, microglia, and macrophages. *J Clin Invest* 1997;100:2671-9.
22. Lazzerini PE, Capecchi PL, Nerucci F, et al. Simvastatin reduces MMP-3 level in interleukin 1beta stimulated human chondrocyte culture. *Ann Rheum Dis* 2004;63:867-9.
23. Shlopov BV, Smith GN Jr, Cole AA, Hasty KA. Differential patterns of response to doxycycline and transforming growth factor beta1 in the down-regulation of collagenases in osteoarthritic and normal human chondrocytes. *Arthritis Rheum* 1999;42:719-27.
24. Simopoulou T, Malizos KN, Poultsides L, Tsezou A. Protective effect of atorvastatin in cultured osteoarthritic chondrocytes. *J Orthop Res* 2010;28:110-5.
25. Vidal A, Sabatini M, Rolland-Valognes G, et al. Synthesis and in vitro evaluation of targeted tetracycline derivatives: effects on inhibition of matrix metalloproteinases. *Bioorg Med Chem* 2007;15:2368-74.
26. Bowyer J, Heapy CG, Flannelly JK, Waterton JC, Maciewicz RA. Evaluation of a magnetic resonance biomarker of osteoarthritis disease progression: doxycycline slows tibial cartilage loss in the Dunkin Hartley guinea pig. *Int J Exp Pathol* 2004;85:85-96.
27. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1995;333:1301-7.
28. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1712-9.
29. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1712-9.
30. Weitz-Schmidt G. Statins as anti-inflammatory agents. *Trends Pharmacol Sci* 2002;23:482-6
31. Hatzigeorgiou C, Jackson JL. Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors and osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2005;16:990-8.
32. Wierzbicki AS, Poston R, Ferro A. The lipid and non-lipid effects of statins. *Pharmacol Ther* 2003;99:95-112.
33. Pahan K, Sheikh FG, Namboodiri AM, Singh I. Lovastatin and phenylacetate inhibit the induction of nitric oxide synthase and cytokines in

- rat primary astrocytes, microglia, and macrophages. *J Clin Invest* 1997;100:2671-9.
34. Kurosaki R, Muramatsu Y, Kato H, Araki T. Protective effect of pitavastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitor, on ischemia-induced neuronal damage. *Neurol Res* 2004;26:684-91.
 35. Madonna R, Di Napoli P, Massaro M, et al. Simvastatin attenuates expression of cytokine-inducible nitric-oxide synthase in embryonic cardiac myoblasts. *J Biol Chem* 2005;280:13503-11.
 36. Abeles AM, Pillinger MH. Statins as antiinflammatory and immunomodulatory agents: a future in rheumatologic therapy. *Arthritis Rheum* 2006;54:393-407.
 37. Waehre T, Yndestad A, Smith C, et al. Increased expression of interleukin-1 in coronary artery disease with downregulatory effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *Circulation* 2004;109:1966-72.
 38. Ferroni P, Martini F, Cardarello CM, et al. Enhanced interleukin-1beta in hypercholesterolemia: effects of simvastatin and low-dose aspirin. *Circulation* 2003;108:1673-5.
 39. Musial J, Undas A, Gajewski P, et al. Anti-inflammatory effects of simvastatin in subjects with hypercholesterolemia. *Int J Cardiol.* 2001;77:247-53.
 40. Ascer E, Bertolami MC, Venturinelli ML, et al. Atorvastatin reduces proinflammatory markers in hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis* 2004;177:161-6.
 41. Baragi VM, Becher G, Bendele AM, et al. A new class of potent matrix metalloproteinase 13 inhibitors for potential treatment of osteoarthritis: Evidence of histologic and clinical efficacy without musculoskeletal toxicity in rat models. *Arthritis Rheum* 2009;60:2008-18.
 42. Wu YS, Hu YY, Yang RF, Wang Z, Wei YY. The matrix metalloproteinases as pharmacological target in osteoarthritis: statins may be of therapeutic benefit. *Med Hypotheses* 2007;69:557-9.
 43. Amin AR, Patel RN, Thakker GD, et al. Post-transcriptional regulation of inducible nitric oxide synthase mRNA in murine macrophages by doxycycline and chemically modified tetracyclines. *FEBS Lett* 1997;410:259-64.
 44. Smith GN Jr, Yu LP Jr, Brandt KD, Capello WN. Oral administration of doxycycline reduces collagenase and gelatinase activities in extracts of human osteoarthritic cartilage. *J Rheumatol* 1998;25:532-5.
 45. Yoshioka M, Coutts RD, Amiel D, Hacker SA. Characterization of a model of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis Cartilage* 1996;4:87-98.
 46. Pelletier JP, Fernandes JC, Brunet J, et al. In vivo selective inhibition of mitogen-activated protein kinase kinase 1/2 in rabbit experimental osteoarthritis is associated with a reduction in the development of structural changes. *Arthritis Rheum* 2003 ;48:1582-93.
 47. McIlwraith, C.W. *Anatomy and Physiology of Equine Joints*. At: Equine Orthopaedic Center Colorado State University. Home page [online] (2006) <http://www.equineortho.colostate.edu/questions/anatomyjoint.htm>

48. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am* 1971;53: 523-37.
49. Yoshimi T, Kikuchi T, Obara T, et al. Effects of high-molecular-weight sodium hyaluronate on experimental osteoarthritis induced by the resection of rabbit anterior cruciate ligament. *Clin Orthop Relat Res* 1994;298:296-304.
50. Frisbie DD. Synovial joint biology and pathobiology. In: Auer JA, Stick JA (eds). *Equine Surgery*. 3rd edition. St. Louis: Saunders Elsevier Inc; 2006. 1036-55.
51. Pendleton A, Arden N, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of knee osteoarthritis: report of a task force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Ann Rheum Dis* 2003 ;62:1145-55.
52. Kuroki K, Cook JL, Kreeger JM, Tomlinson JL. The effects of TIMP-1 and -2 on canine chondrocytes cultured in three-dimensional agarose culture system. *Osteoarthritis Cartilage* 2003;11:625-35.
53. Altman RD. Overview of osteoarthritis. *Am J Med* 1987;83:65-9.
54. Dieppe P. Osteoarthritis. A review. *J R Coll Physicians Lond* 1990;24:262-7.
55. Dieppe PA, Lohmander LS. Pathogenesis and management of pain in osteoarthritis. *Lancet* 2005;365:965-73.
56. Haq I, Murphy E, Dacre J. Osteoarthritis. *Postgrad Med J* 2003;79:377-83.
57. Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F, Halpern M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89:780-5.
58. Kurtz SM, Ong KL, Schmier J, et al. Future clinical and economic impact of revision total hip and knee arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 2007;89 Suppl 3:144-51.
59. Lotz M, Hashimoto S, Kühn K. Mechanisms of chondrocyte apoptosis. *Osteoarthritis Cartilage* 1999;7:389-91.
60. Yuan GH, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K. Immunologic intervention in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48:602-11.
61. Madonna R, Di Napoli P, Massaro M, et al. Simvastatin attenuates expression of cytokine-inducible nitric-oxide synthase in embryonic cardiac myoblasts. *J Biol Chem* 2005;280:13503-11.
62. Wagner AH, Schwabe O, Hecker M. Atorvastatin inhibition of cytokine-inducible nitric oxide synthase expression in native endothelial cells in situ. *Br J Pharmacol* 2002;136:143-9.
63. Pillinger MH, Marjanovic N, Kim SY, et al. Matrix metalloproteinase secretion by gastric epithelial cells is regulated by E prostaglandins and MAPKs. *J Biol Chem* 2005;280:9973-9.
64. Thunyakitpisal PD, Chaisuparat R. Simvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, reduced the expression of matrix metalloproteinase-9 (Gelatinase B) in osteoblastic cells and HT1080 fibrosarcoma cells. *J Pharmacol Sci* 2004;94:403-9.

65. Henrich D, Seebach C, Wilhelm K, Marzi I. High dosage of simvastatin reduces TNF-alpha-induced apoptosis of endothelial progenitor cells but fails to prevent apoptosis induced by IL-1beta in vitro. *J Surg Res* 2007;142:13-9.
66. Molloy KJ, Thompson MM, Schwalbe EC, et al. Comparison of levels of matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of metalloproteinases, interleukins, and tissue necrosis factor in carotid endarterectomy specimens from patients on versus not on statins preoperatively. *Am J Cardiol* 2004;94:144-6.
67. Zhao S, Li Q, Liu L, Xu Z, Xiao J. Simvastatin reduces interleukin-1beta secretion by peripheral blood mononuclear cells in patients with essential hypertension. *Clin Chim Acta* 2004;344:195-200.
68. Iovieno A, Lambiase A, Micera A, et al. In vivo characterization of doxycycline effects on tear metalloproteinases in patients with chronic blepharitis. *Eur J Ophthalmol* 2009;19:708-16.
69. Papaioannou N, Krallis N, Triantafillopoulos I, et al. Optimal timing of research after anterior cruciate ligament resection in rabbits. *Contemp Top Lab Anim Sci* 2004;43:22-7.
70. Hulth A, Lindberg L, Telhag H. Experimental osteoarthritis in rabbits. Preliminary report. *Acta Orthop Scand* 1970;41:522-30.
71. Kamekura S, Hoshi K, Shimoaka T et al. Osteoarthritis development in novel experimental mouse models induced by knee joint instability. *Osteoarthritis Cartilage* 2005;13:632-41.
72. Bilgen OF. Denetsel osteoartritte erken dönemde gelişen histopatolojik değişiklikler (Uzmanlık Tezi). Bursa: Uludağ Üniversitesi;1989.
73. Weaver RE, Sharif M, Livingston LA, Andrews KL, Fuller CJ. Microscopic change in macroscopically normal equine cartilage from osteoarthritic joints. *Connect Tissue Res* 2006;47:92-101.
74. Blom AB, Van Lent PL, Libregts S et al. Crucial role of macrophages in matrix metalloproteinase-mediated cartilage destruction during experimental osteoarthritis: involvement of matrix metalloproteinase 3. *Arthritis Rheum* 2007;56:147-57.
75. E. Burke Evans, GWN. Eggers, James K. Butler, Johanna Blumel. Experimental immobilization and remobilization of rat knee joints. *J Bone Joint Surg Am* 1960;42:737-758.
76. Hongbin W, Jingyuan D, Linyun C, Yuming D. Carboxymethylated chitin reduces MMP-1 expression in rabbit ACLT osteoarthritic cartilage. *Ann Rheum Dis*. 2004;63:369-72.
77. Sen C, Güneş T, Saygi B, et al. The chondroprotective effect of intra-articular hyaluronic acid at early stages of osteoarthritis: an experimental study in rabbits. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2004;38:348-52.
78. Pond MJ, Nuki G. Experimentally-induced osteoarthritis in the dog. *Ann Rheum Dis* 1973;32:387-8.
79. Myers SL, Brandt KD, O'Connor BL, Visco DM, Albrecht ME. Synovitis and osteoarthritic changes in canine articular cartilage after anterior cruciate ligament transection. Effect of surgical hemostasis. *Arthritis Rheum* 1990;33:1406-15.

80. Vignon E, Bejui J, Mathieu P, et al. Histological cartilage changes in a rabbit model of osteoarthritis. *J Rheumatol* 1987;14:104-6.
81. Mendelson S, Wooley P, Lucas D, Markel D. The effect of hyaluronic acid on a rabbit model of full-thickness cartilage repair. *Clin Orthop Relat Res* 2004;424:266-71.
82. Sellers RS, Peluso D, Morris EA. The effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) on the healing of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1997;79:1452-63.
83. Wakitani S, Kimura T, Hirooka A, et al. Repair of rabbit articular surfaces with allograft chondrocytes embedded in collagen gel. *J Bone Joint Surg Br.* 1989;71:74-80.
84. Pineda S, Pollack A, Stevenson S, Goldberg V, Caplan A. A semiquantitative scale for histologic grading of articular cartilage repair. *Acta Anat (Basel).* 1992;143:335-40.
85. Leung BP, Sattar N, Crilly A, et al. A novel anti-inflammatory role for simvastatin in inflammatory arthritis. *J Immunol.* 2003;170:1524-30.
86. Blumberg TJ, Natoli RM, Athanasiou KA. Effects of doxycycline on articular cartilage GAG release and mechanical properties following impact. *Biotechnol Bioeng* 2008;100:506-15.
87. De Bri E, Lei w. Biochemical and histological effects of tetracyclines on spontaneous osteoarthritis in guinea pigs. *Image Anal Stereol* 2000;19:125-31.
88. Rowan AD. Cartilage catabolism in arthritis: factors that influence homeostasis. *Expert Rev Mol Med* 2001;2001:1-20.
89. Ayral X, Dougados M, Lustrat V, et al. Arthroscopic evaluation of chondropathy in osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol* 1996;23:698-706.
90. Bondeson J, Wainwright SD, Lauder S, Amos N, Hughes CE. The role of synovial macrophages and macrophage-produced cytokines in driving aggrecanases, matrix metalloproteinases, and other destructive and inflammatory responses in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2006;8:187.
91. Borderie D, Hervann A, Hilliquin P, Lemarchal H, Kahan A, Ekindjian OG. Tetracyclines inhibit nitrosothiol production by cytokine-stimulated osteoarthritic synovial cells. *Inflamm Res* 2001;50:409-14.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde emeği olan baŐta Ortopedi ve Travmatoloji AD BaŐkanı Prof.Dr. Gayyur Kurap ve tez hocam Prof. Dr. Ömer Faruk Bilgen olmak üzere Prof.Dr. Tufan Kaleli, Prof.Dr. Ufuk Aydınli, Prof.Dr. Bartu Sarısözen, Prof.Dr. Kemal Durak, Doğ.Dr. Burak Demirağ, Uzm.Dr. M. Sadık Bilgen, tezimi hazırlamamda yardımcı bulunan Patoloji Anabilim Dalından Doğ.Dr. Ulviye yalçınkaya ve mesai arkadaşım Dr. Bülent Özdemir'e, tüm anabilim dalı çalışanlarına, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma, hayatım boyunca bana destek olan annem, babam ve kardeşime teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

05 Şubat 1980 tarihinde Manisada doğdum. İlkokulu Edip Bayat İlkokulu'nda, orta okulu Özel Gündüzalp kolej'inde ve lise eğitimimi Eskişehir Fen Lisesi'nde tamamladım. 1997 yılında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimime başladım ve 2004 yılında mezun oldum. 2004 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'nda göreve başladım. 2010 yılında uzmanlık eğitimimi tamamladım.