



T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**RATLARDA İNTRAARTİKÜLER İBUPROFEN ENJEKSİYONUNUN
KARTİLAJ VE SİNOVİYA ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Berkem BÜYÜKAKKUŞ

UZMANLIK TEZİ

Olarak hazırlanmıştır

ANKARA

2018

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**RATLARDA İNTRAARTİKÜLER İBUPROFEN ENJEKSİYONUNUN
KARTİLAJ VE SİNOVİYA ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Berkem BÜYÜKAKKUŞ

UZMANLIK TEZİ

Olarak hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr. Fatma SARICAOĞLU

YARDIMCI TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Başak AKÇA

ANKARA

2018

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve deneyimleri ile bana mesleğimi öğreten ve sevdiren, hoşgörüsü ve manevi desteği ile hep yanımda olan, çok değerli hocam, yol göstericim, anabilim dalı başkanımız Sayın Prof.Dr. Meral KANBAK'a,

Eğitimim süresince, mesleğimi öğreten, anesteziyi sevdiren, anabilim dalımızın tüm öğretim üye ve görevlilerine,

Tezimin oluşmasında bana yol gösteren, özveri ile katkıda bulunan tez danışmanım Sayın Prof.Dr. Fatma SARICAOĞLU'na,

Tezimin tüm aşamalarında yanımda olan, desteklerini hep yanımda hissettiğim Sayın Dr.Öğr.Üyesi Başak AKÇA, Sayın Dr.Öğr.Üyesi Aysun ANKAY YILBAŞ ve Sayın Dr.Öğr.Üyesi Filiz ÜZÜMCÜGİL'e,

Histopatolojik incelemelerimizi değerlendiren Sayın Doç.Dr. Dilara ZEYBEK'e ve tüm Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarı çalışanlarına,

Asistanlığım boyunca, bir aile ortamını paylaştığım, tüm çalışma arkadaşlarıma ve ameliyathane personeline,

Beni yetiştiren, tüm hayatım boyunca bir an olsun desteklerini ve sevgilerini eksik etmeyen aileme,

Hayatıma değer katan, mesleğimi bir ömür beraber icra edeceğim sevgili eşim Ezgi'ye,

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Berkem BÜYÜKAKKUŞ

ANKARA, 2018

ÖZET

Büyükakkuş B. Ratlarda İntraartiküler İbuprofen Enjeksiyonunun Kartilaj Ve Sinoviya Üzerine Etkisinin İncelenmesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2018

Postoperatif yetersiz ağrı kontrolü, artroskopi sonrası geç taburculuk ve rehabilitasyonun önemli bir nedenidir. Tedavisinde intraartiküler ilaç enjeksiyonları, minimal sistemik yan etkileri nedeniyle tercih edilen yöntemlerdendir. Bu amaçla sıklıkla kullanılan lokal anesteziklerin kartilaj dokusu üzerine sitotoksik etkilerinin gösterilmesi bu ilaçların kullanımını kısıtlamıştır. Son yıllarda non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçların da intraartiküler uygulanması tartışılmaktadır. Ancak literatürde ibuprofenin sağlıklı kartilaj dokusundaki histopatolojik etkilerini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, intraartiküler kullanımı ile gündeme gelmekte olan ibuprofenin histopatolojik etkilerini araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya dahil edilen 20 ratın sağ alt ekstremiteleri çalışma, sol alt ekstremiteleri kontrol grubu için kullanıldı. Sağ dize ibuprofen 25 mg 0.25 ml, sol dize 0.25 ml %0.9 SF intraartiküler olarak enjekte edildi. Randomize oluşturulan 5 grup, 1.,2.,7.,14 ve 21. günlerde sakrifiye edildi, her iki diz eklemleri disseke edildi. 4 hafta dekalsifikasyon sonrası hematoksilen-eozin ile boyanarak ışık mikroskopisinde incelendi. Diz eklemi, sinovyum ve periferik alanlardaki inflamasyon bulguları; konjesyon, ödem, nötrofil infiltrasyonu, kronik inflamasyon, sinoviyal hiperplazi, subintimal fibrozis parametleri ile histopatolojik olarak değerlendirildi. Gruplar arası ve grup içi karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U ve Wilcoxon Sign Rank testleri kullanıldı, sırasıyla $p<0.0025$ ve $p<0.010$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Sinoviya hiperplazisi ve subintimal fibrozis skorları tüm örneklerde 0 bulundu. Konjesyon, ödem ve nötrofil infiltrasyonu 1. ve 2. günlerde ibuprofen grubunda daha fazla görüldü de, istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Gruplar kronik inflamasyon bulguları açısından da benzerdi.

NSAİ ilaçların eklemler üzerine histopatolojik etkilerini inceleyen ve rat modellerinde inflamasyonu azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur. İntraartiküler tenoksikam enjeksiyonunun da osteoartritli hastalarda analjeziye katkı sağladığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da intraartiküler ibuprofen enjeksiyonu güvenli gözükmeyle beraber, daha kesin sonuçlar için hem histopatolojik hem de analjezik etkilerini değerlendiren ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: İbuprofen, İntraartiküler enjeksiyon, rat, eklem kıkırdığı, sinoviyum

ABSTRACT

Büyükakkuş B. The Effect Of Intraarticular Ibuprofen Injection On The Cartilage And Sinovium In Rats, Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, Ankara, 2018

Postoperative poor pain control is an important cause of late discharge and rehabilitation after arthroscopy. In treatment, Intraarticular drug injections are preferred methods because of their minimal systemic side effects. For this purpose, showing the cytotoxic effects of local anesthetics used on cartilage tissue has been restricted to the use of these drugs. In recent years, the intra-articular application of non-steroidal anti-inflammatory drugs has been discussed. However, there is no study investigating the histopathological effects of ibuprofen in healthy cartilage tissue. Therefore, we aimed to study the histopathological effects of ibuprofen, which come into question with the use of intraarticular use.

The right lower extremities of the 20 rats included in the study were used for treatment group and the left lower extremities for the control group. 0.25mg/0.25 ml of ibuprofen into left knee and 0.25 ml of 0.9% SF were injected intraarticularly. Five randomized groups were sacrificed following 1, 2, 7, 14, and 21 days, both knee joints were dissected. They were stained with hematoxylin-eosin and examined by light microscopy 4 weeks after decalcification. Signs of inflammation in the knee joint, synovium and peripheral areas; congestion, edema, neutrophil infiltration, chronic inflammation, synovial hyperplasia, subintimal fibrosis were evaluated histopathologically. Bonferroni-corrected Mann Whitney U test and Wilcoxon Sign Rank test was used for intergroup and intra-group comparisons, and $p<0.010$ and $p<0,0025$ was considered statistically significant respectively.

Synovial hyperplasia and subintimal fibrosis scores were 0 (zero) in all samples. Although congestion, edema and neutrophil infiltration were more common in the ibuprofen group on days 1 and 2, no statistically significant difference was found. The groups were similar in terms of chronic inflammation findings.

There are studies that examine the histopathological effects of NSAID drugs on joints and exhibit that it reduces inflammation in rat models. Intraarticular tenoxicam injection has also been shown to contribute to analgesia in patients with osteoarthritis. In our study, although intraarticular ibuprofen injection seems safe, more detailed studies are needed to evaluate both histopathological and analgesic effects for more accurate results.

Keywords: Ibuprofen, intraarticular injections, rat, articular cartilage, sinovium

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER	viii
RESİMLER	viii
TABLolar	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. DİZ EKLEMİ	2
2.1.1. Anatomik yapı.....	2
2.1.2. Histolojik yapı	3
2.1.2.1. Eklem Kapsülü ve boşluğu.....	4
2.1.2.2. Eklem kıkırdığı.....	4
2.2. İNFLAMASYON	6
2.2.1. Tanım	6
2.2.2. İnflamatuar hücreler	7
2.2.3. İnflamasyonun histolojik özellikleri	8
2.2.4. Akut inflamasyon	8
2.2.5. Kronik inflamasyon	9
2.3. İNTRAARTİKÜLER ENJEKSİYON	9
2.3.1. Tanım	9
2.3.2. İntraartiküler Enjeksiyonda Kullanılan İlaçlar	10
2.3.2.1. Lokal anestezikler	10
2.3.2.2. Opioidler.....	10
2.3.2.3. Klonidin	11
2.3.2.4. Neostigmin	11
2.3.2.5. NSAİ ilaçlar	11
2.4. İBUPROFEN	12
2.4.1. Klinik Etkileri	13
2.4.2. Etki Mekanizması	13

2.4.3. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri.....	14
2.4.4. Klinik Kullanımı	14
2.4.5. Yan Etkileri, ilaç etkileşimleri.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. DENEY HAYVANLARI.....	16
3.2. İNTRAARTİKÜLER ENJEKSİYON	16
3.3. DİZ EKLEMİNİN ÇIKARILMASI	18
3.4. RAT GRUPLARI.....	18
3.4.1. Grup 1	18
3.4.2. Grup 2	18
3.4.3. Grup 3	19
3.4.4. Grup 4	19
3.4.5. Grup 5	19
3.5. HİSTOLOJİK İNCELEME.....	19
3.5.1. Örneklerin hazırlanması	19
3.5.2. Kullanılan malzeme ve solüsyonların hazırlanması.....	19
3.5.2.1. %10 tamponlu formalin tespit solüsyonu	20
3.5.2.2. De Castro solüsyonu	20
3.5.2.3. Hematoksilen - Eosin boyası.....	20
3.5.2.3.1. Hematoksilen hazırlanması	20
3.5.2.3.2. Eosin hazırlanması	21
3.5.2.4. Masson'un Trikrom boyası	21
3.5.2.4.1. Bouin Solüsyonu	21
3.5.2.4.2. Asit Alkol Solüsyonu.....	21
3.5.2.4.3. Amonyaklı Su	21
3.5.2.4.4. Trikrom Boyası.....	21
3.5.2.4.5. Asetik Asit Solüsyonu.....	22
3.5.3. Işık mikroskobu doku takibi.....	22
3.5.4. Hematoksilen-Eozin ile boyama	22
3.5.5. Masson'un Trikrom boyaması	23
3.5.6. Histopatolojik Değerlendirme	23
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	61
7. KAYNAKLAR	62

SİMGELER ve KISALTMALAR

NSAİ	Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar
COX	Siklooksijenaz
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
GİS	Gastrointestinal sistem
GÜS	Genitoüriner sistem
SF	Serum Fizyolojik
i.v.	İntravenöz
ml	millitre
mg	milligram
kg	kilogram
gr	gram

ŞEKİLLER

Şekil 1. Diz Ekleminin Anatomik Yapısı	2
Şekil 2. Diartroz eklemin şematik çizimi	3
Şekil 3. Diartroz eklemin ışık mikroskopunda incelenmesi	3
Şekil 4. Hyalin kıkırdığın ışık mikroskopu görüntüsü	5
Şekil 5. İnflamasyonda lökosit olayları	6
Şekil 6. Dolaşımdaki lökositlerin histolojik görüntüleri	8
Şekil 7. Akut inflamasyonda vazküler ve hücrel olaylar	9
Şekil 8. İntraartiküler enjeksiyonun şematik gösterimi.....	10
Şekil 9. Prostaglandin sentezinde COX enziminin ve NSAİ ilaçların yeri	12
Şekil 10. İbuprofenin kimyasal yapısı	13

RESİMLER

Resim 1. Diz eklemi palpasyonu	17
Resim 2. Enjeksiyon için diz eklemine hazırlığı.....	17
Resim 3. Eklem içi enjeksiyonun uygulanması	17
Resim 4. Alt ekstremitte diseksiyonu	18
Resim 5. Kontrol grubu diz eklemi 1, 2, 7, 14 ve 21. güne ait örnekler	25
Resim 6. Çalışma grubu diz eklemi 1, 2, 7, 14 ve 21. güne ait örnekler	26
Resim 7. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örneklerin eklem aralığı	26
Resim 8. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte sinovyal membran	27
Resim 9. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte normal histolojik yapıda areolar sinovyum.....	27
Resim 10. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte normal histolojik yapıda sinovyum.....	27
Resim 11. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte normal histolojik yapıda areolar sinovyum ..	28
Resim 12. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte sinovyal membran ve gevşek bağ dokusu.....	28
Resim 13. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte sinovyal membran gevşek bağ dokusu	28
Resim 14. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte eklem kıkırdağı	29
Resim 15. Çalışma grubu diz eklemine 1. güne ait örneklerde eklem aralığı.....	29
Resim 16. Çalışma grubu diz eklemine 1. güne ait örnekte sinovyal membrana tutunmuş eritrosit ve lökosit kümeleri	30
Resim 17. Çalışma grubu diz eklemine 1. güne ait örnekte sinovyal membrana tutunmuş eritrosit ve lökosit kümeleri, sinovyumda damarda ciddi konjesyon, damar çevresinde ciddi inflamasyon ..	30
Resim 18. Çalışma grubu diz eklemine 1. güne ait örnekte sinovyal membrana tutunmuş eritrosit kümeleri, tek sıralı sinovyal hücreleri altında bağ dokusunda orta derecede ödem ve ciddi nötrofil infiltrasyonu	30
Resim 19. Çalışma grubu diz eklemine 1. güne ait örnekte damarda staz ve konjesyon, damar çevresinde ödem, hemoraji ve nötrofil infiltrasyonu	31
Resim 20. Çalışma grubu diz eklemine 1. güne ait örnekte sinovyumda ödem, damarlarda konjesyon, yer yer nötrofil infiltrasyonu, kollajen fibriller	31
Resim 21. Çalışma grubu diz eklemine 1. güne ait örnekte sinovyumda belirgin nötrofil infiltrasyonu, kollajen fibriller	31
Resim 22. Çalışma grubu diz eklemine 1. güne ait örnekte eklem aralığı ve eklem kıkırdağı.....	32
Resim 23. Kontrol grubu diz eklemine 2. güne ait örnekte sinovyum altında ödem, hemoraji ve inflamasyon	32
Resim 24. Kontrol grubu diz eklemine 2. güne ait örnekte sinovyum altında ödem, hemoraji ve inflamasyon	33
Resim 25. Kontrol grubu diz eklemine 2. güne ait örnekte sinovyumda nötrofil infiltrasyonu	33
Resim 26. Kontrol grubu diz eklemine 2. güne ait örnekte sinovyal membran ve bağ dokusunda lökosit infiltrasyonu.....	33
Resim 27. Kontrol grubu diz eklemine 2. güne ait örnekte sinovyumda nötrofil infiltrasyonu	34
Resim 28. Kontrol grubu diz eklemine 2. güne ait örnekte sinovyumda hücre infiltrasyonu	34
Resim 29. Eklem kıkırdağı yüzeyi, kıkırdak hücreleri	34
Resim 30. Çalışma grubu diz eklemi 2. güne ait örnekte eklem aralığı	35
Resim 31. Çalışma grubu diz eklemi 2. güne ait örnekte sinovyumda ciddi infiltrasyon	35
Resim 32. Çalışma grubu diz eklemi 2. güne ait örnekte sinovyumda orta derecede ödem ve ciddi infiltrasyon	36

Resim 33. Çalışma grubu diz eklemi 2. güne ait örnekte sinovyumda orta derecede ödem ve ciddi nötrofil infiltrasyonu	36
Resim 34. Eklem kıkırdığı yüzeyi, kıkırdak hücreleri	36
Resim 35. Kontrol grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyum	37
Resim 36. Kontrol grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyal hücreler, kollajen fibriller ve adipöz sinovyum	37
Resim 37. Kontrol grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinoviositler	38
Resim 38. Kontrol grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte normal histolojik yapıda sinovyum	38
Resim 39. Kontrol grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyal hücreler ve bağ dokusu	38
Resim 40. Çalışma grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyum	39
Resim 41. Çalışma grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyumda kollajen	39
Resim 42. Çalışma grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyum	40
Resim 43. Çalışma grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyumda nötrofil infiltrasyonu ve damarlarda konjesyon.....	40
Resim 44. Çalışma grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyumda makrofaj infiltrasyonu	40
Resim 45. Eklem kıkırdığı yüzeyi, kıkırdak hücreleri	41
Resim 46. Kontrol grubu diz eklemide 14. güne ait örnekte sinovyum	41
Resim 47. Kontrol grubu diz eklemide 14. güne ait örnek	42
Resim 48. Kontrol grubu diz eklemide 14. güne ait örnek	42
Resim 49. Sinovyum kesiti	42
Resim 50. Sinovyumda yer alan kollajen fibriller ve aralarında damar kesitleri	43
Resim 51. Eklem kıkırdığı yüzeyi, kıkırdak hücreleri	43
Resim 52. Çalışma grubu diz eklemi 14. güne ait örnekte eklem yüzeyi, menisküs ve sinovyum	44
Resim 53. Çalışma grubu diz eklemi 14. güne ait örnekte kollajen fibrillerden zengin sinovyum	44
Resim 54. Çalışma grubu diz eklemi 14. güne ait örnekte sinovyum	44
Resim 55. Eklem kıkırdığı yüzeyi, kıkırdak hücreleri	45
Resim 56. Kontrol grubu diz eklemide 21. güne ait örnekte sinovyum, menisküs ve eklem aralığı ...	45
Resim 57. Kontrol grubu diz eklemide 21. güne ait örnekte sinovyum	46
Resim 58. Kontrol grubu diz eklemide 21. güne ait örnekte sinovyum	46
Resim 59. Kontrol grubu diz eklemide 21. güne ait örnek	46
Resim 60. Kontrol grubu diz eklemide 21. güne ait örnekte yer yer tek sıra dizilmiş hücrelerden oluşan sinovyum ve altında kollajen fibriller	47
Resim 61. Eklem kıkırdığı yüzeyi, kıkırdak hücreleri	47
Resim 62. Çalışma grubu diz eklemi 21. güne ait örnekte sinovyum, menisküs ve eklem aralığı.....	48
Resim 63. Çalışma grubu diz eklemi 21. güne ait örnekte sinovyum	48
Resim 64. Çalışma grubu diz eklemi 21. güne ait örnekte sinovyumda minimal makrofaj infiltrasyonu ve damarlarda minimal konjesyon	48
Resim 65. Çalışma grubu diz eklemi 21. güne ait örnekte sinovyumda kollajen fibriller	49
Resim 66. Eklem kıkırdığı yüzeyi, kıkırdak hücreleri	49

TABLÖLAR

Tablo 1. Rat dizlerinde izlenen histopatolojik değışikliklerin değlendirilmesi	24
Tablo 2. Kontrol grubu diz eklemi, histopatolojik skrlama	50
Tablo 3. Çalışma grubu diz eklemi, histopatolojik skrlama	51
Tablo 4. Kontrol ve çalışma grupları, histopatolojik değlendirme, istatistiksel analizi.....	54
Tablo 5. Kontrol ve çalışma grupları, histopatolojik değlendirme, Bonferroni düzeltmeli istatistiksel analizi.....	56



1. GİRİŞ

Artroskopik girişimler, günümüzde sık uygulanan cerrahi işlemlerden birisidir (3, 4). Artroskopik işlemler sonrasında sinoviyal dokuda, anterior yağ dokusunda ve eklem kapsülündeki serbest sinir uçlarının açığa çıkması ve irritasyonuna bağlı olarak değişik düzeylerde ağrı görülür (2). Çoğunlukla gününbirlik işlem olarak uygulanan bu girişimler sonrasında postoperatif ağrının yetersiz kontrolü, artroskopi sonrası taburculuk süresinin uzamasının ve rehabilitasyona geç başlanması en önemli nedenlerindendir (1).

Postoperatif ağrı tedavisinde, sistemik analjezikler, nöroaksiyel ve rejyonel sinir blokları, eklem içi ilaç enjeksiyonları kullanılabilir. İntraartiküler ilaç enjeksiyonları; uygulama kolaylığı, minimal sistemik yan etki avantajı nedeniyle sıklıkla tercih edilen yöntemlerdendir (3). Artroskopik işlemlerde postoperatif ağrı kontrolü için lokal anesteziklerin (ropivakain (3, 4) ve bupivakain (5) gibi), opioidlerin (morfin (6, 7) ve fentanil (3, 7) gibi), $\alpha 2$ -agonistlerin (deksmedetomidin (2, 8) ve klonidin (9) gibi) ve non-steroid anti inflamatuvar ilaçların (NSAİ) (ketorolak, tenoksikam, indometazin, asetil salisilik asit (14, 15, 17-22) gibi) intraartiküler kullanım ile etkinliğini gösteren pek çok çalışma mevcuttur.

NSAİ ilaçların oral kullanımı, ciddi gastrointestinal yan etkilere yol açabilmektedir. NSAİ ilaçların intraartiküler uygulaması ile, sistemik yan etkiler en aza indirilerek ağrı kontrolü sağlanabilmektedir (14). İntraartiküler ketorolak ve tenoksikam kullanımının, bupivakain ile karşılaştırıldığında ek analjezik ihtiyacını azalttığı gösterilmiştir (15, 17, 18). İntravenöz ve intraartiküler tenoksikam kullanımı karşılaştırıldığında ise, intraartiküler kullanımın ağrı kontrolünde daha başarılı olduğu gösterilmiştir (17, 19).

Artroskopik cerrahilerde uygulanan intraartiküler ilaç enjeksiyonlarının daha az sistemik yan etki ve analjezi süresinin uzun olması gibi avantajlarına rağmen, kartilaj dokusu üzerine sitotoksik etkilerinin gösterilmesi ropivakain, bupivakain ve lidokain gibi bazı lokal anesteziklerin bu alandaki kullanımını kısıtlamıştır (10-13).

NSAİ ilaçların eklemler üzerine histopatolojik etkilerini gösteren çalışmalar da mevcuttur (14, 15, 17-23). İbuprofen uzun zamandır oral formları ile kullanımda olan bir NSAİ ilaçtır. İntravenöz formunun ruhsatlandırılması eklem içi kullanımını gündeme getirmiştir. İbuprofenin, osteoartrit hasarı oluşturulmuş in vivo ve in vitro rat modellerinde inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (14). Biz de çalışmamızda, intraartiküler uygulanan ibuprofen enjeksiyonunun sağlıklı rat sinovyum ve kıkırdığı üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

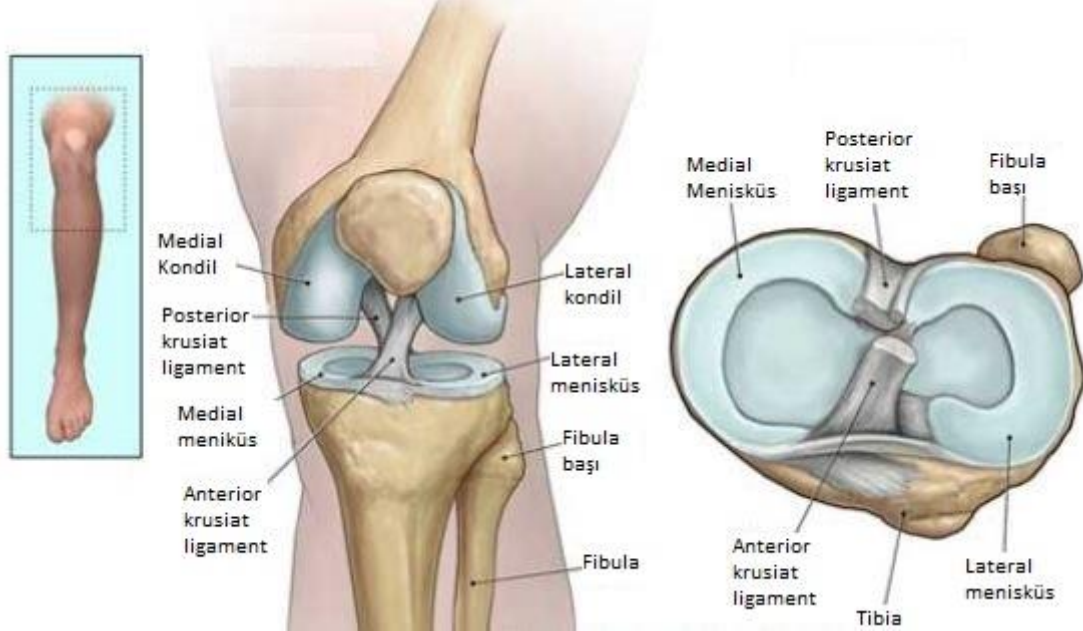
2.1. DİZ EKLEMİ

2.1.1. Anatomik yapı

Eklem, karşı karşıya gelen iki veya daha fazla kemiğin bağ dokusu ile bir arada tutuldukları ve aralarındaki hareketin tipi ve derecesinin belirlendiği yerlerdir.

Organizmadaki en büyük eklem diz eklemidir ve üç kemik yapıdan oluşur (Şekil 1). Bunlar femur, tibia ve patelladır. Femur ve tibia kondilleri arasında menisküs adı verilen üç köşeli fibrokartilaj yapılar yer alır. Her dizde iki adet bulunan menisküsler, diz eklemi hareketleri sırasında hafifçe yer değiştirerek, femur ve tibia arasındaki uyumsuz noktaları tamamlar ve eklem üzerindeki ağırlığı, eşit bir şekilde eklem yüzeylerine dağıtır. Diz eklemine ön ve arka olmak üzere iki adet çapraz bağ bulunur. Bu bağlar aşırı ekstansiyon ve iç rotasyonu sınırlayarak femur ve tibianın öne, arkaya ve yanlara kaymasını önler (25).

Diz eklemi, femoral arterin dallarından oluşan “rete articularis” ağı ile beslenir. Venöz dönüş ise femoral ven yoluyla olur. Femoral sinir, safen sinir, obturator sinir ve fibular sinir ile innerve olur (26).



Şekil 1. Diz Eklemine Anatomik Yapısı

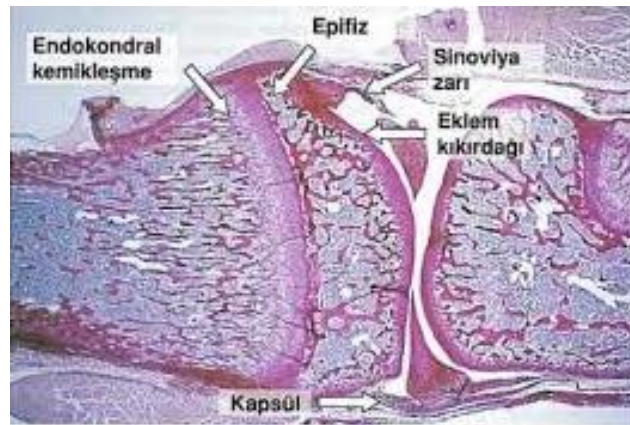
2.1.2. Histolojik yapı

Diz eklemi diartroz grubu eklemler içinde yer alır. Serbest hareket edebilen, genellikle uzun kemikleri birbirine bağlayan ve büyük hareket açıklığına sahip eklemlerdir (Şekil 2 ve 3)(27).

Diz eklemi; eklem kapsülü ve boşluğu, ligamentler, kemik uçları ve eklem kıkırdağından oluşur (27).



Şekil 2. Diartroz eklemi şematik çizimi



Şekil 3. Diartroz eklemi ışık mikroskopunda incelenmesi

2.1.2.1. Eklem Kapsülü ve boşluğu

Diartroz eklem grubunda ligamentler ve bağ dokusu kapsülü kemik uçlarındaki teması sağlar (27).

Fibröz yapıdaki eklem kapsülü eklemi bir arada tutar. Sinoviyal sıvıyı da içeren eklem boşluğunu sarar (27).

Sinoviya sıvısı, sinoviyal tabakanın hücreleri tarafından üretilen, yoğun hyalüronik asit içeren, renksiz saydam ve yapışkan bir ultrafiltrasyon sıvısıdır. Perikondriumun olmaması ve yüzeyleri kayganlaştıran sinoviyal sıvı sebebiyle, hyalin kıkırdak ile örtülü eklem yüzeylerinin birbiri üzerinde kayabilmesi kolaylaştırılmıştır (27).

Eklem kapsülünün yapısı, eklem cinsine göre değişmekle birlikte genel olarak iki tabakadan oluşur:

- Dış fibröz tabaka
- İç sinoviyal tabaka (sinoviyal zar)

Fibröz tabaka, yoğun bağ dokusundan oluşur ve kapsülün, eklem kıkırdak yüzeyi ile olan temasını sağlar (28).

Eklem boşluğunu kaplayan sinoviyal tabaka ise kemiklerin periostu ile devam eder. Makrofaj özelliğindeki tip a ve fibroblastı andıran tip b hücrelerinden oluşur (27).

2.1.2.2. Eklem kıkırdağı

Diartroz eklem yüzeyi, perikondrium içermeyen hyalin kıkırdak ile örtülüdür. Hyalin kıkırdak, vücutta bulunan en yaygın kıkırdak türüdür. Yetişkin memelilerin, büyük solunum yolu duvarlarında, hareketli eklemlerin eklem yüzeylerinde, kostosternal eklemlerde, hareketli eklem yüzeylerinde ve uzun kemiklerin epifiz plaklarında yer alır. Hyalin kıkırdak; matriks, kondrositler ve perikondriumdan oluşur ancak diz eklemi perikondrium içermez (29).

Matriks: Hyalin kıkırdağın kuru ağırlığının %40'ı proteoglikan ve yapısal glikoprotein içeren, kollajenden meydana gelmiştir. Tip 2 kollajenden meydana gelmekle birlikte, az miktarda tip 9, 10, 11 ve diğer kollajen tiplerine de rastlanır (29).

Kollajen lifleri, çok küçük oldukları ve ışığı kırma ölçüleri, içinde gömülü oldukları ortam ile hemen hemen aynı oldukları için ışık mikroskopu altında görülemezler (29).

İçerdiği proteoglikanlar, merkezdeki proteinlere kovalen olarak bağlanmış kondroitin 4-sülfat, kondroitin 6-sülfat ve keratan sülfat içerir. Proteoglikanların 200 kadarı, hyalüronik

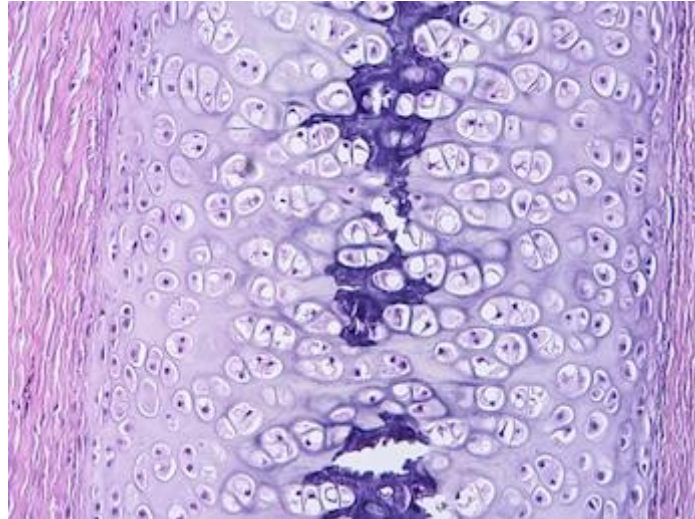
asitin uzun moleküllerine baēlanır ve kollajen liflerle etkileēen proteoglikan kümeleri meydana getirir (29).

Negatif yüklü glikozaminoglikanlara baēlanmış çok miktardaki su, darbeleri emici özellik gösterir ve eklem kıkırdaēında büyük iēlevsel öneme sahiptir (29).

Kıkırdak matriksinin önemli bir kısmı olan kondronektin, özellikle glikozaminoglikanlara ve tip 2 kollajen liflerine baēlanır. Kondronektin, kondrositleri kıkırdak matriksine baēlayan yapısal bir glikoproteindir. Her kondrositin etrafını saran kıkırdak matriksi, glikozaminoglikanlardan zengin ve kollajenlerden yoksundur. Kapsül matriksi adı verilen bu çeper kuēaēı, matriksin diēer bölgelerinden farklı boyanır (29).

Kondrositler: Kollajen ve diēer kıkırdak matriks moleküllerini sentezleyen kıkırdak hücreleridir. Lak na adı verilen alanlara yerleēirler. Hyalin kıkırdaēın çevresinde yer alan kondrositler oval biçimli ve kıkırdaēın uzun eksenine paralel olarak yerleēirken, kıkırdaēın içerisine doēru yuvarlak ēekilli hale gelir ve izogen gruplar denen hücre gruplarını oluēturur (ēekil-4) (29).

Histolojik preparatlar hazırlanırken, kıkırdak dokusu su kaybeder, kondrositler d zensizleēir ve kapsülden ayrılarak merkeze doēru toplanırlar. Canlı dokularda, lak naların içi tamamen doludur (29).



ēekil 4. Hyalin kıkırdaēın ışık mikroskobu görüntüsü

2.2. İNFLAMASYON

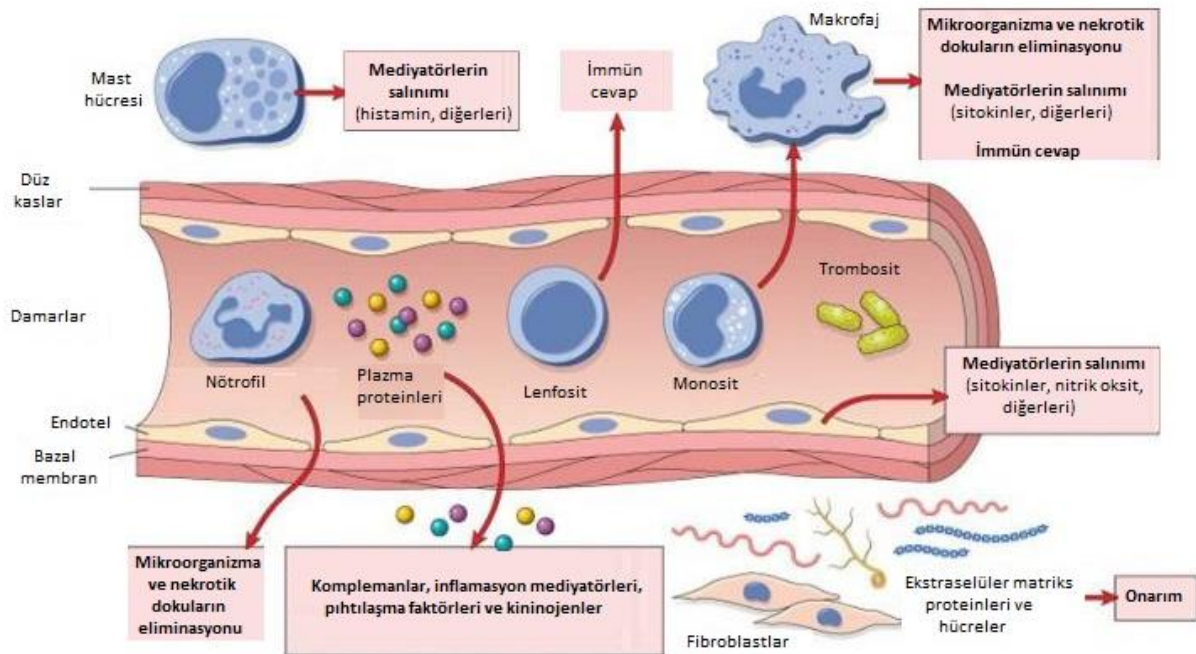
2.2.1. Tanım

Hasara karşı hücresel, humoral ve vasküler değişiklikleri içeren lokal ve kompleks doku yanıtına inflamasyon adı verilir (30).

İnflamasyonun hücresel ve vasküler yanıtları, inflamatuvar bir uyararla, plazma hücrelerinden sentezlenen kimyasal faktörlerle ortaya çıkar. İnflamatuvar yanıt, organizmayı hücre hasarına neden olan etkenlerden korur ve oluşan nekrotik hücrelerden arındırarak dokuyu onarır ve olayı sınırlar (31).

Akut inflamasyon kısa sürelidir. Birkaç dakika ile birkaç gün içerisinde sonlanır. Belirgin nötrofil birikimi, plazma sıvı ve protein eksüdasyonu ile karakterizedir. Kronik inflamasyon ise uzun sürelidir. Lenfosit ve makrofaj toplanması yanı sıra histolojik olarak doku yıkım ve onarımı ile karakterizedir. Doku onarımı, vasküler proliferasyon ve fibrozis ile birliktedir (Şekil 5) (31).

İnflamatuvar yanıtın lokal belirtileri; kızarıklık, şişlik, ısı artışı, ağrı ve fonksiyon kaybıdır (32).



Şekil 5. İnflamasyonda lökosit olayları

2.2.2. İnflamatuar hücreler

Akut inflamasyona, polimorfonükleer granüositler (nötrofil) aracılık ederken, kronik inflamasyona ise lenfositler, makrofajlar ve plazma hücreleri aracılık eder (Şekil-6) (30).

Nötrofiller, dolaşımdaki lökositlerin %40-75'ini oluşturur. Alkalın fosfataz, lizozim, laktoferrin ve kollajenaz içeren spesifik granüller ve lizozom olarak görev yapan azurofilik granüller olmak üzere, sitoplazmalarında iki çeşit granül bulunur. Parçalı çekirdeğe sahip olduklarından polimorfonükleer lökosit olarak adlandırılırlar. Akut inflamasyonda fagositozdan sorumludurlar (30, 32).

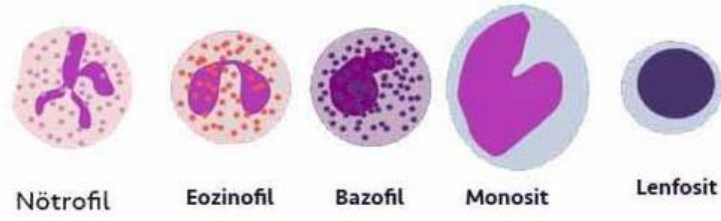
Dolaşımdaki lökositlerin %20-45'ini oluşturan lenfositler, yuvarlak çekirdekli, küçük sitoplazmalı ve az organelli hücrelerdir. Aynı sitolojik yapıda olan ancak fonksiyonel olarak farklı görevleri olan; yüzey antijenlerine bağlanan işaretli antikorlar ile sitokimyasal olarak ayırt edilen B ve T grubu olarak iki gruba ayrılırlar. Akut inflamasyonun ileri evrelerinde ve kronik inflamasyonda baskın hücrelerdir (30, 32).

Monositler, dolaşımda %2-4 oranında bulunur. Makrofajların öncül hücreleridir. Veziküler çekirdekleri ve büyük sitoplazmaları vardır. Sitoplazmaları lizozomlar ve çeşitli sekretuar granüller içerir. Fagositoz, pinositoz, antijenleri lenfositlere sunulması, prostoglandin ve lökotrien gibi inflamatuvar mediyatörler ve interlökin-1 gibi sitokinlerin salınmasından sorumludurlar (30, 32).

B lenfositlerden köken alan plazma hücreleri, yalnızca dokularda bulunur. Yuvarlak ve eksantrik yerleşimli çekirdekleri ve oldukça büyük sitoplazmaları vardır. Antikor salgılanmasından sorumludurlar (30, 32).

Dolaşımdaki lökositlerin %1-6'sını oluşturan eozinofiller dokularda 1:300 oranında daha yoğun olarak bulunur. İki parçalı bir çekirdeği ve granül dolu bir sitoplazmaları vardır. Bu granüller, elektron mikroskopu ile görülebilen kristaloidler içerir ve eozin ile kırmızı boyanırlar. Granüller, çeşitli inflamatuvar mediyatörler içerir. Eozinofiller, alerjik reaksiyonlarda ve parazitik enfeksiyonlara sekonder gelişen inflamasyonda belirgin hücrelerdir (30, 32).

Mast hücrelerinin öncülü olan bazogiller, dolaşımda %1 oranında bulunurlar. Dokuda sayıca fazla olarak bulunurlar. Fasülye şeklinde bir çekirdeğe ve spesifik granüllerden zengin sitoplazmaya sahiptirler. Rutin histolojik incelemelerle görülmeyen bu granüller, özel boyamalarla görülebilirler. Granüller, histamin, heparin ve çeşitli inflamatuvar mediyatörler içerir. Bazofiller/mast hücreleri, IgE için hücre yüzey reseptörlerine sahiptir. Bu sayede tip 1 immün reaksiyonlarda rol alırlar (30, 32).



Şekil 6. Dolaşımdaki lökositlerin histolojik görüntüleri

2.2.3. İnflamasyonun histolojik özellikleri

Seröz inflamasyon: Proteinden fakir sıvının, damar dışına çıkışı ile karakterizedir. Hasar bölgesine bağlı olarak, periton, plevra, perikard boşluklarında efüzyon adını alır. Akut inflamasyonların başlangıcı çoğunlukla seröz formdadır (32).

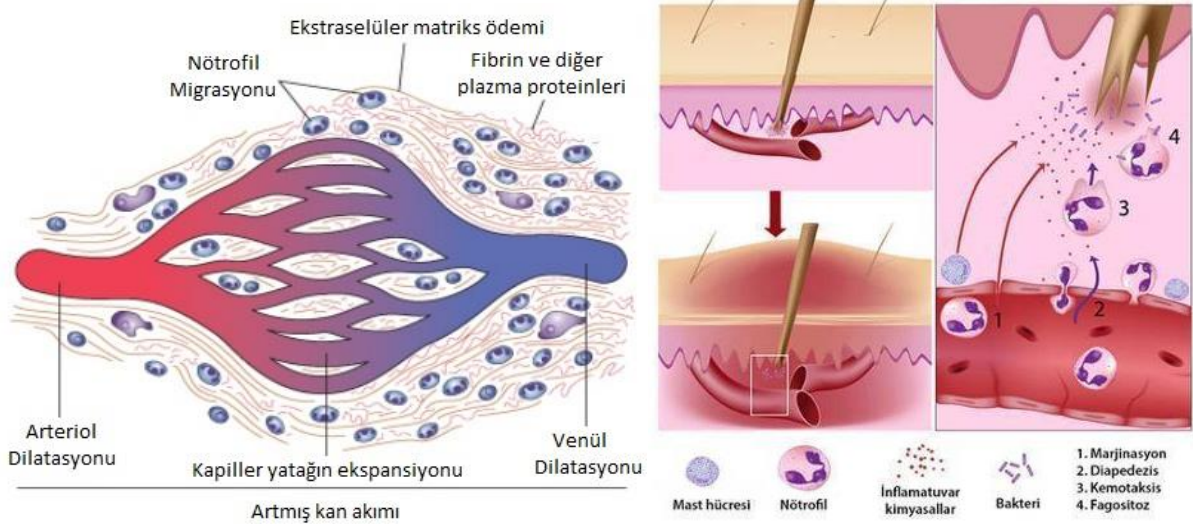
Fibrinöz inflamasyon: Fibrinojenden zengin plazmanın birikimi ile karakterizedir. Daha şiddetli hasar sonucu, aşırı vasküler geçirgenlik nedeniyle fibrinojen gibi yüksek molekül ağırlıklı moleküller, endotel bariyerini geçer. Fibrin oluşumu gözlenir (30).

Pürülan inflamasyon: Hasarlı dokuda, nötrofiller, nekrotik hücrelerden oluşan pürülan eksuda varlığı ile karakterizedir (30, 32).

Psödomembranöz inflamasyon: Mukozal yüzeylerin, fibrinopürülan inflamasyonudur. Nekrotik doku, mukus ve organın diğer içerikleri ile karıştığı eksuda görülür (30).

2.2.4. Akut inflamasyon

Vasküler ve hücrel olaylarla gelişir. Arteriollerde, venüllerde ve kapiller alanda dilatasyon ve sıvı geçirgenliğinde artış görülür. Dolaşımdaki lökositlerin dokuya göçü ve fagositoz ise başlıca hücrel olaylardır. Kapiller yataktaki dilatasyona sekonder, kan akımındaki artış, dokuda ısı ve eritem görülür. Endotel hasarı veya endotel hücreleri arasındaki bağlantıların genişlemesi sonucu damar geçirgenliğinde artış, ekstrasvasküler alana sıvı geçişine, doku ödemine (transuda/eksuda) sebep olur. Kemotaktik ajanların etkisi ile lökositler, damar endoteline bağlanarak dolaşımı terk eder, dokuya geçerler. Dokuya göç eden nötrofiller fagozitozu başlatır. Bu süreçte, lökositler tarafından ekstraselüler alana salınan proteazlar ve toksit metabolitler doku hasarına, organizmada ağrıya ve fonksiyon kaybına yol açar. Ateş ve lökositoz, akut inflamasyonun sistemik etkileridir (Şekil-7) (30-32).



Şekil 7. Akut inflamasyonda vazküler ve hücrel olaylar

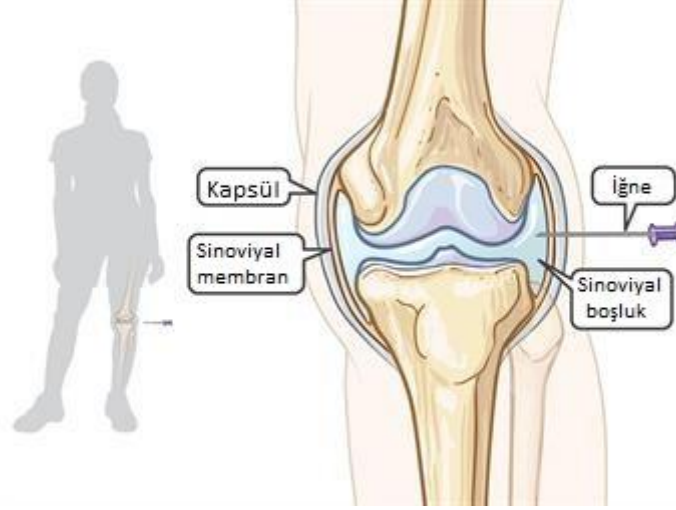
2.2.5. Kronik inflamasyon

Mononükleer hücre infiltrasyonu ile karakterizdir. Makrofajların, lenfositleri ve plazma hücrelerinin baskındır. Doku yıkımı ön plandadır. Anjiogenez ve fibrozis ile onarım gerçekleşir. Kronik inflamasyon, uzun süreli, doku yıkım ve onarım süreçlerinin beraber görüldüğü bir süreçtir (31).

2.3. İNTRAARTİKÜLER ENJEKSİYON

2.3.1. Tanım

Bir sıvının veya ilacın doğrudan eklem içine enjeksiyon ile verilmesine intraartiküler uygulama denir. Artroskopik cerrahi girişimlerde, eklem protezi ameliyatlarında, postoperatif ağrı kontrolü için veya primer tedavi yöntemi olarak intraartiküler enjeksiyon sıklıkla uygulanır (33-36). Postoperatif ağrı kontrolü için, lokal anestezikler, NSAİ ilaçlar, opioidler, anestezik ilaçlar tek başına veya kombinasyon şeklinde kullanılabilir (1, 15, 22, 37-43).



Şekil 8. İntraartiküler enjeksiyonun şematik gösterimi

2.3.2. İntraartiküler Enjeksiyonda Kullanılan İlaçlar

2.3.2.1. Lokal anestezikler

Lokal anestezikler, sinirlere veya sinir içeren dokulara uygulandığında, uygulama yerinden başlayarak, motor ve duysal sinir iletimini geçici olarak bloke eden ilaçlardır. Lokal ve rejyonel anestezide, intraoperatif ve postoperatif analjezi için kullanılırlar (44).

İntraartiküler lokal anestezik uygulamasının, tanısal ve minimal invaziv tedavi prosedürlerinde, postoperatif ağrı kontrolünü başarılı bir şekilde sağladığı gösterilmiştir (1, 45-47).

Bupivakain: En sık kullanılan intraartiküler lokal anesteziktir. Çeşitli artroskopik işlemlerde eklem içi enjeksiyonunda kullanılmış; intraoperatif ve postoperatif analjezi sağladığı gösterilmiştir (1, 15, 34, 36-38, 44, 48-50)

Levobupivakain, ropivakain, prilokain, lidokain, intraartiküler olarak kullanılmış diğer lokal anesteziklerdir (37, 50-55)

2.3.2.2. Opioidler

Opioidler, periferde bulunan opioid reseptörlerine ve lokal anestezik etkilerine bağlı olarak, lokal olarak analjezik etki gösterirler. İnaktif durumdaki nöronal opioid reseptörler, ağrılı uyaran varlığında aktif hale gelir. Bu reseptörler, nöronal iletimin yavaşlatılmasından, eksitator ve proinflatuar nöropeptitlerin salınımının inhibe edilmesinden sorumludur (56).

Morfin: İntraartiküler olarak kullanılan opioidler arasında yer alır. Tek başına ya da lokal anestezikler, NSAİ ilaçlar ve steroidlerle beraber kullanılabilir (34, 37, 39, 41-43, 57-63). İntraartiküler uygulanan morfin, periferik opioid reseptörler üzerinden analjezik etki göstermektedir. Bu etki, intraartiküler naloksan ile geri döndürülebilir (48). Doza bağımlı olarak 24-48 saate kadar etkin analjezi sağlamaktadır (58-62).

Tramadol: Analjezik etkinliğini, hem opioid reseptörlerin aktive olmasıyla, hem de desendan antinosiseptif sistemdeki postsinaptik ve serotonerjik reseptörlerin uyarılması ile sağlar (64-66). Hem akut hem kronik ağrıda kullanılabilir. İntraartiküler tramadol uygulaması postoperatif analjezi sağlama dışında preemptif analjezi için de kullanılabilir (66-70).

2.3.2.3. Klonidin

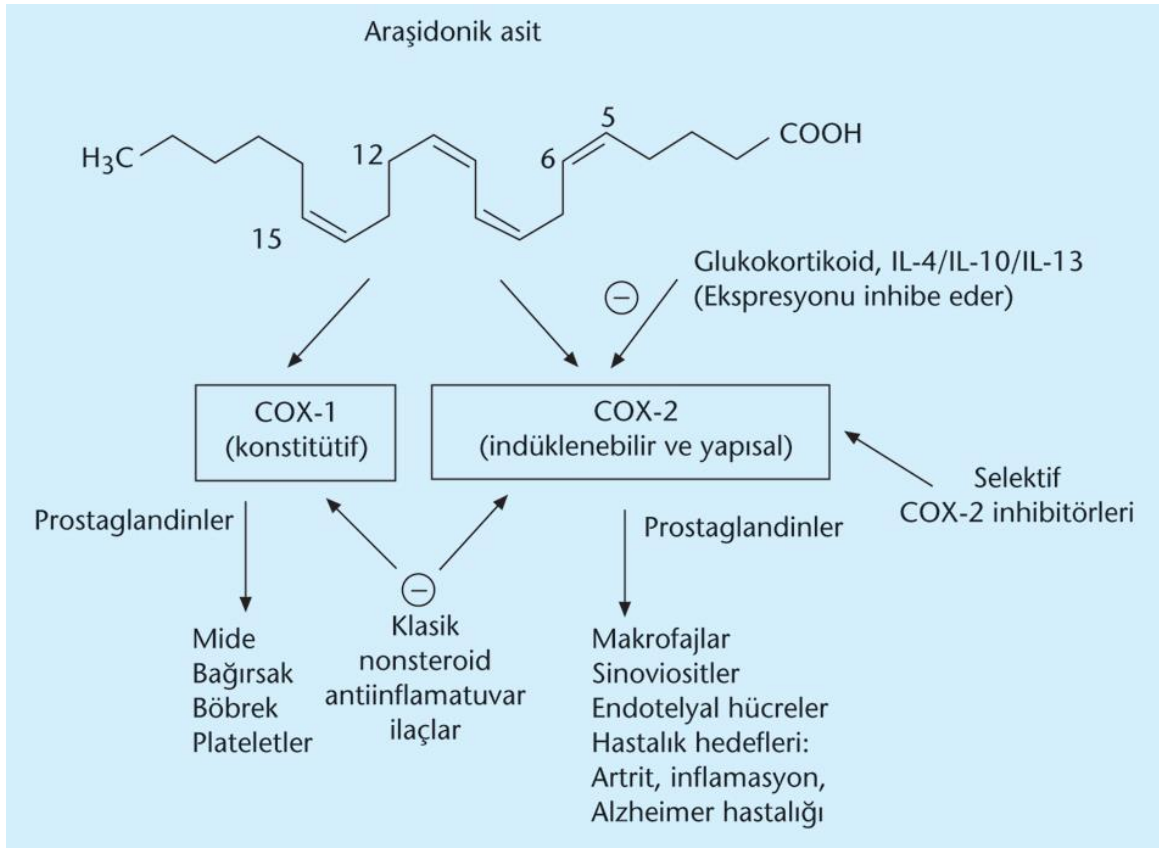
Etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Spinal kordda, alfa-2 reseptörler aracılığı ile direkt etki gösterdiği düşünülmektedir. Doku hasarından sonra noradrenalin salınımını periferik olarak azaltmasının, klonidinin periferik analjezik etkisine neden olduğu düşünülmektedir (9). Tek başına ya da bupivakain, morfin, neostigminle kombine edilerek intraartiküler enjeksiyonlarda kullanılabilir. Kombine kullanımlarda analjezik etki artmaktadır (9, 71-75).

2.3.2.4. Neostigmin

Kolinerjik sistemin ağrı duyusunun algılanması ve iletiminde etkin olduğu gösterilmiştir. Neostigminin analjezik etkisinin, serebral kolinerjik ve noradrenerjik yollarla ilişkili olduğu ve daha çok muskarinik reseptörler üzerinden olduğu düşünülmektedir. Sentetik bir kolinesteraz inhibitörü olan neostigminin, intraartiküler olarak uygulandığında, postoperatif analjezi sağladığı görülmüştür. Diğer ilaçlarla kombine edildiğinde, analjezik etkisi artmadığı düşünülmektedir (40, 74-80).

2.3.2.5. NSAİ ilaçlar

Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, araziidonik asitten, sinir liflerini uyararak ağrı duyusuna sebep olan prostoglandinleri sentezleyen siklooksijenaz enzimini inhibe ederler (Şekil 9). Bu sayede, ağrılı uyaran cevabını inhibe ederler (81). Lokal olarak uygulanan NSAİ ilaçların sistemik uygulamalardan daha etkin olduğunu gösteren çalışmalar, bu ilaçların periferik uygulanmasının analjezik etkileri olduğunu göstermiştir (56).



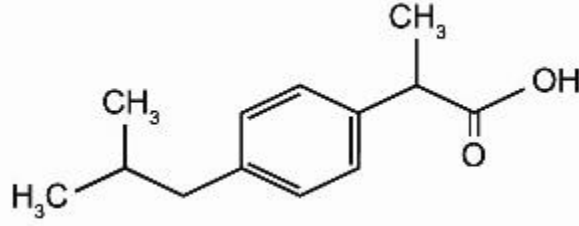
Şekil 9. Prostaglandin sentezinde COX enziminin ve NSAİ ilaçların yeri

Ketorolak: Artroskopilerde, intraartiküler olarak uygulandığında, daha yüksek dozda intravenöz uygulamaya göre, daha üstün postoperatif analjezi sağladığı gösterilmiştir. Farklı dozların kullanıldığı intraartiküler enjeksiyonlarda benzer analjezik etkiler elde edilmiştir (15, 22).

Tenoksikam: Tek başına intraartiküler enjeksiyonunun, aynı dozdaki intravenöz uygulaması ile karşılaştırıldığında daha iyi ve daha uzun analjezik etki sağladığı gösterilmiştir. Lokal anestetikler ile kombine edildiğinde, tek başına tenoksikam ya da tek başına lokal anesteziğe göre daha iyi analjezik etki göstermektedir (17-19, 82).

2.4. İBUPROFEN

Fenilpropionik asit türevi bir NSAİ ilaç olan ibuprofen, aspirinden daha güçlü bir ilaç bulma aşamasında üretilmiştir (92). Aspirin ile benzer potense ve aspirine özgü dezavantajlara sahip olmayan ilk NSAİ ilaçtır (102). İlk olarak 1969'da ABD'de kullanıma sunulan ve uzun yıllardır oral formları kullanılan ibuprofenin intravenöz formu, 2009 yılında ABD'de, 2015 yılında Türkiye'de ruhsatlandırılarak kullanıma girmiştir.



Şekil 10. İbuprofenin kimyasal yapısı

2.4.1. Klinik Etkileri

İbuprofen, antipiretik, antiinflamatuvar, hafif ve orta dereceli ağrılarda analjezik etkiye sahiptir.

2.4.2. Etki Mekanizması

Analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkiye sahip olan ibuprofen, COX-1 ve COX-2 enzimlerini geri dönüşümlü olarak inhibe ederek araziidonik asitten prostoglandin sentezini bloke eder. COX-1 enzimi üzerinde, COX-2 enzimine göre daha fazla inhibisyon etkisine sahiptir (104).

COX-1 ve COX-2 enzimleri dokularda inflamatuvar yanıtların oluşturulmasından sorumludur. COX-1 enzimi birçok hücrede bulunmakla birlikte trombosit agregasyonu ve hemostaz gibi koruyucu etkilerden sorumludur. COX-1 ayrıca gastrointestinal sistemde yer almaktadır ve NSAİ ilaçların GIS yan etkilerinden sorumludur. COX-2 enzimi ise, makrofajlar, endotel hücreleri, sinoviyositler ve diğer inflamatuvar hücrelerde bulunur; doku hasarına yanıt olarak oluşan büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımından sorumludur (103).

NSAİ ilaçlar, prostoglandin E2 inhibisyonuna bağlı olarak, hem periferik hem de santral etkileri sayesinde analjezik etkinlik gösterirler. Periferik ağrılı uyararla birlikte COX enzimleri, prostoglandinleri oluşturarak, spinal korddan salınımını sağlar. Salınan prostoglandinler periferik sinir uçlarını uyararak ağrıya sebep olurlar. Dolayısıyla bu enzimlerin bloke edilmesi durumunda ağrılı yanıtı duyarlılık azalır. NSAİ ilaçların antiinflamatuvar etkisi ise prostoglandin I2 ve E2 moleküllerinin bloke edilmesi ile olur. Bu iki molekül lökosit infiltrasyonu ve ödemi içine alan inflamasyon oluşumundan sorumludur. NSAİ'ların antiinflamatuvar etkisi de bu şekilde ortaya çıkmaktadır (104).

İbuprofenin COX enzimi inhibisyonundan başka, analjezik ve antipiretik etkileri mevcuttur. Bunlar; ameliyat esnasında β -endorfin salınımının güçlendirilmesi, G protein aracılı sinyal iletimi ile etkileşim, nosisepsiyonda görevli aminoasitlerin spinal salınımının bloke edilmesi, nitrik oksit üretiminin down regülasyonudur (105).

2.4.3. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Özellikleri

İbuprofen, propionik asit türevi, [-]R- ve [+]S- izomerlerinin rasemik karışımı bir NSAİ ilaçtır. [+]S-izomeri klinik aktiviteden sorumludur. [-]R-izomeri ise aktif [+]S- şekline dönüşür. [-]R-izomerinin dolaşımda depolanmasıyla aktif ilaç düzeyleri korunur (106). COX izoenzimleri Her NSAİ ilacın, COX enzimlerine farklı oranda seçiciliği bulunur. Bu farklılıklar yan etkiler için belirleyicidir. COX-1 enzimi inhibisyonu daha fazla olan NSAİ ilaçlar, daha fazla yan etki oluşturma potansiyeline sahiptir. COX-1 enzimi inhibisyonu, NSAİ ilaçların yan etkileriyle ilişkiliyken, COX-2 enzimi inhibisyonu ise inflamasyonun engellenmesiyle ilişkilidir. İbuprofen, COX enziminden bağımsız olarak nükleer faktör kappa B ve nötrofil aktivitesinin inhibisyonu ve inflamatuvar ödemin engellenmesini içeren sinyal transdüksiyon yolunu değiştirebilmektedir (105).

İbuprofen oral olarak uygulandığında bağırsak ve mideden %80 oranında emilir. 1-2 saatte an yüksek plazma düzeyine ulaşır. %90'a yakın miktarı karaciğerde metabolize olur. (+)2,4'-(2-hidroksi-2-metilpropilfenil)-propiyonik asit ve (+)2,4'-(2-karboksipropilfenil)-propiyonik asit olmak üzere iki tane metaboliti mevcuttur. Karaciğerde metabolitlerine dönüştükten sonra idrarla atılır (16). İbuprofen >20 mg/ml'lik konsantrasyonlarda proteine %99'dan daha yüksek oranda bağlanmaktadır. Oral biyoyararlanımı %100'e yakındır. İntravenöz dozlarda, oral dozlara yakın biyoyararlanıma sahiptir. Oral süspansiyonu veya solüsyonu serumda maksimum konsantrasyona 0,75-1,5 saat içinde ulaşmaktadır. İbuprofen yarılanma ömrü 1,6-2,5 saattir. Yemeklerle beraber alındığında pik düzeyi 30 dk gecikir, %30 oranında daha düşük serum seviyesine ulaşır. İbuprofen alındıktan 24 saat sonra vücuttan tamamen atılır. İntravenöz ibuprofenin yarılanma ömrü yaklaşık 2 saat civarındadır. Sinovyal sıvıya yavaş geçer bu sebeple sinovyal sıvıdaki konsantrasyonları stabildir. İntravenöz ibuprofen, oral uygulamaya göre daha yüksek maksimum konsantrasyon ile daha hızlı en yüksek konsantrasyona ulaşma zamanı sağlar (107).

2.4.4. Klinik Kullanımı

İbuprofenin hafif ve orta dereceli ağrılarda analjezi amaçlı kullanılır. İnflamasyon ile beraber giden ağrıların tedavisinde etkindir. Erişkinlerde; diş ağrıları, baş ağrısı, migren, romatoid artrit, osteoartrit, dismenore, postoperatif analjezi ve diğer inflamatuvar hastalıklarda endikedir. Antipiretik etkiye sahiptir. Çocuklarda da analjezik ve antipiretik olarak kullanılır. Patent duktus arteriozus tedavisinde indometazinin yerini almaktadır. Parkinson hastalığında düşük risk ile ilişkilendirilmiştir (93).

2.4.5. Yan Etkileri, ilaç etkileşimleri

Yan etkileri ise oldukça geniş bir spektruma dağılır ve çok renkli bir tablo gösterir (103).

- GİS; dispepsi, gastrik erozyon, peptik ülser, üst GİS kanaması
- GÜS; glomerüler filtrasyonda azalma, akut böbrek yetmezliği, papiler nekroz
- Pulmoner; bronkospazm, astım provokasyonu
- Nöropsikiyatrik; baş ağrısı, baş dönmesi, huzursuzluklar, epilepsi provokasyonu, aseptik menenjit
- Dermatolojik; ürtiker, lökositoklastik vaskülit, eritema multiforme, ilaç eropsiyonu
- Hematolojik; kanamaya eğilim, aplastik anemi, trombositopeni, agranülositoz
- Hepatik; toksik hepatit, kolestatik sarılık, karaciğer yetmezliği

Diğer ilaçlarla etkileşimleri (103):

- Oral antikoagülanların etkisini artırır.
- Lityumun atılımını azaltır.
- Oral hipoglisemiklerin etkisini artırır.
- Fenitoin düzeyini artırır.
- Digoksin düzeyini artırır.
- Aminoglikozidlerin düzeyini artırır.
- Antasitler ile emilimleri yavaşlar.
- Probenesit ile atılımını yavaşlar.
- Barbitüratlar ile metabolik klirensini artırır.
- Kafein ile emilim hızlarını artırır.
- Kolestiramin ile emilimleri yavaşlar.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (Tarih: 25.04.2017, Toplantı sayısı: 2017/4, Dosya kayıt numarası: 2017/31, Karar numarası: 2017/31-01) alındıktan sonra, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nın işbirliği ile gerçekleştirilmiştir. Tüm cerrahi işlemler 6343/2 sayılı kanuna, deontoloji tüzüğüne ve Helsinki Hayvan Hakları Bildirgesine uygun olarak yapılmıştır.

3.1. DENEY HAYVANLARI

Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi, Ankara'da üretilen ve Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında hayvan bakımı uygulanan 20 adet, 250-300 gram ağırlığında, erkek, Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Hayvanlar deney süresinde her kafeste bir rat olacak şekilde barındırıldı. Ratlar standart laboratuvar besinleri ile beslendi, sıvı ve besin kısıtlaması yapılmadı.

3.2. İNTRAARTİKÜLER ENJEKSİYON

Ratlar, 80mg/kg intraperitoneal ketamin (Ketalar© 500 mg/10 ml enjeksiyonluk çözelti, Pfizer) ile uyutuldu. Ratların sağ dizi çalışma, sol dizi kontrol grubu olarak seçildi. Aseptik koşullar altında, ratların her birinin sağ diz eklemine 0,25ml, 25mg ibuprofen solüsyonu (İntrafen 400 mg/4 ml İ.V. infüzyon için çözelti içeren flakon Steril, GEN), sol diz eklemine 0,25ml %0,9 serum fizyolojik (Polifleks %0,9 İzotonik sodyum klorür, 100ml, Polifarma) enjekte edildi. Sağ dizler çalışma, sol dizler kontrol grubu olarak adlandırıldı. Enjeksiyonlar için 26 gauche 1ml insülin enjektörü kullanıldı. Rat dizlerinde intraartiküler aralık 0,25ml alabildiğinden, 0,25ml SF veya ibuprofen solüsyonu kullanıldı. Daha sonra hayvanlar uyandırıldı. Her bir rat ayrı kafeste olmak üzere, dörder rattan oluşan beş grup oluşturuldu, ratların kafesleri 1'den 20'ye kadar numaralandırılarak hayvan bakım ünitesine alındı.



Resim 1. Diz eklemi palpasyonu



Resim 2. Enjeksiyon için diz eklemi hazırlığı



Resim 3. Eklem içi enjeksiyonun uygulanması

3.3. DİZ EKLEMİNİN ÇIKARILMASI

İntraartiküler enjeksiyonu takiben, 1, 2, 7, 14 ve 21. günlerde, her bir gruptaki ratlar 120mg/kg intraperitoneal ketamin (Ketalar 500 mg/10 ml enjeksiyonluk çözelti, Pfizer) dozu ile uyutulup, servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Uygun saha temizliğinden sonra ratların her iki alt ekstremitesi, femur başlarını açığa çıkaracak şekilde diseke edildi. Alt ekstremiteler ayrıldıktan sonra, cilt, cilt altı ve kaslar diseke edildi. Diz eklemi kapsülü korunarak femur ditalinde, tibia proksimalinden kesilerek, diz eklemi bir bütün halinde, histolojik doku kasedine sığacak şekilde çıkarıldı. Makroskopik olarak hematoma ve diğer olası hasarların olup olmadığı incelenerek her bir diz ayrı ayrı tamponlu formaldehit solüsyonuna konuldu. Her bir ratın numarası ile birlikte çalışma dizleri “R”, kontrol dizleri “L” olarak etiketlendi. Örnekler Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına nakledildi.



Resim 4. Alt ekstremita diseksiyonu

3.4. RAT GRUPLARI

3.4.1. Grup 1

İntraartiküler enjeksiyondan sonraki 1. günde sakrifiye edilen 1, 2, 3 ve 4 numaralı ratlardan oluşmaktadır. Sağ dizleri çalışma, sol dizleri kontrol olmak üzere 8 adet diz eklemi örneği alınmıştır.

3.4.2. Grup 2

İntraartiküler enjeksiyondan sonraki 2. günde sakrifiye edilen 5, 6, 7, ve 8 numaralı ratlardan oluşmaktadır. Sağ dizleri çalışma, sol dizleri kontrol olmak üzere 8 adet diz eklemi örneği alınmıştır.

3.4.3. Grup 3

İntraartiküler enjeksiyondan sonraki 7. günde sakrifiye edilen 9, 10, 11 ve 12 numaralı ratlardan oluşmaktadır. Sağ dizleri çalışma, sol dizleri kontrol olmak üzere 8 adet diz eklemi örneği alınmıştır.

3.4.4. Grup 4

İntraartiküler enjeksiyondan sonraki 14. günde sakrifiye edilen 13, 14, 15 ve 16 numaralı ratlardan oluşmaktadır. Sağ dizleri çalışma, sol dizleri kontrol olmak üzere 8 adet diz eklemi örneği alınmıştır.

3.4.5. Grup 5

İntraartiküler enjeksiyondan sonraki 21. günde sakrifiye edilen 17, 18, 19 ve 20 numaralı ratlardan oluşmaktadır. Sağ dizleri çalışma, sol dizleri kontrol olmak üzere 8 adet diz eklemi örneği alınmıştır.

3.5. HİSTOLOJİK İNCELEME

3.5.1. Örneklerin hazırlanması

Alınan doku örnekleri %10 nötral tamponlu formaldehit solusyonunda 1 hafta oda sıcaklığında tespit edildi. Daha sonra dekalsifikasyon için 'De Castro' solüsyonuna alındı ve 3 günde bir dokular kontrol edilerek De Castro solüsyonu yenilendi. Dekalsifikasyon işlemi oda sıcaklığında 4 hafta sürdü. Dekalsifiye olan dokular kasetlere yerleştirildikten sonra %10 tamponlu formalinde fikse edilip ışık mikroskobu doku takip cihazına alındı.

3.5.2. Kullanılan malzeme ve solüsyonların hazırlanması

1. %10 tamponlu formalin tespit solüsyonu
2. De Castro solüsyonu
3. Hematoksilen-Eosin boyası
4. Masson'nun Trikróm boyası

3.5.2.1. %10 tamponlu formalin tespit solüsyonu

%40 Formaldehit	200 ml
Sodyum dihidrojen phosphate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (BDH Chemicals)	8 gr
Sodyum phosphate (NaH_2PO_4) (BDH Chemicals)	13 gr
Distile su	1800 ml

Yukarıdaki formüle göre hazırlanan karışım homojen olana kadar karıştırılır. Eklenen maddeler tamamen çözündüğünde solüsyon kullanıma hazır hale gelir ve dokuların tespiti için kullanılır.

3.5.2.2. De Castro solüsyonu

Saf alkol	300 ml
%70 Nitrik asit	30 ml
Kloral hidrat	50 gr
Distile su	670 ml

Kemik dokularının dekalsifikasyonu için kullanılan De Castro solüsyonu yukarıdaki oranlarda hazırlandı.

3.5.2.3. Hematoksilen - Eosin boyası

3.5.2.3.1. Hematoksilen hazırlanması

Hematoksilen kristali (Merck)	7.5 gr
%100'lük alkol	75 ml
Alüminyum Amonyum sülfat ($\text{NH}_4\text{Al}(\text{SO}_4) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	150gr
Distile su	1500 ml
Mercuric oksit (Merck)	7.5 gr

Alkolde kaynatılarak eritilen hematoksilen ile suda kaynatılarak eritilen amonyum alum sıcakken birbirine eklendi. Üstüne merkuri oksit eklendi. Çözelti koyu menekşe renk alınca kap soğutuldu.

3.5.2.3.2. Eosin hazırlanması

Eosin Y (Sigma E-6003)	3 gr
Distile su	475 ml
%96'lık alkol	125 ml
Asetik asit	2 damla

100 ml distile su içinde Eosin Y eritildikten sonra üstüne %96lık alkol eklendi. Elde edilen karışım üzerine 375 ml distile su eklendikten sonra 2 damla asetik asit eklendi.

3.5.2.4. Masson'un Trikrom boyası

3.5.2.4.1. Bouin Solüsyonu

Sature aquöz pikrik asit solusyonu	75 ml
%40 formaldehit	25 ml
Glacial asetik asit	5 ml

3.5.2.4.2. Asit Alkol Solüsyonu

%37 Hidroklorik asit (HCl)	10 ml
%70 Alkol	1000 ml

3.5.2.4.3. Amonyaklı Su

Bir miktar distile su ile birkaç damla amonyak (NH₃) karıştırılır.

3.5.2.4.4. Trikrom Boyası

Kromotrop 2R	0,6 gr
Light green	0,3 gr
Fosfotungustik asit	0,8 gr
Asetik asit	1 ml
Distile su	100 ml

3.5.2.4.5. Asetik Asit Solüsyonu

Distile su	100 ml
Asetik asit	5 ml

3.5.3. Işık mikroskobu doku takibi

- Yukarıda belirtilen şekilde De Castro solüsyonunda dekalsifiye edildikten sonra %10 tamponlu formalin solusyonunda tespit edilen doku örnekleri takip için Leica TP 1020 ışık mikroskobu takip cihazına alındılar.
- Takip cihazında dehidratasyonu sağlamak için sırayla %70, %80, %90, %96 ve %100'lük alkol solüsyonları, aşağıda belirtilen sürelerde, kullanıldı.

%70 alkol 1 saat
%80 alkol 1 saat
%90 alkol 1 saat
%96 alkol 1 saat
%100 alkol 1 saat
%100 alkol 1 saat
%100 alkol 1 saat

- Şeffaflandırma için doku örnekleri 1'er saatten 2 kere ksilol'den geçirildiler.
- Parafin alıştırma: Örnekler 2,5 saat saf parafinde bekletildiler.
- Gömme: Doku takip cihazından alınan örnekler Leica Eg1150H parafin istasyonunda saf parafine gömüldüler.
- Elde edilen parafin bloklardan kızaklı mikrotomla 5 µm kalınlıkta kesitler alındı.
- Örneklerin morfolojileri Hematoksilen - eozin boyası ile boyanmış kesitlerde ışık mikroskopik olarak incelendi.

3.5.4. Hematoksilen-Eozin ile boyama

1. Hazırlanan parafin bloklardan alınan 5 mikron kalınlığındaki seri kesitler bir gece 60°C etüvde bırakıldıktan sonra 45 dakika ksilolde tutularak deparafinize edildiler.
2. Örnekler dereceli alkol serilerinden (%100, %96, %80) geçirilerek rehidrate edildiler.
3. Hematoksilen ile 15 dakika boyandılar.
4. Çeşme suyu ile yıkanan kesitler asit-alkole batırılıp çıkarıldı.

5. Eozin ile 1 dakika boyandıktan sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildiler.
6. Ksilolde şeffaflandırıldı.
7. Kanada balsamı ile kapatıldı.

3.5.5. Masson'un Trikrom boyaması

1. Hazırlanan parafin bloklardan alınan 5 mikron kalınlığındaki seri kesitler bir gece 60°C etüvde bırakıldıktan sonra 45 dakika ksilolde tutularak deparafinize edildiler.
2. Örnekler dereceli alkol serilerinden (% 96 etanol 10 dakika iki kere, %80 etanol 10 dakika iki kere) geçirilerek rehidrate edildiler.
3. Distile su,
4. Bouin solusyonunda 56°C de 60 dakika,
5. Sudan geçirilip hematoksilen ile 20 dakika boyandılar.
6. Sudan geçirilen kesitler asit-alkole batırılıp çıkarıldı.
7. Sudan geçirilen kesitler amonyaklı suya batırılıp çıkarıldı.
8. Sudan geçirilen kesitler trikrom boyası ile 15 dakika boyandı.
9. %0,5 asetik asit solüsyonunda 2 dakika tutuldu.
10. Dereceli alkol serilerinden (%80, %96) geçirilerek dehidrate edildiler.
11. Ksilolde şeffaflandırıldı.
12. Kanada balsamı ile kapatıldı.

3.5.6. Histopatolojik Değerlendirme

Doku örneklerine ait kesitler, DFC7000T digital camera (Leica, Wetzlar-Germany) bağlı Leica DM6B (Wetzlar-Germany) mikroskop ile incelendi ve fotoğraflandı.

Eklem kesitlerinde sinovyum ve çevresindeki bağ doku alanlar; **konjesyon, ödem, nötrofil infiltrasyonu, kronik inflamasyon, subintimal fibrozis** açısından **0=yok, 1=az, 2=orta derecede, 3=ciddi** şeklinde değerlendirildi.

Sinovyal hiperplazi; 0=tek sıra sinovyosit, 1=iki sıra sinovyosit, 2=üç sıra sinovyosit, 3=dört sıra sinovyosit olarak değerlendirildi.

Tablo 1. Rat dizlerinde izlenen histopatolojik deęişikliklerin deęerlendirilmesi

HİSTOPATOLOJİK ÖZELLİK	SKOR			
	0	1	2	3
Konjesyon	Yok	Az	Orta derecede	Ciddi
Ödem	Yok	Az	Orta derecede	Ciddi
Nötrofil infiltrasyonu	Yok	Az	Orta derecede	Ciddi
Kronik inflamasyon	Yok	Az	Orta derecede	Ciddi
Sinoviyosit hiperplazisi	1 sıra sinoviyosit	2 sıra sinoviyosit	3 sıra sinoviyosit	4 sıra sinoviyosit
Subintimal fibrozis	Yok	Az	Orta derecede	Ciddi

3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin istatistiksel analizi için IBM SPSS Statistics version 17.0 software (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) yazılımı kullanıldı. Histolojik skorlar için tanımlayıcı istatistikler medyan (%25 - %75) olarak ifade edildi.

Sakrifikasyon günleri arasındaki her skorlamanın ikili karşılaştırmasında, Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi uygulandı. Bonferroni düzeltilmesine göre 0.0025'den küçük her bir p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Her sakrifikasyon günü içinde, sol ve sağ dizler arasındaki histolojik değerlendirme skorlarındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı, Bonferroni düzeltilmeli Wilcoxon Sign Rank testi ile değerlendirildi. Bonferroni düzeltilmesine göre, 0.010'dan küçük her bir p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

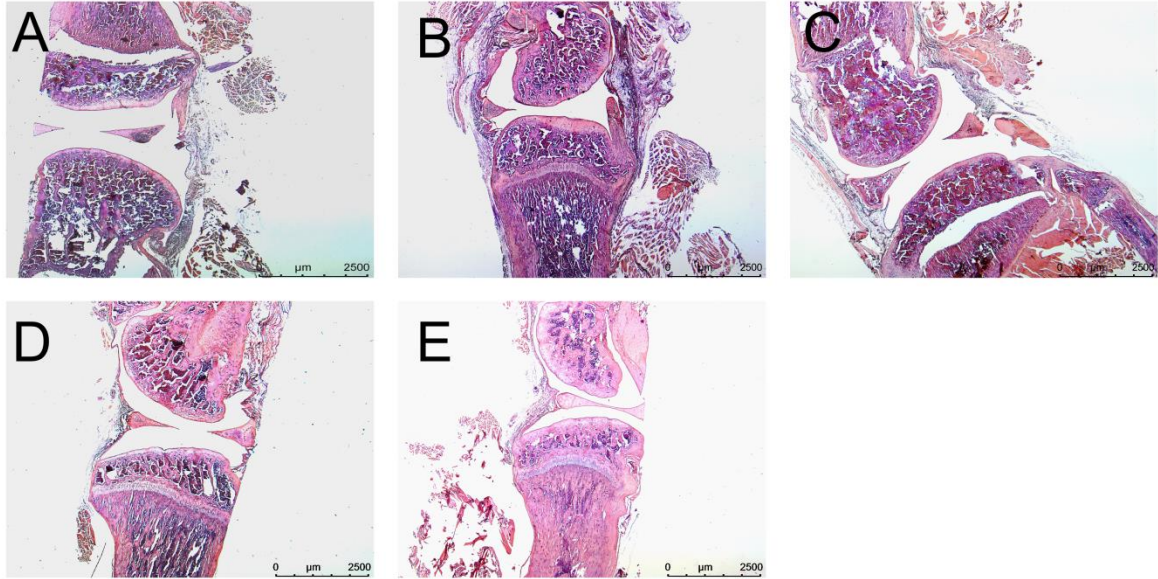
Bu çalışmada, Tip I hatayı kontrol etmek için Bonferroni düzeltilmesi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

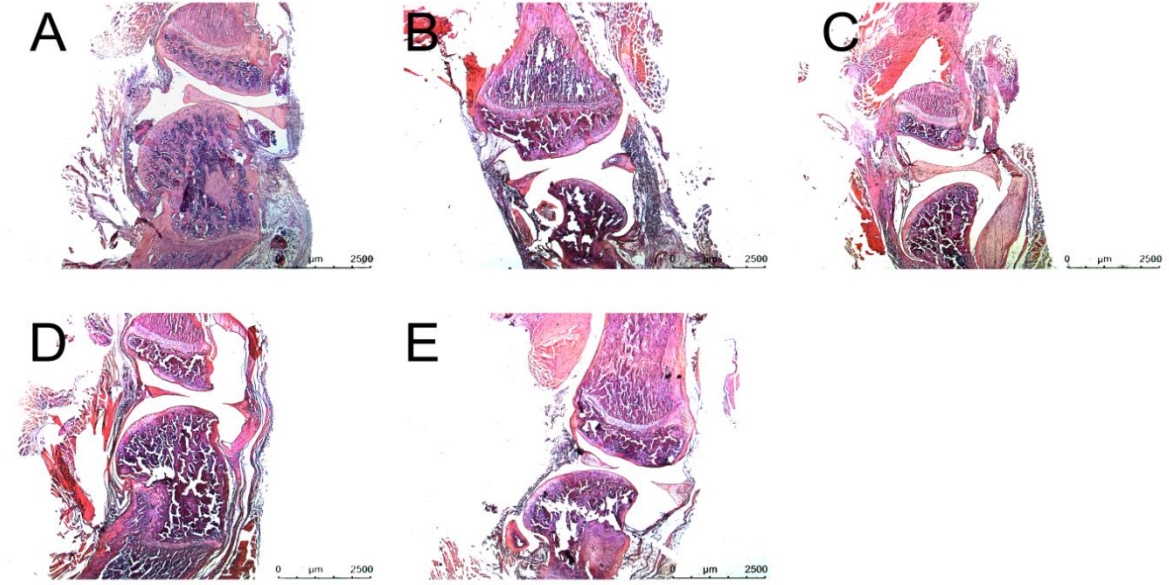
Diz eklemlerine SF ve ibuprofen enjekte edilip, 1, 2, 7, 14, 21. günlerde sakrifiye edilen ratların diz eklemlerinin histopatolojik değerdendirmesi yapıldı. Diseksiyon sırasında diz eklemlerinde makroskopik olarak hematoma rastlanmadı.

Sakrifiye edilen sıçanların sağ ve sol diz eklemine ait örneklerde eklem kıkırdağı, eklem yüzeyleri, eklem aralığı, menisküs ve sinovyumu içeren kesitler incelendi (Resim 5-6). Kesitlerin geçtiğı seviyeye göre sağ ve sol dizlerde de areolar, adipöz ve fibröz yapıda sinovyum izlendi.

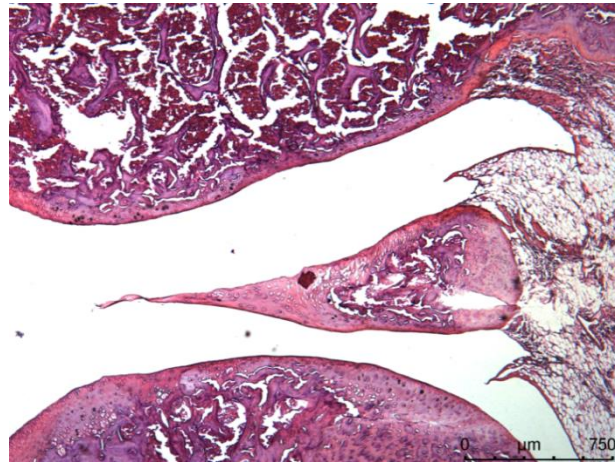
Kontrol grubu diz eklemine 1. güne ait örneklerde eklem aralığı ve her iki yanda adipöz (Resim 7) veya areolar (Resim 8) yapıda sinovyum izlendi. Sinovyum oluşturur sinovyal hücreler ve altında kollajen fibriller, adipositler, kan damarı kesitleri içeren bağ dokusu normal histolojik yapıdaydı (Resim 9-13). Bu grupta sinovyumda ödem, damarlarda konjesyon, nötrofil infiltrasyonu ve sinovyal hiperplazisi gözlenmedi (Resim 10-13). Eklem kıkırdağı yüzeyleri düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuştu (Resim 14).



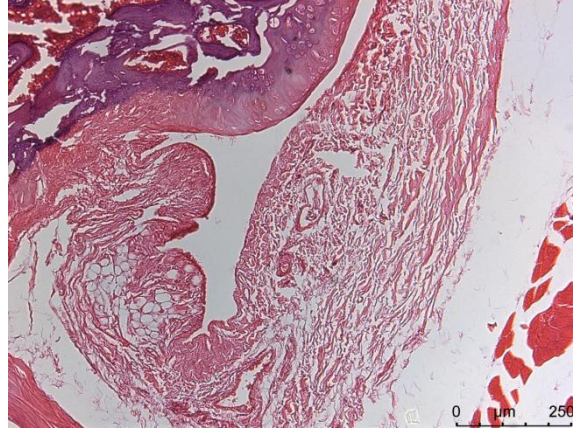
Resim 5. Kontrol grubu diz eklemi A) 1.gün B) 2.gün C) 7.gün D) 14.gün E) 21. güne ait örneklerde eklem kıkırdağı, eklem yüzeyleri, eklem aralığı, menisküs ve sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X1,25)



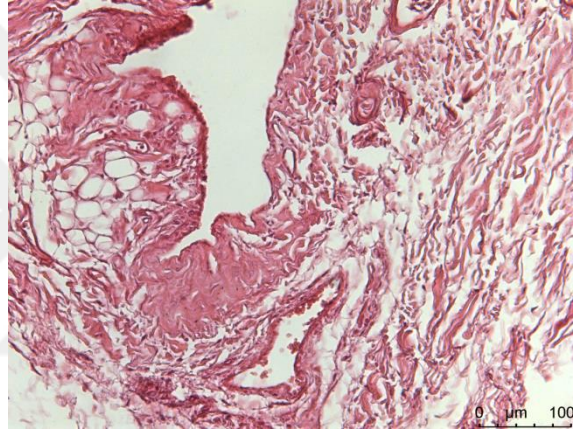
Resim 6. Çalışma grubu diz eklemi A) 1.gün B) 2.gün C) 7.gün D) 14.gün E) 21. güne ait örneklerde eklem kıkırdığı, eklem yüzeyleri, eklem aralığı, menisküs ve sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X1,25)



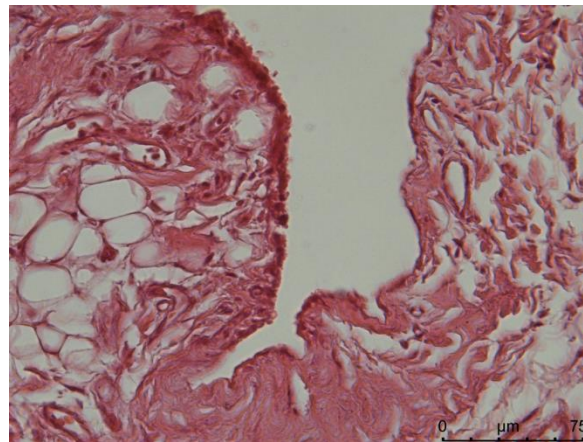
Resim 7. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örneklerin eklem aralığı mikrografı. Eklem yüzeyleri, menisküs ve meniskusun iki tarafında sinovyal membran izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X4)



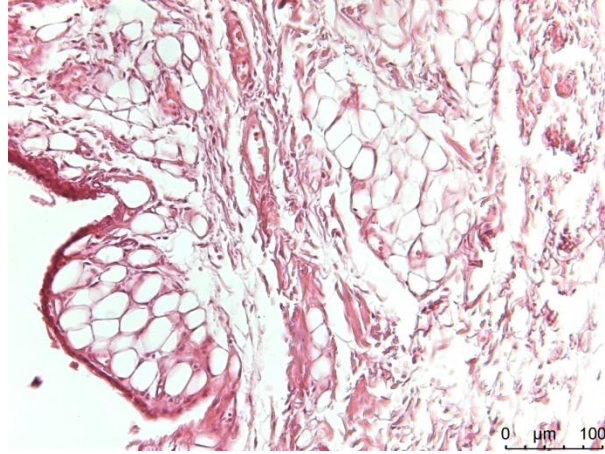
Resim 8. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte sinovyal membran izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X10)



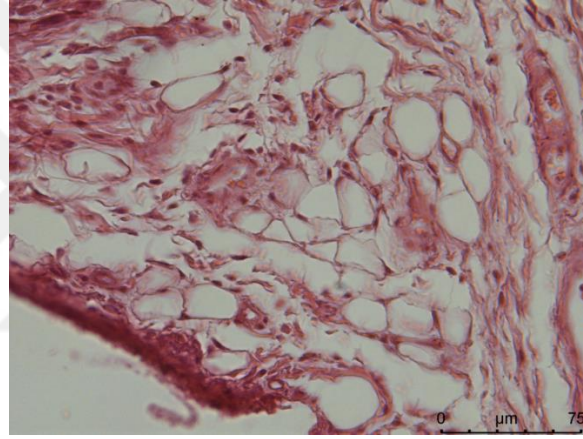
Resim 9. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte sinovyal hücreler ve kollajen liflerden oluşan normal histolojik yapıda areolar sinovyum gözlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)



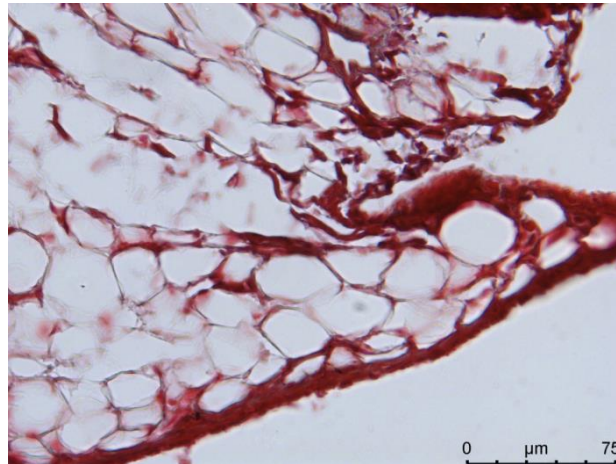
Resim 10. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte daha büyük büyütmede sinovyal hücreler ve altında kollajen lifler, adipositler, kan damarları içeren bağ dokusundan oluşan normal histolojik yapıda sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)



Resim 11. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte normal histolojik yapıda areolar sinovyum gözlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)



Resim 12. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte sinovyositlerden oluşan sinovyal membran ve altında gevşek bağ dokusu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

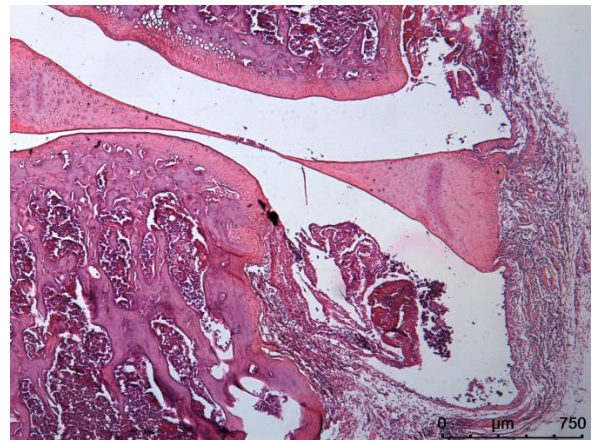
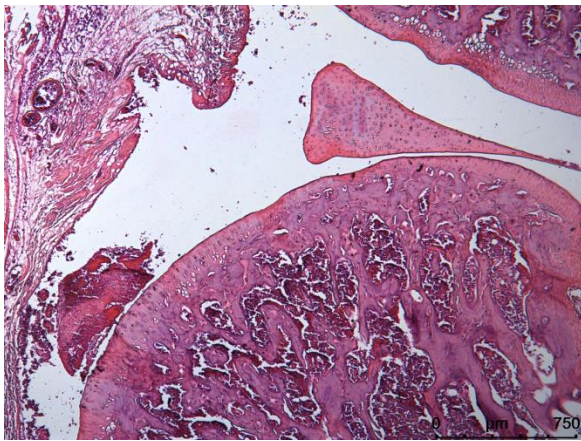


Resim 13. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte sinovyositlerden oluşan sinovyal membran ve altında gevşek bağ dokusu izlenmektedir. (Masson'un trikromu X40)

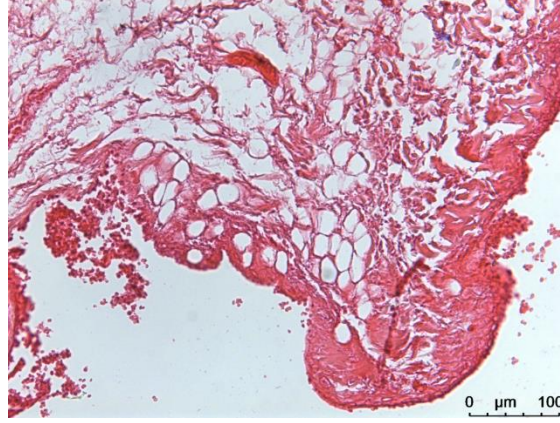


Resim 14. Kontrol grubu diz eklemi 1. güne ait örnekte eklem kıkırdığı yüzeyi düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuş olarak izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)

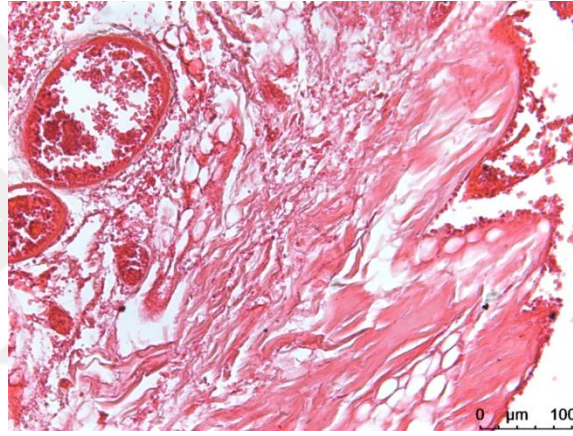
Çalışma grubu diz ekleminde 1. güne ait örneklerde eklem aralığında eritrosit ve lökositler izlendi (Resim 15). Bu grupta sinovyumda orta derecede ödem, damarlarda ciddi konjesyon, sinovyumda ciddi nötrofil infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 16-21). Sinovyosit hiperplazisi gözlenmedi (Resim 12-14). Eklem kıkırdığı yüzeyleri düzgündü ancak yüzeye tutunmuş eritrosit ve lökositler izlendi. Kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuştu (Resim 22).



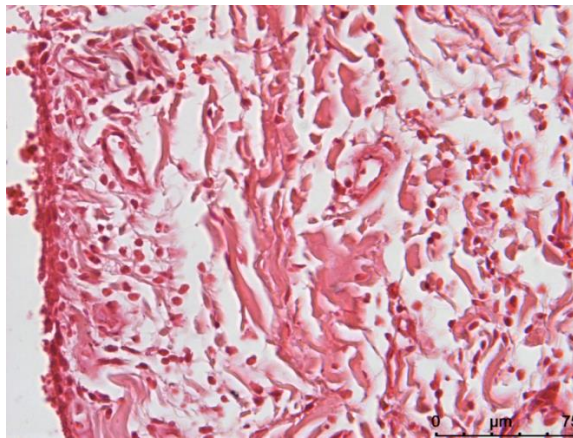
Resim 15. Çalışma grubu diz ekleminde 1. güne ait örneklerde eklem aralığında eritrosit ve lökositler, sinovyumda belirgin inflamasyon izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X4)



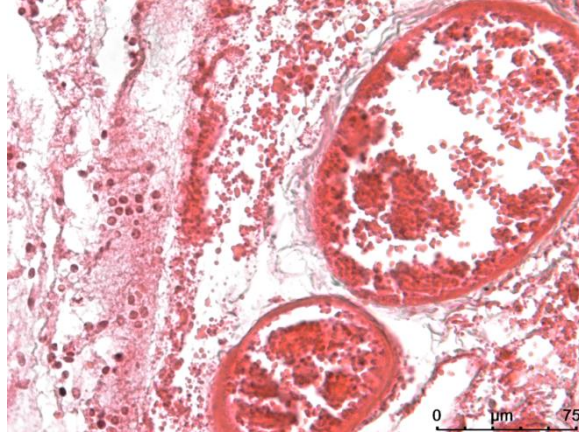
Resim 16. Çalışma grubu diz ekleminde 1. güne ait örnekte sinovyal membrana tutunmuş eritrosit ve lökosit kümeleri izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)



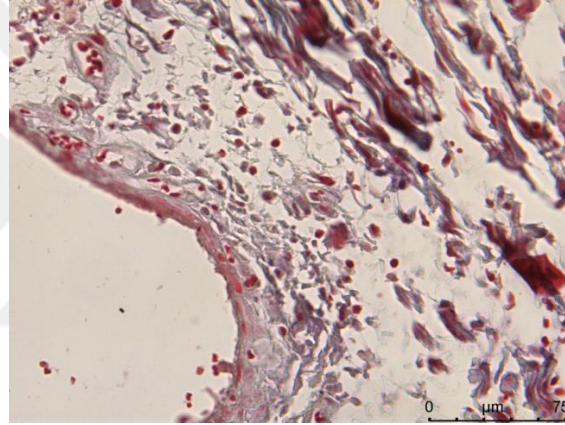
Resim 17. Çalışma grubu diz ekleminde 1. güne ait örnekte sinovyal membrana tutunmuş eritrosit ve lökosit kümeleri, sinovyumda damarda ciddi konjesyon, damar çevresinde ciddi inflamasyon izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)



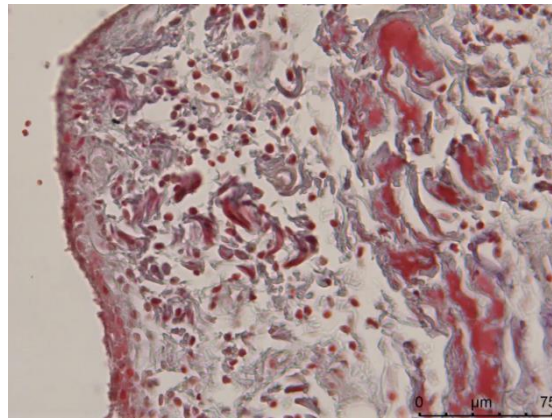
Resim 18. Çalışma grubu diz ekleminde 1. güne ait örnekte sinovyal membrana tutunmuş eritrosit kümeleri, tek sıralı sinovyal hücreleri altında bağ dokusunda orta derecede ödem ve ciddi nötrofil infiltrasyonu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)



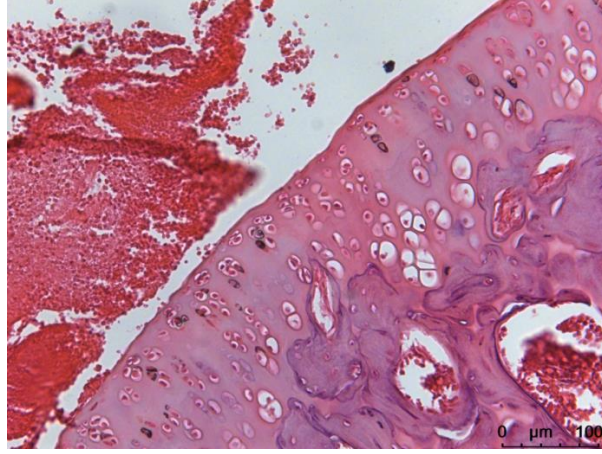
Resim 19. Çalışma grubu diz ekleminde 1. güne ait örneğin daha büyük büyütmesinde damarda staz ve konjesyon, damar çevresinde ödem, hemoraji ve nötrofil infiltrasyonu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)



Resim 20. Çalışma grubu diz ekleminde 1. güne ait örnekte sinovyumda ödem, damarlarda konjesyon, yer yer nötrofil infiltrasyonu izlenmektedir. Ödem nedeniyle birbirinden ayrılmış kollajen fibriller gözlenmektedir. (Masson'un trikromu X40)

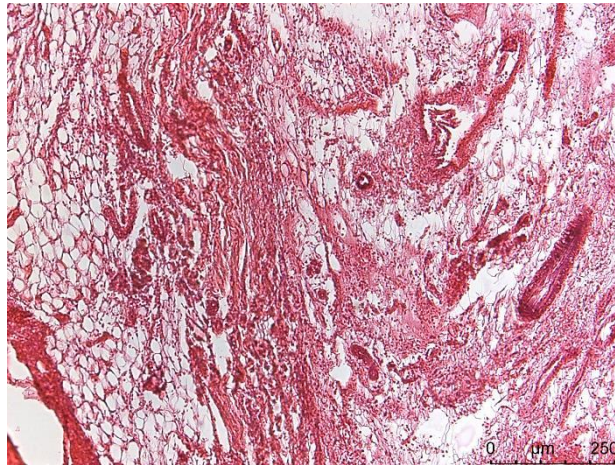


Resim 21. Çalışma grubu diz ekleminde 1. güne ait örnekte sinovyumda belirgin nötrofil infiltrasyonu izlenmektedir. Ödem nedeniyle birbirinden ayrılmış kollajen fibriller gözlenmektedir. (Masson'un trikromu X40)

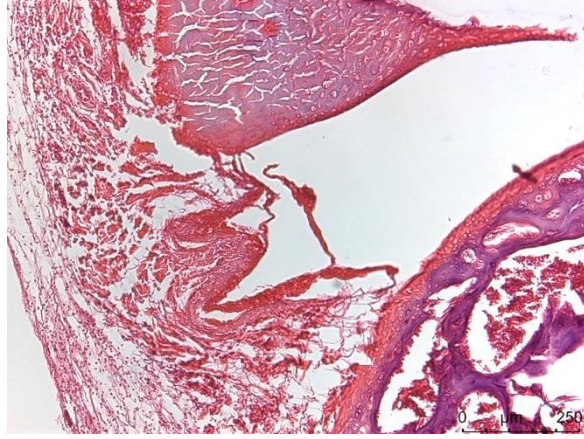


Resim 22. Çalışma grubu diz eklemine 1. güne ait örnekte eklem aralığına hemaraji (hematom), yer yer eklem kıkırdığı üzerinde eritrosit kümeleri, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuş olarak izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)

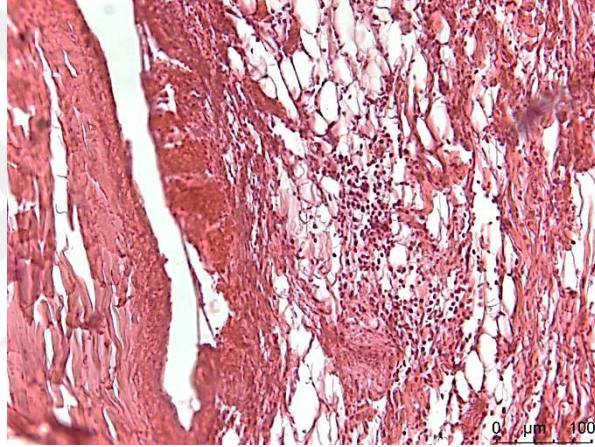
Kontrol grubu diz eklemine 2. güne ait örneklerde sinoviyumu oluşturan sinovyal hücreler ve altında kollajen fibriller, adipositler, kan damarı kesitleri içeren bağ dokusu ile sinoviyumda hemoraji, minimal ödem ve minimal nötrofil infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 23-28). Sinoviyosit hiperplazisi gözlenmedi (Resim 26). Eklem kıkırdığı yüzeyleri düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuştu (Resim 29).



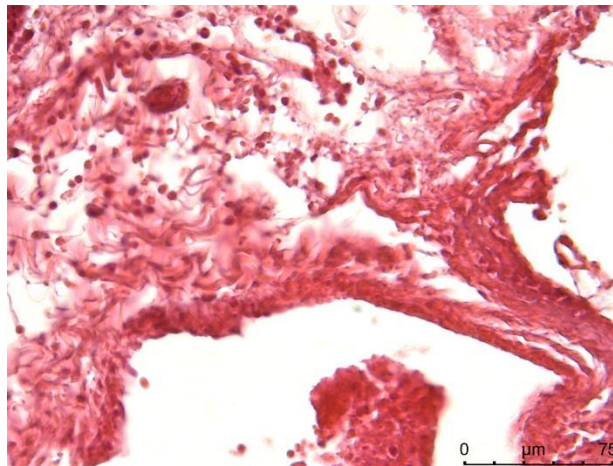
Resim 23. Kontrol grubu diz eklemine 2. güne ait örnekte sinoviyum altında periartiküler bölgede ödem, hemoraji ve inflamasyon izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X10)



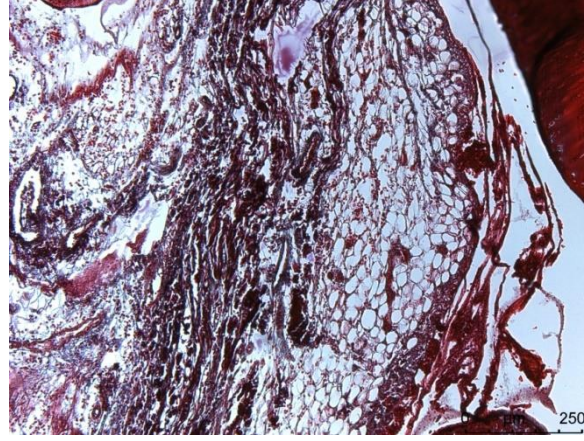
Resim 24. Kontrol grubu diz ekleminde 2. güne ait örnekte sinovyum altında periartiküler bölgede ödem, hemoraji ve inflamasyon izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X10)



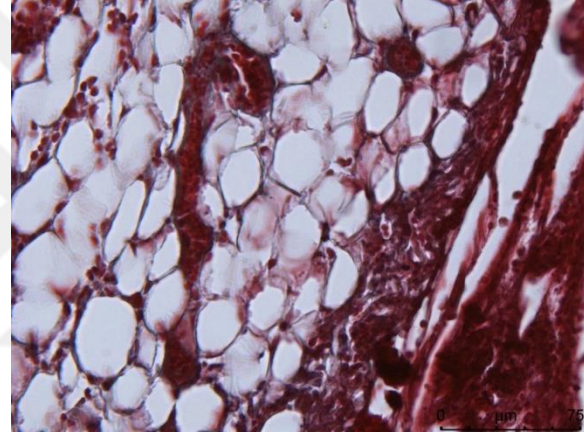
Resim 25. Kontrol grubu diz ekleminde 2. güne ait örnekte sinovyumda nötrofil infiltrasyonu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)



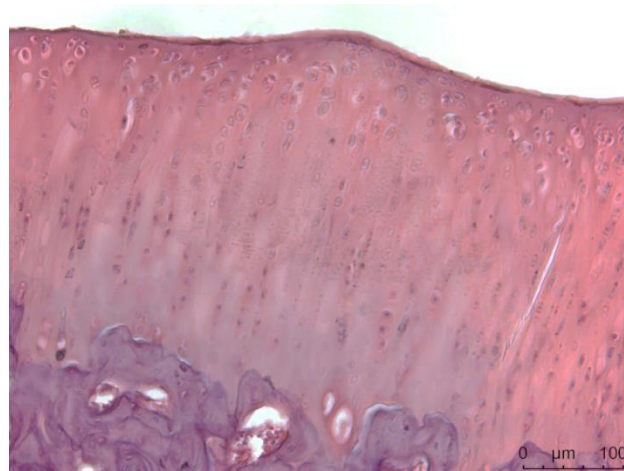
Resim 26. Kontrol grubu diz ekleminde 2. güne ait örnekte sinovyal membrandan oluşan sinovyal membran ve altında bağ dokusunda lökosit infiltrasyonu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)



Resim 27. Kontrol grubu diz eklemine 2. güne ait örnekte sinovyumda nötrofil infiltrasyonu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X10)

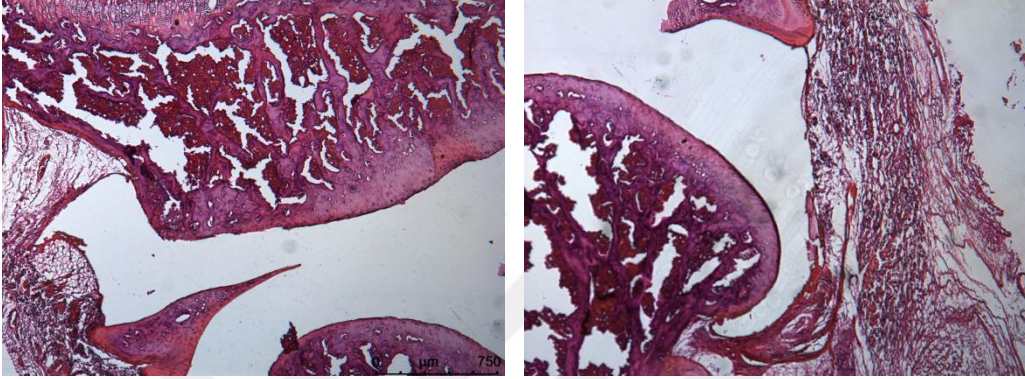


Resim 28. Kontrol grubu diz eklemine 2. güne ait örnekte sinovyumda adipositler arasında hücre infiltrasyonu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

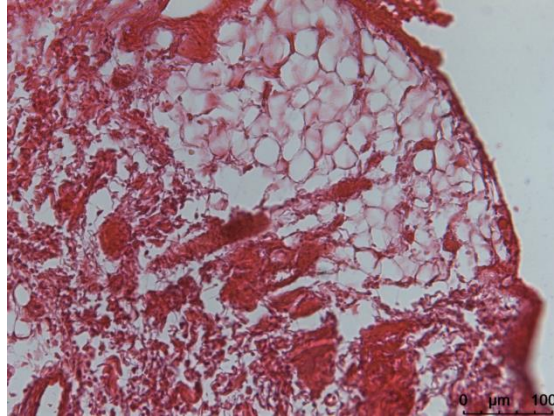


Resim 29. Eklem kıkırdığı yüzeyi düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisinin korunduğu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)

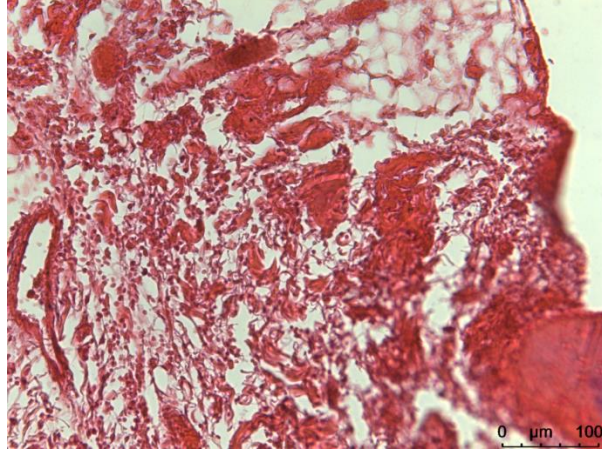
Çalışma grubu diz ekleminde 2. güne ait örneklerde eklem aralığı açıldı ve 1. günde izlenen hemoraji ve hücre izlenmedi (Resim 30). Bu grupta sinovyumda orta derecede ödem, damarlarda orta derecede konjesyon, ciddi nötrofil infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 31-33). Sinoviyosit hiperplazisi gözlemlenmedi (Resim 31, 32). Eklem kıkırdığı yüzeyleri düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuştu (Resim 34).



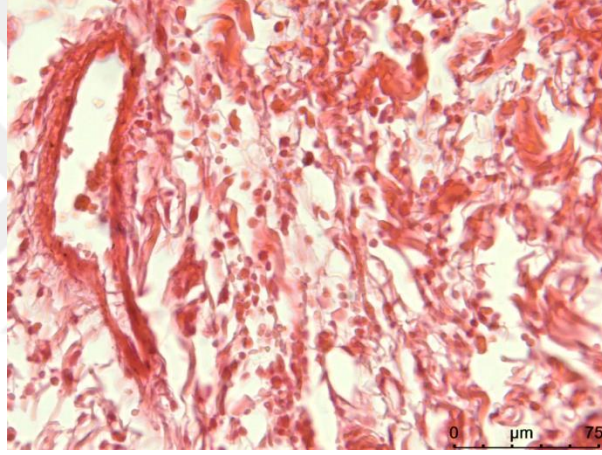
Resim 30. Çalışma grubu diz eklemi 2. güne ait örnekte eklem aralığı, menisküs komşuluğunda her iki tarafta sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X4)



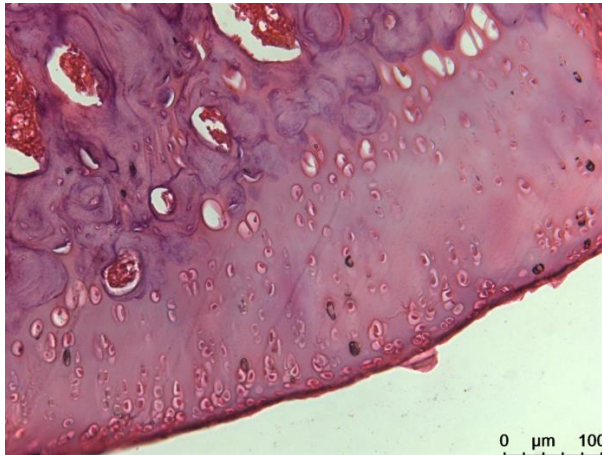
Resim 31. Çalışma grubu diz eklemi 2. güne ait örnekte sinoviyositler ve altında adipositlerden oluşan adipoz sinovyum, sinovyumda ciddi infiltrasyon izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)



Resim 32. Çalışma grubu diz eklemi 2. güne ait örnekte sinovyumda orta derecede ödem ve ciddi infiltrasyon izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)

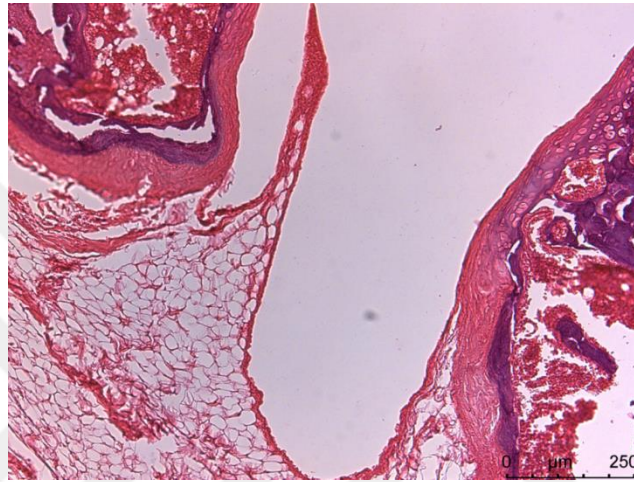


Resim 33. Çalışma grubu diz eklemi 2. güne ait örnekte sinovyumun daha büyük büyütmesinde orta derecede ödem ve ciddi nötrofil infiltrasyonu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

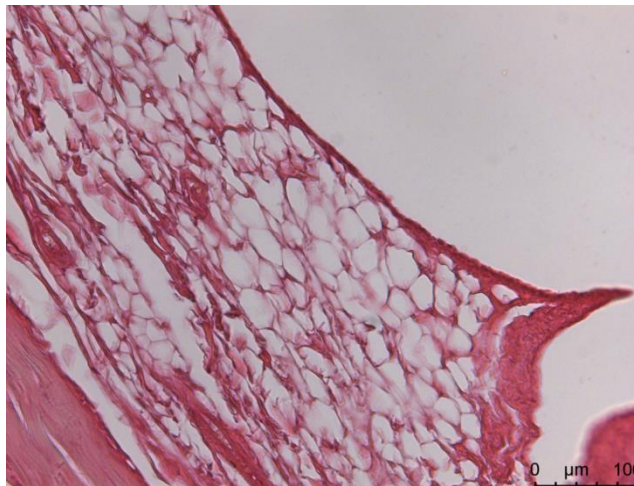


Resim 34. Eklem kıkırdığı yüzeyi düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisinin korunduğu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)

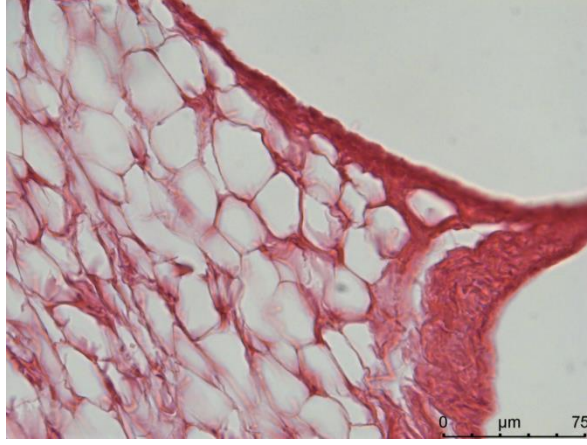
Kontrol grubu diz ekleminde 7. güne ait örneklerde areolar ve adipoz yapıda sinovyum kesitlerinde sinovyumı oluşturan sinovyal hücreler ve altında adipositler, kollajen fibriller, kan damarı kesitleri içeren bağ dokusu gözlemlendi. Sinovyumda hemoraji, ödem ve nötrofil infiltrasyonu gözlenmedi (Resim 35-39). Sinovyal hiperplazi izlenmedi (Resim 37). Eklem kıkırdığı yüzeyleri düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuştu.



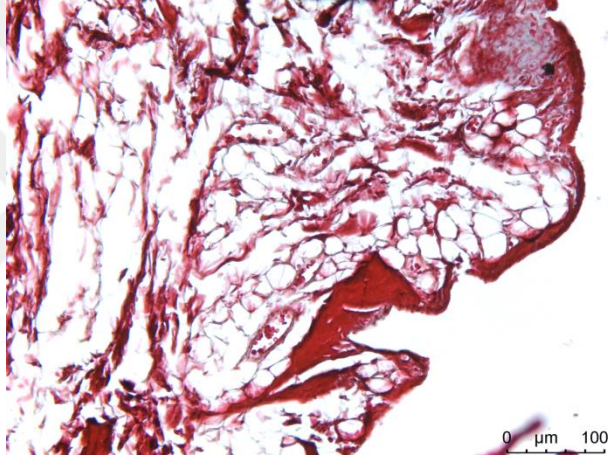
Resim 35. Kontrol grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X10)



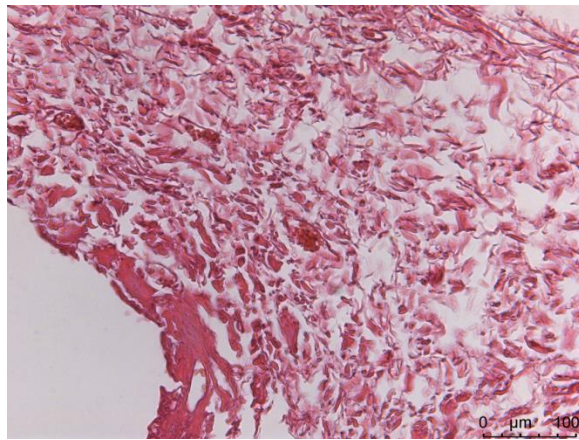
Resim 36. Kontrol grubu diz eklemi 7. güne ait örneğin daha büyük büyütmesinde sinovyal hücreler, altında kollajen fibriller ve adipositlerden oluşan adipöz sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)



Resim 37. Kontrol grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte yassı çekirdekleri ile sinoviositler izlenmektedir. Sinoviyosit hiperplazisi izlenmemektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

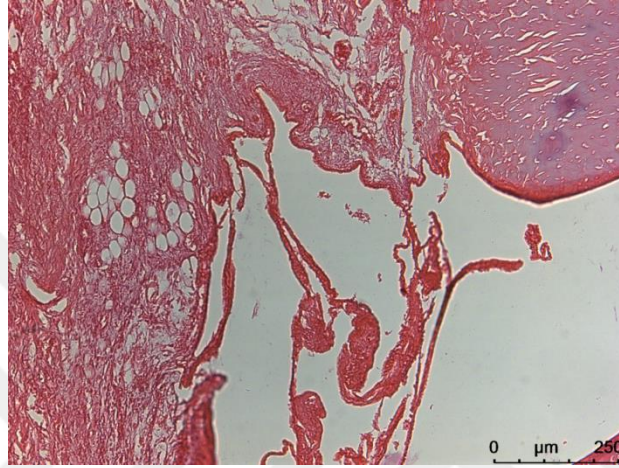


Resim 38. Kontrol grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte normal histolojik yapıda sinovyum izlenmektedir. (Masson'un trikromu X20)

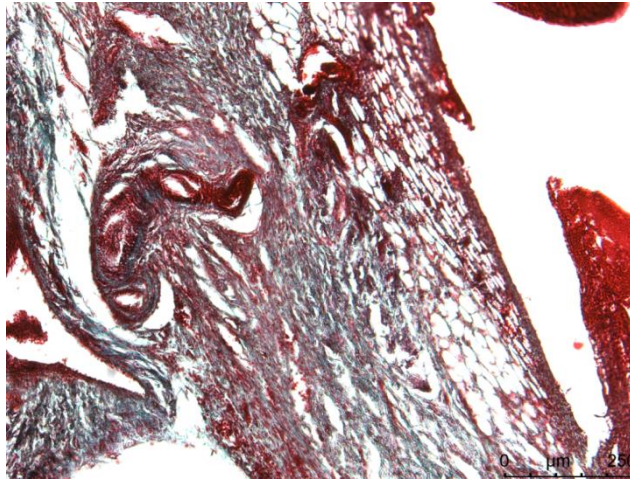


Resim 39. Kontrol grubu diz eklemi 7. güne ait örneğin farklı bir seviyeden geçen kesitinde sinovyal hücreler ve altında kollajen fibrillerden yoğun bağ dokusu izlenmektedir. Ödem, hemoraji, lökosit infiltrasyonu izlenmemektedir. (Hematoksilen-eosin X20)

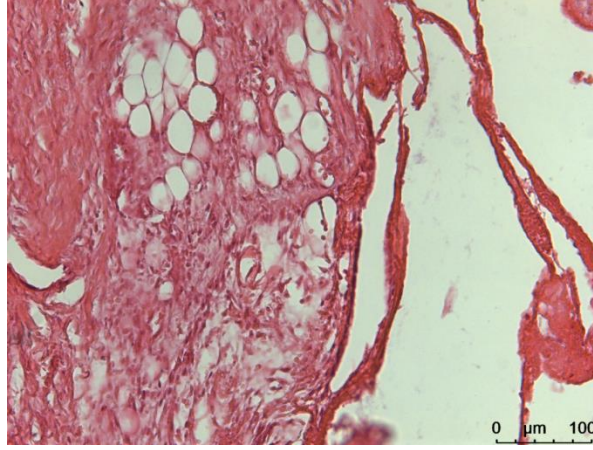
Çalışma grubu diz ekleminde 7. güne ait örneklerde sinovyumda minimal ödem, damarlarda minimal konjesyon ve damar çevresinde minimal nötrofil infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 40-44). Sinovyumda minimal lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu izlendi (Resim 45). Sinovyosit hiperplazisi gözlemlenmedi. Eklem kıkırdığı yüzeyleri düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuştu (Resim 46).



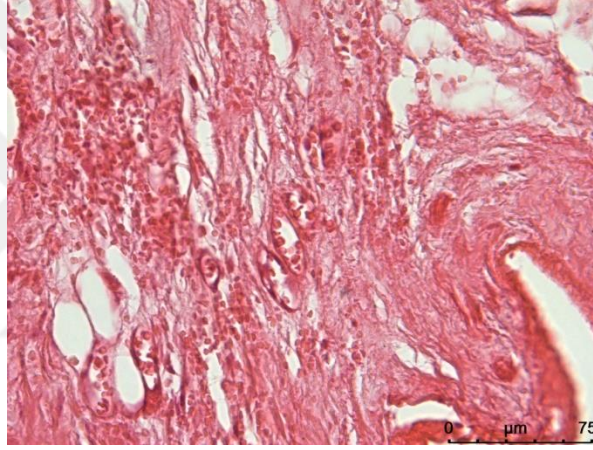
Resim 40. Çalışma grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X10)



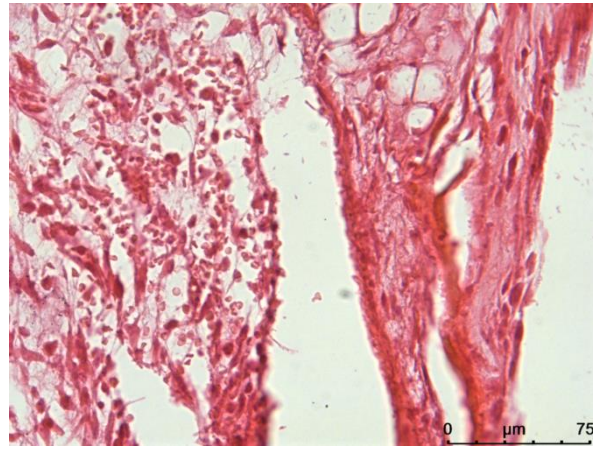
Resim 41. Çalışma grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyumda kollajen fibriller izlenmektedir. (Masson'un trikromu X10)



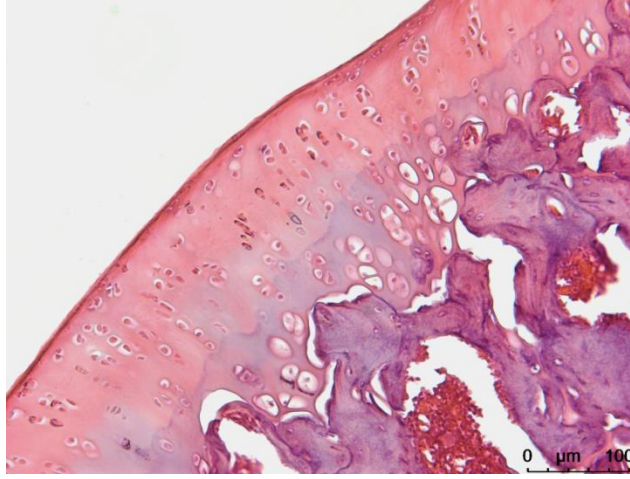
Resim 42. Çalışma grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyumda sinoviyosit hiperplazisi izlenmemektedir. (Hematoksilen-eosin X20)



Resim 43. Çalışma grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyumda nötrofil infiltrasyonu ve damarlarda konjesyon izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

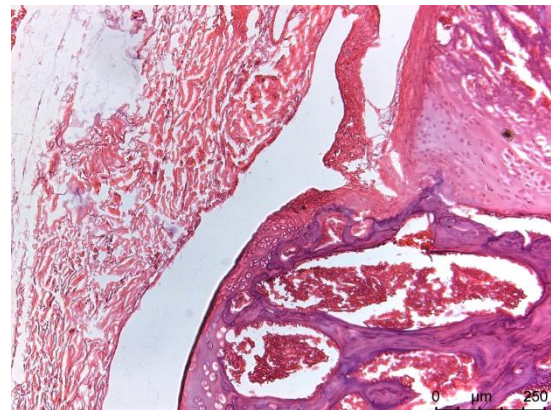
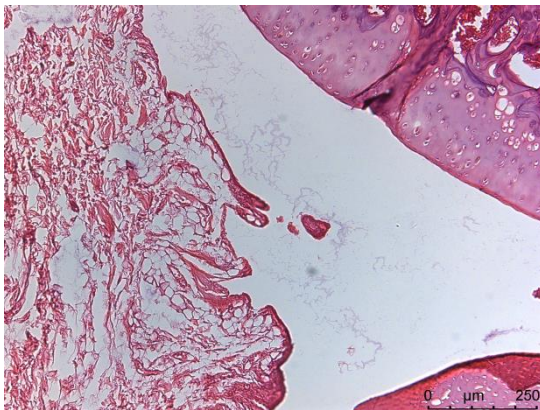


Resim 44. Çalışma grubu diz eklemi 7. güne ait örnekte sinovyumda makrofaj infiltrasyonu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

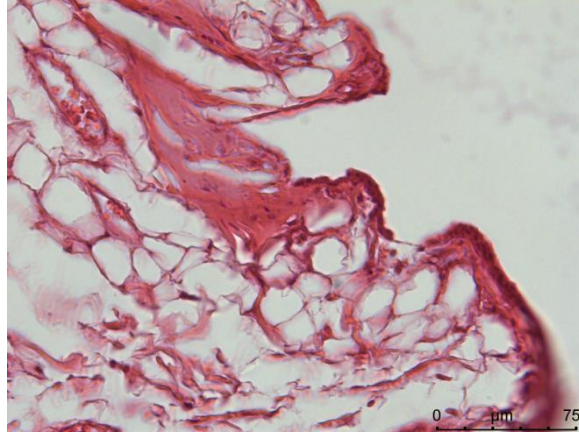


Resim 45. Eklem kıkırdığı yüzeyi düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisinin korunduğu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)

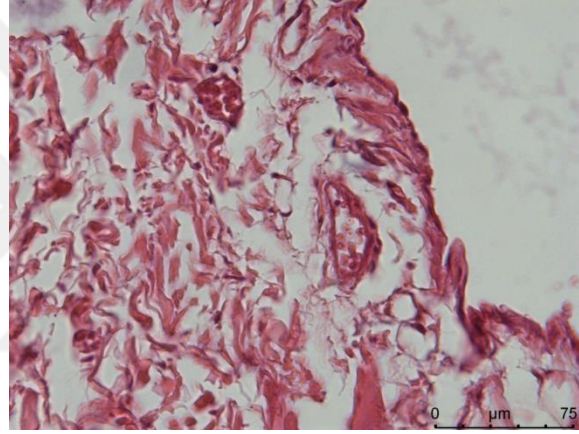
Kontrol grubu diz eklemine 14. güne ait örneklerin kesitlerinde areolar ve adipöz özellik gösteren sinovyum izlendi. Sinovyumda hemoraji, ödem ve nötrofil infiltrasyonu gözlenmedi (Resim 46-50). Sinovyosit hiperplazisi izlenmedi. Eklem kıkırdığı yüzeyleri düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuştu (Resim 51).



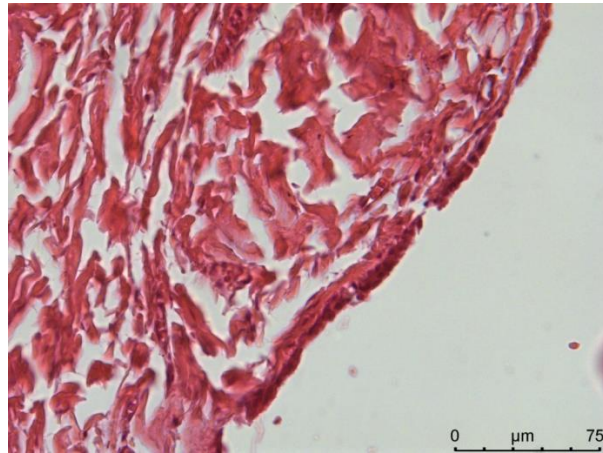
Resim 46. Kontrol grubu diz eklemine 14. güne ait örnekte adipöz ve areolar yapıda sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X10)



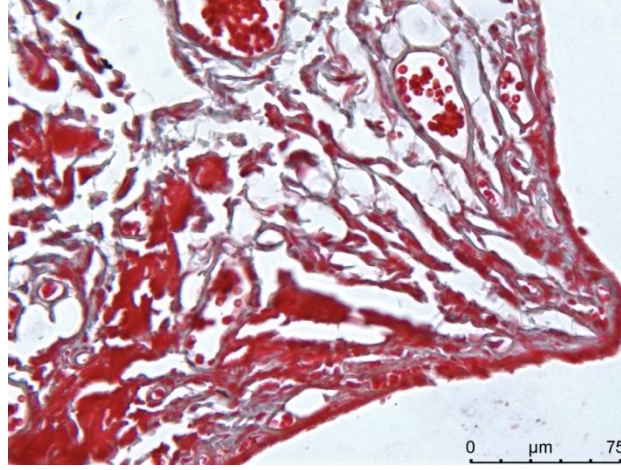
Resim 47. Kontrol grubu diz ekleminde 14. güne ait örneğin büyük büyütmesinde sinoviyosit hiperplazisi izlenmemektedir. (Hematoksilen-eosin X40)



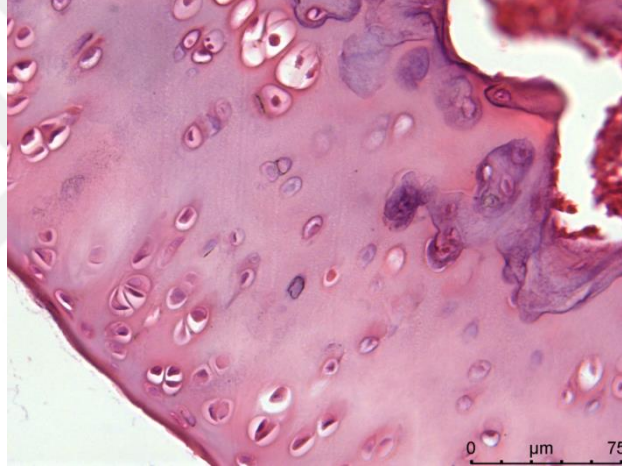
Resim 48. Kontrol grubu diz ekleminde 14. güne ait örneğin büyük büyütmesinde sinoviyosit hiperplazisi ve sinoviyumda hücre infiltrasyonu izlenmemektedir. (Hematoksilen-eosin X40)



Resim 49. Sinoviyumda ödem, hücre infiltrasyonu izlenmemektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

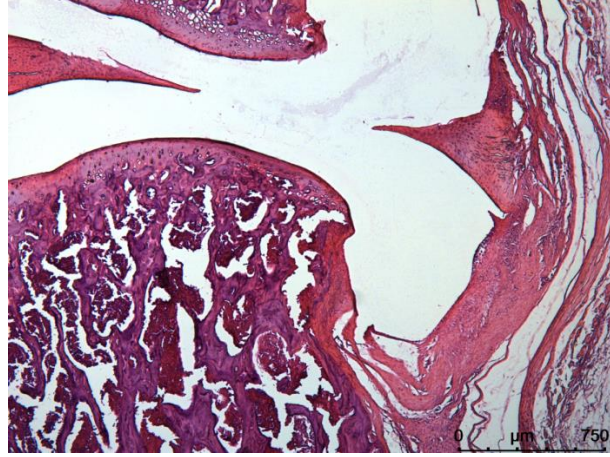


Resim 50. Sinovyumda yer alan kollagen fibriller ve aralarında damar kesitleri izlenmektedir. (Masson'un trikromu X40)

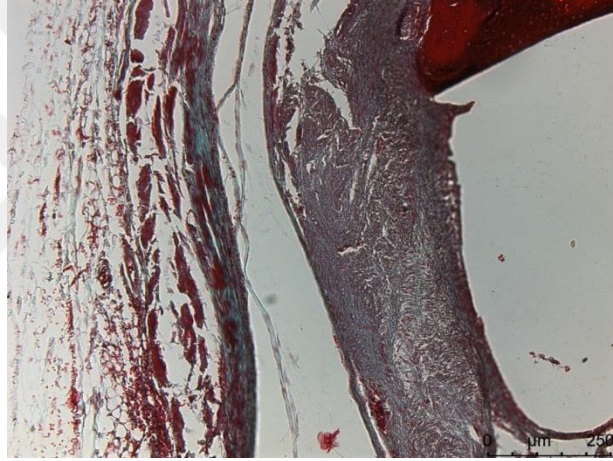


Resim 51. Eklem kıkırdığı yüzeyi düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

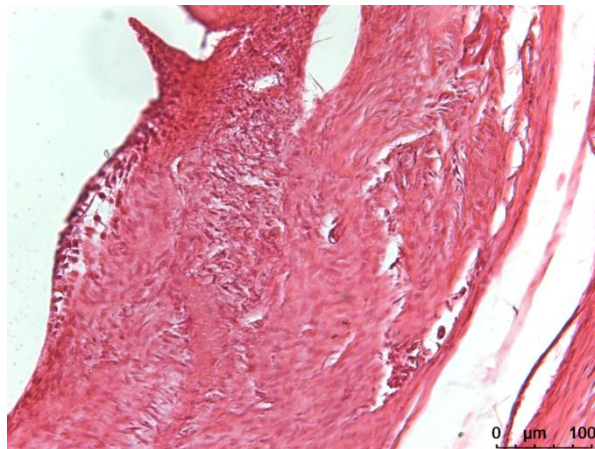
Çalışma grubu diz eklemінде 14. güne ait örneklerde sinovyumda minimal ödem, damarlarda minimal konjesyon ve damar çevresinde minimal nötrofil infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 52- 54). Sinovyumda minimal makrofaj infiltrasyonu izlendi (Resim 54). Sinovyosit hiperplazisi gözlemlenmedi. Eklem kıkırdığı yüzeyleri düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuştu (Resim 55).



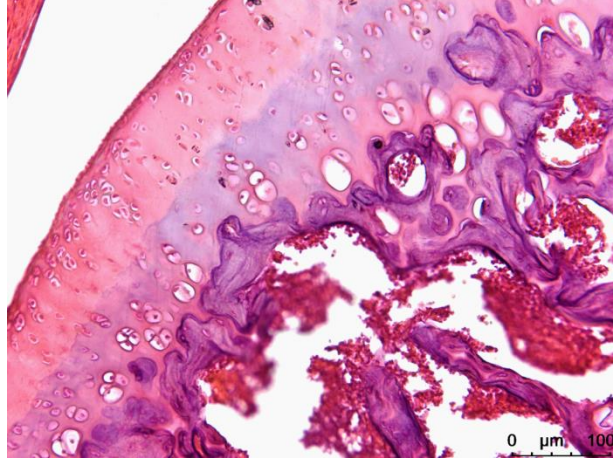
Resim 52. Çalışma grubu diz eklemi 14. güne ait örnekte eklem yüzeyi, menisküs ve sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X4)



Resim 53. Çalışma grubu diz eklemi 14. güne ait örnekte kollajen fibrillerden zengin fibröz yapıda sinovyum izlenmektedir. (Masson'un trikromu X10)

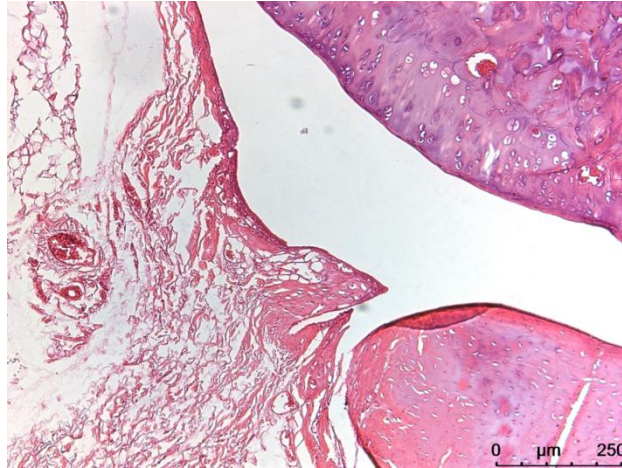


Resim 54. Çalışma grubu diz eklemi 14. güne ait örnekte sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)

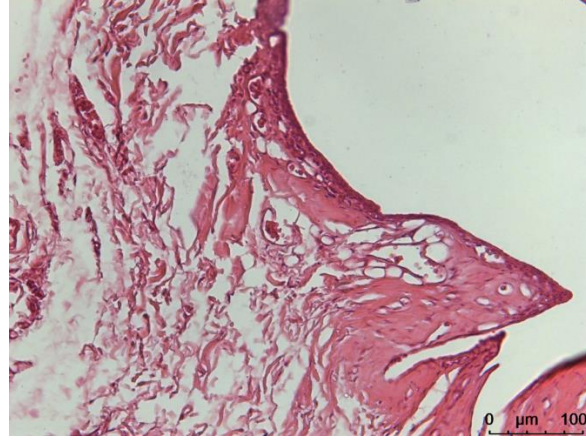


Resim 55. Eklem kıkırdığı yüzeyi düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisinin korunduğu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)

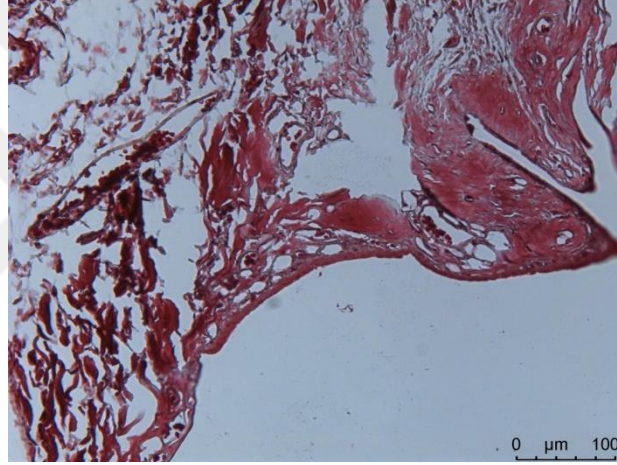
Kontrol grubu diz eklemine 21. güne ait örneklerde areolar ve adipöz özellik gösteren sinovyum izlendi. Sinovyumda hemoraji, ödem ve nötrofil infiltrasyonu gözlenmedi (Resim 56-60) İki sıralı yapısı ile sinovyal hücre hiperplazisi izlenmedi. Eklem kıkırdığı yüzeyleri düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuştu (Resim 61).



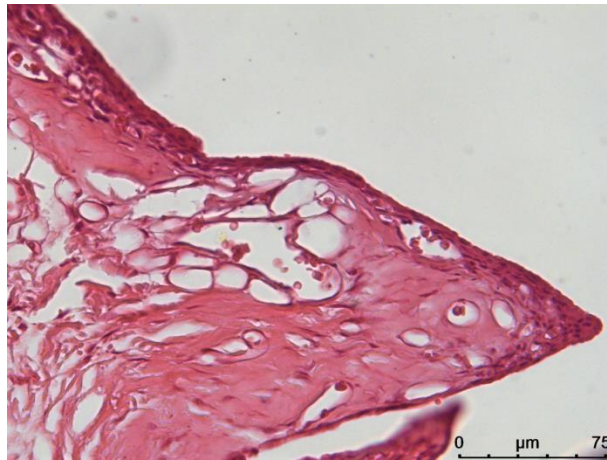
Resim 56. Kontrol grubu diz eklemine 21. güne ait örnekte sinovyum, komşuluğunda menisküs ve eklem aralığı izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X10)



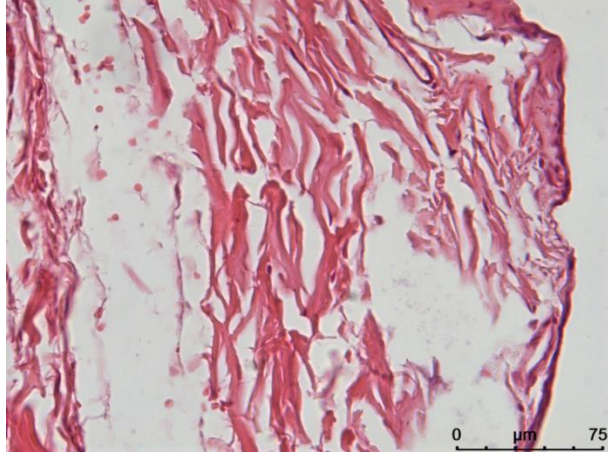
Resim 57. Kontrol grubu diz ekleminde 21. güne ait örnekte sinovyumda ödem, konjesyon ve nötrofil infiltrasyonu izlenmemektedir. (Hematoksilen-eosin X20)



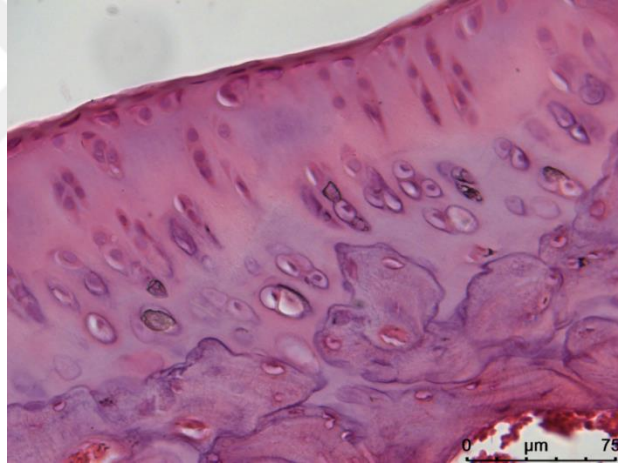
Resim 58. Kontrol grubu diz ekleminde 21. güne ait örnekte sinovyumda fibrozis izlenmemektedir. (Masson'un trikromu X20)



Resim 59. Kontrol grubu diz ekleminde 21. güne ait örneğin büyük büyütmesinde sinovyal hücre hiperplazisi izlenmemektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

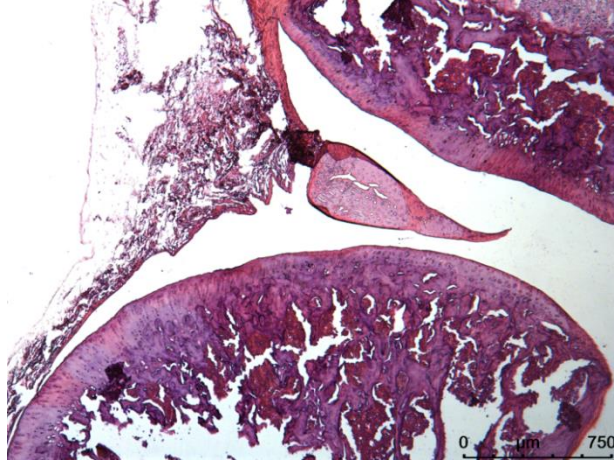


Resim 60. Kontrol grubu diz eklemine 21. güne ait örneğin büyük büyütmesinde yer yer tek sıra dizilmiş hücrelerden oluşan sinovyum ve altında kollajen fibriller izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

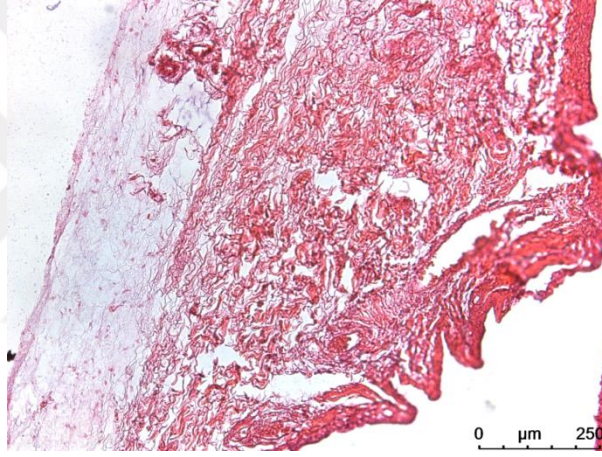


Resim 61. Eklem kıkırdığı yüzeyi düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisinin korunduğu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)

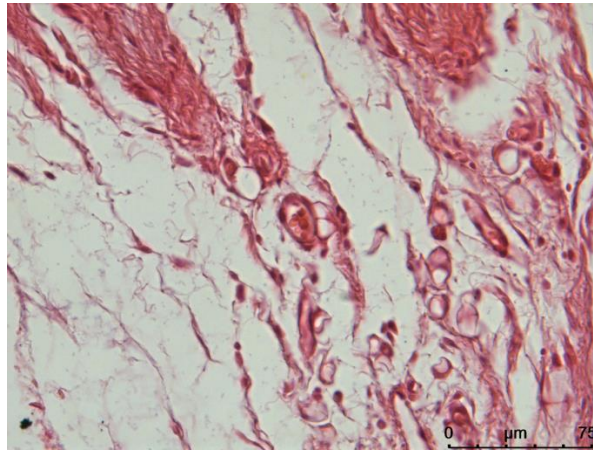
Çalışma grubu diz eklemine 21. güne ait örneklerde sinovyumda minimal ödem, damarlarda minimal konjesyon gözlemlendi. Nötrofil infiltrasyonu gözlemlenmedi (Resim 62-65). Sinovyumda minimal lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu izlendi (Resim 64). Sinovyosit hiperplazisi gözlemlenmedi. Eklem kıkırdığı yüzeyleri düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisi korunmuştu (Resim 66).



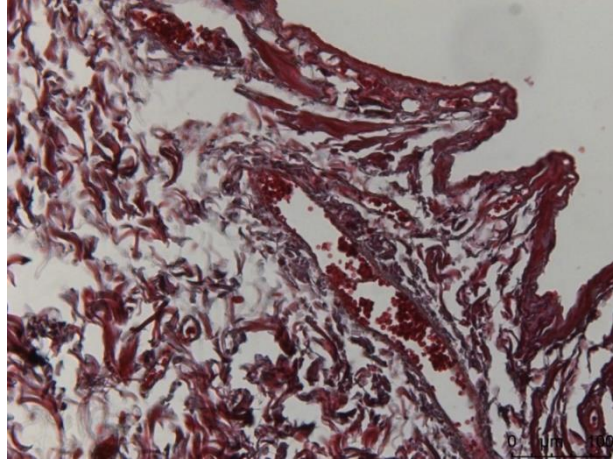
Resim 62. Çalışma grubu diz eklemi 21. güne ait örnekte sinovyum, menisküs ve eklem aralığı izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X4)



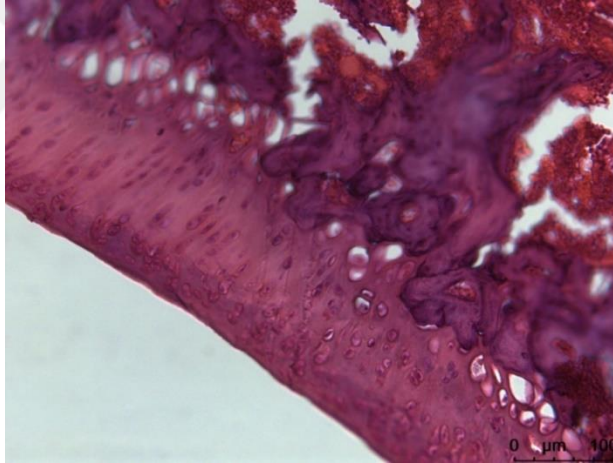
Resim 63. Çalışma grubu diz eklemi 21. güne ait örnekte sinovyum izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X10)



Resim 64. Çalışma grubu diz eklemi 21. güne ait örnekte sinovyumda minimal makrofaj infiltrasyonu ve damarlarda minimal konjesyon izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X40)



Resim 65. Çalışma grubu diz eklemi 21. güne ait örnekte sinovyumda kollajen fibriller izlenmektedir. (Masson'un trikromu X20)



Resim 66. Eklem kıkırdığı yüzeyi düzgün, kıkırdak hücreleri normal yapıda ve tidemark çizgisinin korunduğu izlenmektedir. (Hematoksilen-eosin X20)

Tablo 2. Kontrol grubu diz eklemi, histopatolojik skorlama

Sakrifikasyon günleri	Ratlar	Histopatolojik skorlama					
		Konjesyon	Ödem	Nötrofil İnfiltrasyonu	Kronik İnflamasyon	Sinovyosit Hiperplazisi	Subintimal Fibrozis
1	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	1	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0
	mean	0	0	0,25	0	0	0
2	5	0	2	3	0	0	0
	6	0	1	1	0	0	0
	7	0	1	0	0	0	0
	8	0	1	1	1	0	0
	mean	0	1,25	1,25	0,25	0	0
7	9	0	1	1	1	0	0
	10	0	0	0	0	0	0
	11	1	0	0	2	0	0
	12	0	1	0	0	0	0
	mean	0,25	0,5	0,25	0,75	0	0
14	13	0	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	0	0	0
	15	0	0	0	0	0	0
	16	0	0	0	0	0	0
	mean	0	0	0	0	0	0
21	17	0	0	0	1	0	0
	18	0	0	0	0	0	0
	19	0	0	0	0	0	0
	20	0	1	0	0	0	0
	mean	0	0,25	0	0,25	0	0

Tablo 3. Çalışma grubu diz eklemi, histopatolojik skora

Sakrifikasyon günleri	Ratlar	Histopatolojik skora					
		Konjesyon	Ödem	Nötrofil İnfiltrasyonu	Kronik İnflamasyon	Sinoviyosit Hiperplazisi	Subintimal Fibrozis
1	1	3	2	3	0	0	0
	2	3	1	3	0	0	0
	3	3	2	3	0	0	0
	4	3	2	3	0	0	0
	mean	3	1,75	3	0	0	0
2	5	2	1	2	0	0	0
	6	2	2	2	0	0	0
	7	2	2	3	0	0	0
	8	3	2	3	0	0	0
	mean	2,25	1,75	2,5	0	0	0
7	9	1	1	1	1	0	0
	10	2	1	2	2	0	0
	11	1	1	1	1	0	0
	12	1	1	1	1	0	0
	mean	1,25	1	1,25	1,25	0	0
14	13	0	0	1	1	0	0
	14	0	0	1	1	0	0
	15	1	1	1	1	0	0
	16	1	1	1	2	0	0
	mean	0,5	0,5	1	1,25	0	0
21	17	1	1	0	0	0	0
	18	1	1	0	1	0	0
	19	1	0	0	1	0	0
	20	1	1	0	1	0	0
	mean	1	0,75	0	0,75	0	0

1. ve 21. günde sakrifiye edilen gruplar içerisinde kontrol grubuna göre çalışma grubunda konjesyon skorları anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.046$). 2, 7 ve 14. günlerde sakrifiye edilen ratlarda ise kontrol ve çalışma grupları arasında konjesyon skorları açısından anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$). Sakrifikasyon günleri arasında kontrol grubunda konjesyon skorları yönünden anlamlı fark görülmedi ($p=0.406$). Buna karşın sakrifikasyon günlerine göre çalışma grubunda konjesyon skorlarında anlamlı değişim olup ($p=0.002$) söz konusu farka neden olan durum 1. güne göre sırasıyla; 7, 14 ve 21. günlerdeki konjesyon skorlarının daha düşük olması idi ($p=0.029$). Benzer şekilde 2. güne göre sırasıyla; 14 ve 21. günlerdeki konjesyon skorları da daha düşük idi ($p=0.029$). Diğer sakrifikasyon günleri arasında konjesyon skorları açısından anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$).

1, 2, 7, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilen gruplarda ödem skorları açısından kontrol ve çalışma grupları arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Sakrifikasyon günlerine göre kontrol grubunda ödem skorlarında anlamlı değişim olup ($p=0.016$) söz konusu farka neden olan durum 2. güne göre sırasıyla; 1, 14 ve 21. günlerdeki ödem skorlarının daha düşük olması idi ($p=0.029$). Sakrifikasyon günlerine göre çalışma grubunda ödem skorlarında da anlamlı değişim olup ($p=0.017$) söz konusu farka neden olan durum 1 ve 2. güne göre sırasıyla; 14 ve 21. günlerdeki ödem skorlarının daha düşük olması idi ($p=0.029$). Diğer sakrifikasyon günlerinin birbirleri arasında ödem skorları yönünden anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$).

1, 2, 7 ve 21. günlerde sakrifiye edilen ratlarda nötrofil infiltrasyonu skorları açısından kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Buna karşın 14. günde sakrifiye edilen grup içerisinde kontrol grubuna göre çalışma grubunda nötrofil infiltrasyonu skorları anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.046$). Sakrifikasyon günleri arasında kontrol grubunda nötrofil infiltrasyonu skorları yönünden anlamlı fark görülmedi ($p=0.091$). Buna karşın sakrifikasyon günlerine göre çalışma grubunda nötrofil infiltrasyonu skorlarında anlamlı değişim olup ($p<0.001$) söz konusu farka neden olan durum 1. güne göre sırasıyla; 7, 14 ve 21. günlerdeki nötrofil infiltrasyonu skorlarının daha düşük olması idi ($p=0.029$). Benzer şekilde 2.güne göre sırasıyla; 14 ve 21. günlerdeki nötrofil infiltrasyonu skorları da daha düşük idi ($p=0.029$). Ayrıca, 7 ve 14. güne göre 21. gündeki nötrofil infiltrasyonu skoru da daha düşük idi ($p=0.029$). Diğer sakrifikasyon günlerinin birbirleri arasında nötrofil infiltrasyonu skorları yönünden anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$).

1, 2, 7, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilen gruplar içerisinde kronik inflamasyon skorları açısından kontrol ve çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Sakrifikasyon günleri arasında kontrol grubunda kronik inflamasyon skorları yönünden anlamlı fark görülmedi ($p=0.350$). Buna karşın sakrifikasyon günlerine göre çalışma grubunda kronik inflamasyon skorlarında anlamlı değişim olup ($p=0.004$) söz konusu farka neden olan durum 1. güne göre sırasıyla; 7 ve 21. günlerdeki kronik inflamasyon skorlarının daha yüksek olması idi ($p=0.029$). Benzer şekilde 2. güne göre sırasıyla; 7 ve 14. günlerdeki kronik inflamasyon skorları da daha yüksek idi ($p=0.029$). Diğer sakrifikasyon

günlerinin birbirleri arasında kronik inflamasyon skorları yönünden anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$).

Deneklerin tümünün sırasıyla; sinoviyosit hiperplazisi ve subintimal fibrozis skorları 0 (sıfır) olduğundan gerek sakrifikasyon günleri arasında gerekse sağ ve sol taraf arasında sinoviyosit hiperplazisi ve subintimal fibrozis skorları yönünden istatistiksel olarak kıyaslama yapılmadı (Tablo 4).



Tablo 4. Kontrol ve çalışma grupları, histopatolojik değerlendirme, istatistiksel analizi

	Kontrol Grubu	Çalışma grubu	p-değeri †
Konjesyon			
1. Gün	0 (0-0)	3 (3-3) ^{a,b,c}	0.046
2. Gün	0 (0-0)	2 (2-2.75) ^{d,e}	0.059
7. Gün	0 (0-0.75)	1 (1-1.75) ^a	0.102
14. Gün	0 (0-0)	0.5 (0-1) ^{b,d}	0.157
21. Gün	0 (0-0)	1 (1-1) ^{c,e}	0.046
p-değeri ‡	0.406	0.002	
Ödem			
1. Gün	0 (0-0) ^f	2 (1.25-2) ^{b,c}	0.059
2. Gün	1 (1-1.75) ^{d,e,f}	2 (1.25-2) ^{d,e}	0.317
7. Gün	0.5 (0-1)	1 (1-1)	0.157
14. Gün	0 (0-0) ^d	0.5 (0-1) ^{b,d}	0.157
21. Gün	0 (0-0.75) ^e	1 (0.25-1) ^{c,e}	0.157
p-değeri ‡	0.016	0.017	
Nötrofil infiltrasyonu			
1. Gün	0 (0-0.75)	3 (3-3) ^{a,b,c}	0.059
2. Gün	1 (0.25-2.5)	2.5 (2-3) ^{d,e}	0.197
7. Gün	0 (0-0.75)	1 (1-1.75) ^{a,g}	0.102
14. Gün	0 (0-0)	1 (1-1) ^{b,d,h}	0.046
21. Gün	0 (0-0)	0 (0-0) ^{c,e,g,h}	0.999
p-değeri ‡	0.091	<0.001	
Kronik inflamasyon			
1. Gün	0 (0-0)	0 (0-0) ^{a,b}	0.999
2. Gün	0 (0-0.75)	0 (0-0) ^{d,i}	0.317
7. Gün	0.5 (0-1.75)	1 (1-1.75) ^{a,i}	0.414
14. Gün	0 (0-0)	1 (1-1.75) ^{b,d}	0.059
21. Gün	0 (0-0.75)	1 (0.25-1)	0.317
p-değeri ‡	0.350	0.004	

Veriler medyan (%25-%75) olarak gösterilmiştir. Her sakrifikasyon günündeki, sağ ve sol dizler arasındaki karşılaştırmalarda, Wilcoxon Sign Rank test†, sağ ve sol dizlerdeki sakrifikasyon günleri arasındaki karşılaştırmalarda, Kruskal Wallis testi kullanılmıştır‡.

a: 1 ve 7. günler (p<0.05), **b:** 1 ve 14. günler (p<0.05), **c:** 1 ve 21. günler (p<0.05), **d:** 2 ve 14. günler (p<0.05), **e:** 2 ve 21. günler (p<0.05), **f:** 1 ve 2. günler (p<0.05), **g:** 7 ve 21. günler (p<0.05), **h:** 14 ve 21. günler (p<0.05), **i:** 2 ve 7. günler (p<0.05).

1, 2, 7, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilen ratlarda konjesyon skorları açısından kontrol ve çalışma grupları arasında klinik olarak bir takım farklılıklar görülmesine rağmen Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.010$). Gerek kontrol gerekse çalışma grubunda sakrifikasyon günlerine göre konjesyon skorları yönünden klinik olarak bir takım farklılıklar görülmesine rağmen Bonferroni Düzeltmesine göre 1, 2, 7, 14 ve 21. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.0025$).

1, 2, 7, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilen gruplar içerisinde ödem skorları açısından kontrol ve çalışma grupları arasında klinik olarak bir takım farklılıklar görülmesine rağmen Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.010$). Gerek kontrol gerekse çalışma grubunda sakrifikasyon günlerine göre ödem skorları yönünden klinik olarak bir takım farklılıklar görülmesine rağmen Bonferroni Düzeltmesine göre günler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.0025$).

1, 2, 7, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilen gruplar içerisinde nötrofil infiltrasyonu skorları açısından kontrol ve çalışma grupları arasında klinik olarak farklılıklar görülmesine rağmen Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.010$). Gerek kontrol gerekse çalışma grubunda sakrifikasyon günlerine göre nötrofil infiltrasyonu skorları yönünden klinik olarak bir takım farklılıklar görülmesine rağmen Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.0025$).

1, 2, 7, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilen gruplar içerisinde kronik inflamasyon skorları açısından kontrol ve çalışma grupları arasında klinik olarak bir takım farklılıklar görülmesine rağmen Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.010$). Gerek kontrol gerekse çalışma grubunda sakrifikasyon günlerine göre kronik inflamasyon skorları yönünden klinik olarak bir takım farklılıklar görülmesine rağmen Bonferroni Düzeltmesine göre 1, 2, 7, 14 ve 21. günler arasında Bonferroni Düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.0025$).

Gruplara düşen denek sayılarının kısmen yetersiz oluşu, çok fazla sayıda alt grup ve ikili (çoklu) karşılaştırma yapıyor olmamız ve Tip I hatayı kontrol altına alabilmek için Bonferroni Düzeltmesine başvurmuş olmamızdan ötürü klinik olarak önemli olabilecek bazı potansiyel farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 5).

Mevcut sonuçların geçerliği açısından Bonferroni Düzeltmeli sonuçların dikkate alınması istatistiksel olarak daha uygundur.

Tablo 5. Kontrol ve çalışma grupları, histopatolojik değerlendirme, Bonferroni düzeltmeli istatistiksel analizi

	Konjesyon		Ödem		Nötrofil infiltrasyonu		Kronik inflamasyon	
	Kontrol grubu	Çalışma grubu	Kontrol grubu	Çalışma grubu	Kontrol grubu	Çalışma grubu	Kontrol grubu	Çalışma grubu
1. Gün	0 (0-0) ^{A,a}	3 (3-3) ^{A,a}	0 (0-0) ^{A,a}	2 (1.25-2) ^{A,a}	0 (0-0.75) ^{A,a}	3 (3-3) ^{A,a}	0 (0-0) ^{A,a}	0 (0-0) ^{A,a}
2. Gün	0 (0-0) ^{A,a}	2 (2-2.75) ^{A,a}	1 (1-1.75) ^{A,a}	2 (1.25-2) ^{A,a}	1 (0.25-2.5) ^{A,a}	2.5 (2-3) ^{A,a}	0 (0-0.75) ^{A,a}	0 (0-0) ^{A,a}
7. Gün	0 (0-0.75) ^{A,a}	1 (1-1.75) ^{A,a}	0.5 (0-1) ^{A,a}	1 (1-1) ^{A,a}	0 (0-0.75) ^{A,a}	1 (1-1.75) ^{A,a}	0.5 (0-1.75) ^{A,a}	1 (1-1.75) ^{A,a}
14. Gün	0 (0-0) ^{A,a}	0.5 (0-1) ^{A,a}	0 (0-0) ^{A,a}	0.5 (0-1) ^{A,a}	0 (0-0) ^{A,a}	1 (1-1) ^{A,a}	0 (0-0) ^{A,a}	1 (1-1.75) ^{A,a}
21. Gün	0 (0-0) ^{A,a}	1 (1-1) ^{A,a}	0 (0-0.75) ^{A,a}	1 (0.25-1) ^{A,a}	0 (0-0) ^{A,a}	0 (0-0) ^{A,a}	0 (0-0.75) ^{A,a}	1 (0.25-1) ^{A,a}

Veriler medyan (%25-%75) olarak gösterilmiştir. Her sütun içindeki aynı büyük harfler, Bonferroni Düzeltmesine göre, sakrifikasyon günleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (p>0.0025). Her satırdaki aynı küçük harfler, Bonferroni Düzeltmesine göre sol ve sağ dizler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0.010).

5. TARTIŞMA

Artroskopik diz cerrahisinde, intraoperatif ve postoperatif analjezi sağlamak amacıyla, intraartiküler ilaç enjeksiyonları oldukça yaygındır. Doz miktarında azalma, sistemik yan etkilerin azalması, opioid ihtiyacında azalma ve uygulama kolaylığı bu yöntemin avantajları arasında yer alır (96). Bu amaçla sıklıkla kullanılan ilaçlar lokal anestezikler, NSAİ ilaçlar ve opioidlerdir. Bu ilaçların intraartiküler kullanımına dair çok sayıda çalışma mevcuttur (1, 15, 16, 22, 33-36, 39). Ancak literatürde, bu ilaçların intraartiküler kullanımına bağlı oluşan histopatolojik etkileri inceleyen az sayıda çalışma vardır (11-13, 23, 24, 83-96).

Intraartiküler enjeksiyonlarda en sık kullanılan lokal anesteziklerin etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, eklemlerde kondrolize yol açtığına dair bulgular elde edilmiştir. Bupivakain, lidokain, ropivakain kullanımının, ağrı pompası gibi yöntemlerle uzun süre kullanımının kondrolize yol açtığı in vitro insan kıkırdak dokusu ile yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (10). Tek doz bupivakain uygulamalarında ise kıkırdak dokusunda kayıp ve kondrosit ölümü gibi geç dönem etkiler de hayvan modellerinde gösterilmiştir (10). Piper ve arkadaşları tarafından yapılan in vitro insan çalışmasında, ropivakain ve bupivakainin kıkırdak dokusu üzerindeki etkileri araştırılmış ve SF ile karşılaştırılmıştır. Hem hücre kültürü hem de kıkırdak dokusunda bupivakainin toksik etkileri bulunmuştur (94). Jacobs ve arkadaşları lidokain ile yaptıkları in vitro çalışmada, lidokainin insan kıkırdak hücreleri üzerinde doz ve süre bağımlı sitotoksik etkileri olduğunu bulmuştur (96). Yine aynı çalışmada epinefrin ile kombinasyonun kondrosit koruyucu etkileri olabileceği belirtilmiştir. Dragoo ve arkadaşlarının insan kondrosit kültürleri üzerinde yaptığı in vitro bir çalışmada ise lidokainin sitotoksik etkileri gözlenirken, bupivakain ve ropivakain güvenli bulunmuştur (101). Lokal anesteziklerin uzun dönem toksik etkilerinin, sebep oldukları mitokondri hasarı sebebiyle ve doz bağımlı olduğu ise yine bazı çalışmalarda gösterilmiştir (97-100). Eklem yüzeyinin korunduğu ve hasarlandığı grupları karşılaştıran bir çalışmada, intakt eklem yüzeyinin kıkırdak dokusu üzerinde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (89).

Chu ve arkadaşları tarafından %0,5 bupivakain kullanılarak yapılan bir rat çalışmasında, enjeksiyondan 6 ay sonraki incelemede, bupivakain kullanılan diz eklemlerinde, SF kullanılan kontrol grubuna göre kondrosit yoğunluğunda %50 azalma görülmüştür (11). Yine Chu ve arkadaşları tarafından in vitro sığır kondrositleri ile yapılan bir çalışmada, bupivakain kullanılan örneklerin %99'unda kondrosit ölümü/apoptozu görülmüştür (89).

Doğan ve arkadaşları tarafından yapılan bir tavşan çalışmasında, SF, bupivakain ve neostigmin karşılaştırılmış; neostigminin daha fazla olmak üzere bupivakain ve neostigminin eklem kıkırdağı ve sinoviyumda inflamasyon, sinovyal hiperplazi ve hipertrofiye yol açtığı görülmüştür (12).

Gomoll ve arkadaşları tarafından yapılan bir tavşan çalışmasında, bupivakainin omuz eklemi üzerindeki histopatolojik etkileri araştırılmış ve prostoglandin aktivitesi incelenmiştir. Enjeksiyondan 3 ay sonra sakrifiye edilen eklemlerde, SF grubu ile karşılaştırıldığında kıkırdak

dokusunda herhangi bir farklılık görülmezken bupivakain grubunda prostoglandin düzeyinde yükseklik saptanmıştır. Çalışmada, kıkırdak dokusunun bupivakainden gördüğü zararı onarabildiği sonucuna varılmıştır (12).

Levobupivakain ile yapılan iki hayvan çalışmasında, eklem dokusu üzerinde SF ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Ancak Erden ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, daha fazla denek ile benzer çalışmaların tekrarlanması gerektiği, Kürkçüoğlu ve arkadaşlarının çalışmasında ise zamanla azalan düzeylerde inflamasyon ve fibrozis görüldüğü vurgulanmıştır (95, 24).

Intraartiküler kullanıma bağlı etkileri incelenen ilaçlar arasında NSAİ ilaçlar da yer alır. Fjui ve arkadaşlarının kondrosit kültürü ile yaptığı çalışmada indometazin, asetil salisilik asit ve tiaprofenik asidin kıkırdak dokusu sentezi üzerinde farklı etkileri gösterilmiştir (83). David ve arkadaşlarının osteoartritli kıkırdak dokusu üzerinde in vitro yaptığı çalışmada, farklı NSAİ ilaçların kıkırdak dokusu üzerindeki etkileri gösterilmiş, ibuprofenin, kıkırdak dokusu sentez enzimleri üzerine etkisi bulunmamıştır (84). Romsing ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise NSAİ ilaçların intraartiküler, lokal veya intravenöz rejyonel anestezi kullanımı ile sistemik kullanımı ve plasebo karşılaştırılmıştır (85). NSAİ ilaçlar lokal uygulamalarda daha etkin bulunmuştur.

Hafif ve orta dereceli ağrılarda endike olan ibuprofen, diğer NSAİ ilaçlar gibi COX-1 ve 2 enzimlerini inhibe ederek araşidonik asitten prostoglandin sentezini engeller. Bu sayede hem inflamatuvar mekanizmaların ortaya çıkmasını engellerken hem de ağrıya sebep olan mediyatörlerin sentezini engeller (92).

İbuprofen, hem ülkemizde, hem de diğer ülkelerde intraartiküler kullanım için ruhsatlandırılmamıştır. Uzun zamandır oral formlarıyla kullanımda olan ibuprofen, 2009 yılında ABD’de, 2015 yılında ise Türkiye’de intarevenöz kullanım için çözeltisi ruhsatlandırılarak kullanıma sunulmuştur. Birçok NSAİ ilacın, intraartiküler etkisini araştıran hayvan çalışmaları mevcutken, ibuprofenin eklemler üzerinde toksikolojik etkisini inceleyen çalışma yoktur. Bu nedenle çalışmamızda, ibuprofenin, intraartiküler kullanımının, diz eklemi üzerindeki histopatolojik etkileri değerlendirilmiştir.

Özyuvacı ve arkadaşları tarafından yapılan 50 ratın dahil edildiği bir araştırmada, intraartiküler olarak tenoksikam uygulanmış ve eşit sayıdaki 5 gruba bölünmüştür (86). 1, 2, 7, 14, 21. günlerde sakrifiye edilen ratların diz eklemlerinde oluşan değişiklikler histopatolojik olarak incelenmiştir. 1 ve 2. günlerde kontrol grubu olarak kullanılan dizlerde her hangi bir patolojiye rastlanmazken tenoksikam uygulanan dizlerde doku kaybı ve ödem tespit edilmiştir. 7, 14 ve 21. günlerde ise her iki grupta incelenen diz örneklerinde bir patolojiye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda da, kontrol grubu olarak kullanılan dizlerde anlamlı patolojik değişiklik bulunmazken; çalışma grubu diz örneklerinde 1, 2. günlerde görülen ve 7, 14, 21. günlerde minimal gözlemlenen ödem ve konjesyon tespit edilmiştir. Ancak istatistiksel olarak bu fark anlamlı kabul edilmemiştir.

Irwin ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, çalışmaya dahil edilen 30 ratın diz eklemine intraartiküler olarak ketorolak enjekte edilmiştir (23). 3 eşit sayıda gruba ayrılan ratlar, 1, 2, 5. günlerde sakrifiye edilerek diz eklemlerindeki histopatolojik inflamatuvar değişiklikler araştırılmıştır. Araştırmada, ketorolak uygulanan çalışma gruplarındaki tüm dizlerde, inflamatuvar bulgular anlamlı olarak daha fazla görülmüştür. İnflamatuvar etki 5. gün sakrifiye edilen rat dizlerinde daha belirgin bulunmuştur. Enjekte edilen ketorolak'ın içerdiği koruyucu maddenin, diz eklemesindeki inflamatuvar etkisinin araştırılması amacıyla 10 rat daha çalışmaya dahil edilmiş ve çalışma grubu dizlerine %10 etanol, kontrol grubuna SF, intraartiküler olarak uygulanmıştır. Sonradan dahil edilen tüm ratlar, ketorolak ile en yoğun inflamasyonun görüldüğü 5. gün sakrifiye edilmiştir. Eklem örneklerinde inflamasyona rastlanmamış ve etanolün inflamasyonun sebebi olmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada ketorolak'ın daha uzun dönem etkileri araştırılmazken bizim çalışmamızda 21 güne kadar devam eden rölatif olarak daha uzun dönem etkiler araştırılmıştır. Çalışmamızın nihai istatistiksel analizinde gruplar arası anlamlı fark bulunmamış ve uygulanan ibuprofenin yardımcı maddeleri ayrıca araştırılmamıştır.

Sarıcaoğlu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, 25 rat kullanılmış ve kontrol grubu diz eklemine intraartiküler olarak lornoksikam uygulanmıştır (87). Beş rattan oluşan gruplar, 1, 2, 7, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilmiştir. 1. güne ait örneklerin birinde konjesyon, ödem ve az sayıda nötrofil görülmüştür. Gruplar arasında inflamatuvar bulgular açısından anlamlı fark bulunmamış ve lornoksikamın, diz eklemi üzerinde anlamlı bir inflamatuvar etkisi olmadığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda da, kontrol grubu örneklerinde inflamatuvar değişiklikler olsa da, örnekler arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Balabanova ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise intraartiküler olarak uygulanan lornoksikamın, insanlar üzerinde etkileri, ultrasonografik olarak araştırılmıştır (90). Romatoid artritli 58 hastaya 3 hafta boyunca haftada tek doz lornoksikam uygulanmıştır. Eklemlerdeki değişiklikler eklem ultrasonografisi ile değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarında sinoviyal membrandaki kalınlaşmada ve eklem boşluğundaki eksuda miktarında azalma olduğu görülmüş, lornoksikamın romatoid artritli eklemlerdeki inflamasyonu azalttığı görülmüştür.

Literatürde, ibuprofenin insanlardaki intraartiküler etkilerini inceleyen bir çalışma bulunmamıştır. Ayrıca NSAİ ilaçların tekrarlayan dozlarının etkilerini histopatolojik olarak inceleyen hayvan çalışmasına da rastlanmamıştır.

Tüm bu çalışmalar ışığında, intraartiküler olarak kullanılan ilaçların eklem dokusu üzerinde farklı histopatolojik etkileri olduğu görülmüştür. Araştırmamızda, ibuprofenin intraartiküler kullanımının mevcut bulgular ışığında güvenli olduğu görülmektedir ancak gruplardaki rat sayısının az olması çalışmanın önemli bir kısıtlılığıdır.

Rat dizleri, insan eklem dokusuna tam olarak karşılık gelmemekte; bu nedenle sonuçlar insanlar üzerinde genellenememektedir. Toksisitenin doz bağımlı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur ancak çalışmamızda aynı doz ve konsantrasyonda ibuprofen

kullanılmıştır. İntakt eklem yüzeyinin koruyucu olabileceği gösterilmiştir; bizim çalışmamızda sağlam dokular üzerinde ibuprofenin histopatolojik etkileri araştırılmıştır. Hasarlı diz yapısında perikondrium bütünlüğü bozulmuş olacak ve intraartiküler yoldan uygulanan herhangi bir ilaç kondrositler üzerine direkt etki gösterebilecektir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda intraartiküler ibuprofen enjeksiyonunun, rat diz eklemine hasara yol açmadığı bulunmuştur. Ancak literatürde, eklem içi enjeksiyonların hasara yol açtığını gösteren çok sayıda çalışmanın bulunması nedeniyle ibuprofenin eklem içi uygulamalarında dikkatli olunmalıdır.

Çalışmamızın sonucunda, ibuprofenin insanlarda intraartiküler olarak kullanımına başlanmadan önce, daha yüksek sayıda hayvan üzerinde, ilacın farklı doz ve konsantrasyonlarının, tekrarlayan dozlarının uygulandığı çalışmalara, hasarlı eklem modelleri içeren çalışmalara, insanlardaki etkinliğini ve güvenliğini inceleyen in vitro çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.



7. KAYNAKLAR

1. Moiniche S, Mikkelsen S, Wetterslev J, Dahl JB. A systematic review intra-articular local anesthesia for postoperative pain relief after arthroscopic knee surgery. *Reg Anesth Pain Med* 1999;24:430-7
2. Al-Metwalli RR, Mowafi HA, Ismail SA, et al. Effect of intra-articular dexmedetomidine on postoperative analgesia after arthroscopic knee surgery. *Br J Anaesth*. 2008 Sep;101(3):395-9.
3. Manuar MB, Majumdar S, Das A, et al. Pain relief after Arthroscopic Knee Surgery: A comparison of intra-articular ropivacaine, fentanyl, and dexmedetomidine: A prospective, double-blinded, randomized controlled study. *Saudi J Anaesth*. 2014 Apr;8(2):233-7.
4. Samoladas EP, Chalidis B, Fotiadis H, Terzidis I, Ntobas T, Koimtzis M. Intra-articular use of ropivacaine for the control of post knee arthroscopy pain. *J Orthop Surg Res* 2006;1:17.
5. Chirwa SS, MacLeod BA, Day B. Intraarticular bupivacaine (Marcaine) after arthroscopic meniscectomy: a randomized double-blind controlled study. *Arthroscopy*. 1989;5(1):33-5.
6. Stein C, Comisel K, Haimerl E, et al. Analgesic effect of intraarticular morphine after arthroscopic knee surgery. *N Engl J Med*. 1991 Oct 17;325(16):1123-6.
7. Varkel V, Volpin G, Ben-David B, et al. Intraarticular fentanyl compared with morphine for pain relief following arthroscopic knee surgery. *Can J Anaesth*. 1999 Sep;46(9):867-71.
8. Alipour M, Tabari M, Faz RF, Makhmalbaf H, Salehi M, Moosavitekye SM. Effect of dexmedetomidine on postoperative pain in knee arthroscopic surgery; a randomized controlled clinical trial. *Arch Bone Jt Surg*. 2014 Mar;2(1):52-6.
9. Gentili M, Juhel A, Bonnet F. Peripheral analgesic effect of intra-articular clonidine. *Pain*. 1996 Mar;64(3):593-6.
10. Piper SL, Kramer JD, Kim HT, Feeley BT. Effects of local anesthetics on articular cartilage. *Am J Sports Med*. 2011 Oct;39(10):2245-53.
11. Chu CR, Coyle CH, Chu CT, et al. In vivo effects of single intra-articular injection of 0.5% bupivacaine on articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am*. 2010;92(3):599-608.

12. Gomoll AH, Yanke AB, Kang RW, et al. Long-term effects of bupivacaine on cartilage in a rabbit shoulder model. *Am J Sports Med.* 2009;37(1):72-77.
13. Dogan N, Erdem AF, Erman Z, Kizilkaya M. The effects of bupivacaine and neostigmine on articular cartilage and synovium in the rabbit knee joint. *J Int Med Res.* 2004;32(5):513-519.
14. Jang Won Parka, Young-Pil Yuna, Kyeongsoon Park b, Jae Yong Leea,c, Hak-Jun Kima, Sung Eun Kima, Hae-Ryong Songa, Ibuprofen-loaded porous microspheres suppressed the progression of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in a rat model, *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2016 Nov 1;147:265-73.
15. Reuben SS, Connelly NR. Postoperative analgesia for outpatient arthroscopic knee surgery with intraarticular bupivacaine and ketorolac. *Anesth Analg* 1995; 80: 1154–1157.
16. Davies NM. Clinical pharmacokinetics of ibuprofen. The first 30 years. *Clin Pharmacokinet.* 1998 Feb;34(2):101-54.
17. Elhakim M, Fathy A, Elkott M, Said MM. Intra-articular tenoxicam relieves post-arthroscopy pain. *Acta Anaesthesiol Scand* 1996; 40: 1223–1226.
18. Cook TM, Tucker JP, Nolan JP. Analgesia after day-case knee arthroscopy: double-blind study of intra-articular tenoxicam, intra-articular bupivacaine and placebo. *Br J Anaesth* 1997; 78: 163–168.
19. Colbert ST, Curran E, O’Hanlon DM, Moran R, McCarroll M. Intra-articular tenoxicam improves postoperative analgesia in knee arthroscopy. *Can J Anaesth* 1999; 46: 653–657.
20. Gupta A, Axelsson K, Allvin R, Liszka-Hackzell J, Rawal N, Althoff B et al. Postoperative pain following knee arthroscopy: the effects of intra-articular ketorolac and/or morphine. *Reg Anesth Pain Med* 1999; **24**: 225–230.
21. Elhakim M, Nafie M, Eid A, Hassin M. Combination of intra-articular tenoxicam, lidocaine, and pethidine for outpatient knee arthroscopy. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999; **43**: 803–808.
22. Convery PN, Milligan KR, Quinn P, Scott K, Clarke RCN. Low-dose intra-articular ketorolac for pain relief following arthroscopy of the knee joint. *Anaesthesia* 1998; **53**: 1125–1129.

23. Irwin MG, Cheung KMC, Nicholls JM, Thompson N. Intraarticular injection of ketorolacin the rat knee-joint: Effect on articular cartilage and synovium. *Br J Anaesth* 1998; 80: 837-839
24. Kürkçüoğlu BS, Dönmez M, Altinel S, Akinci SB, Sarıcaoğlu F, Aypar U. Comparison of intraarticular bupivacaine and levobupivacaine injection in rat synovial inflammation. *Turk J Med Sci.* 2014;44(4):540-5.
25. Marieb EN, Hoehn K, *Anatomy and Physiology*. Pearson Benjamin Cummings Publishing, 3. Edition, San Francisco, 2008, s.235-237.
26. Rosse C, Gaddum-Rosse P, *Hollinshead's Textbook of Anatomy*, Lippincott-Raven Publishers, 5. Edition, Philadelphia, 1997, s.387
27. Junquiera LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*, Appleton and Lange/McGraw-Hill Publishing Division, 9. Edition, Connecticut, 1988, s.149-151
28. Damjanov I, *Histopathology A Color Atlas and Textbook*, Williams and Wilkins Publishing, Baltimore, 1996, s.421
29. Junquiera LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*, Appleton and Lange/McGraw-Hill Publishing Division, 9. Edition, Connecticut, 1988, s.135-138
30. Damjanov I, *Histopathology A Color Atlas and Textbook*, Williams and Wilkins Publishing, Baltimore, 1996, s.23-25
31. Cotran RS, Robbins SL, Kumar V, *Temel Patoloji*, Yüce Yayınları, 6. Baskı, İstanbul, 2000, s. 26-45
32. Mohan H. *Textbook of Pathology*, Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd, New Delhi, 2005, s.133-152
33. Denti M, Randelli P, Bigoni M, Vitale G, Marino MR, Fraschini N. Pre- and postoperative intra-articular analgesia for arthroscopic surgery of the knee and arthroscopy-assisted anterior cruciate ligament reconstruction. A double-blind randomized, prospective study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 1997;5(4):206-12.
34. Mauerhan DR, Campbell M, Miller JS, Mokris JG, Gregory A, Kiebzak GM. Intra-articular morphine and/or bupivacaine in the management of pain after total knee arthroplasty, *J Arthroplasty.* 1997 Aug;12(5):546-52.

35. Calmet J, Esteve C, Boada S, Giné J Analgesic effect of intra-articular ketorolac in knee arthroscopy: comparison of morphine and bupivacaine. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2004 Nov;12(6):552-5. Epub 2004 Jun 9.
36. Badner NH, Bourne RB, Rorabeck CH, MacDonald SJ, Doyle JA. Intra-articular injection of bupivacaine in knee-replacement operations. Results of use for analgesia and for preemptive blockade. *J Bone Joint Surg Am.* 1996 May;78(5):734-8.
37. Ng HP, Nordström U, Axelsson K, Perniola AD, Gustav E, Rytberg L, Gupta A. Efficacy of intra-articular bupivacaine, ropivacaine, or a combination of ropivacaine, morphine, and ketorolac on postoperative pain relief after ambulatory arthroscopic knee surgery: a randomized double-blind study. *Reg Anesth Pain Med.* 2006 Jan-Feb;31(1):26-33.
38. Tuncer B, Babacan CA, Arslan M. The pre-emptive analgesic effect of intra-articular bupivacaine in arthroscopic knee surgery. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2005 Oct;49(9):1373-7.
39. Rosseland LA, Stubhaug A, Skoglund A, Breivik H. Intra-articular morphine for pain relief after knee arthroscopy. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1999 Mar;43(3):252-7.
40. Yang LC, Chen LM, Wang CJ, Buerkle H. Postoperative analgesia by intra-articular neostigmine in patients undergoing knee arthroscopy. *Anesthesiology.* 1998 Feb;88(2):334-9.
41. Gupta A, Axelsson K, Allvin R, Liszka-Hackzell J, Rawal N, Althoff B, Augustini BG. Postoperative pain following knee arthroscopy: the effects of intra-articular ketorolac and/or morphine. *Reg Anesth Pain Med.* 1999 May-Jun;24(3):225-30.
42. Khoury GF, Chen AC, Garland DE, Stein C. Intraarticular morphine, bupivacaine, and morphine/bupivacaine for pain control after knee videoarthroscopy. *Anesthesiology.* 1992 Aug;77(2):263-6.
43. Ruwe PA, Klein I, Shields CL. The effect of intraarticular injection of morphine and bupivacaine on postarthroscopic pain control. *Am J Sports Med.* 1995 Jan-Feb;23(1):59-64.
44. Morgan GE, Mikhail MS, *Clinical Anesthesiology*, Appleton and Lange, 2. Edition, Stantford, 1996, s.193-200
45. Kirkeby OJ, Aase S. Knee arthroscopy and arthrotomy under local anesthesia. *Acta Orthop Scand.* 1987 Apr;58(2):133-4.

46. Read GO. Local anaesthesia for diagnostic and operative arthroscopy of the knee. *S Afr Med J*. 1983 Sep 24;64(13):471-2.
47. Hultin J, Hamberg P, Stenström A. Knee arthroscopy using local anesthesia. *Arthroscopy*. 1992;8(2):239-41.
48. Heard SO, Edwards WT, Ferrari D, Hanna D, Wong PD, Liland A, Willock MM. Analgesic effect of intraarticular bupivacaine or morphine after arthroscopic knee surgery: a randomized, prospective, double-blind study. *Anesth Analg*. 1992 Jun;74(6):822-6.
49. Raja SN, Dickstein RE, Johnson CA. Comparison of postoperative analgesic effects of intraarticular bupivacaine and morphine following arthroscopic knee surgery. *Anesthesiology*. 1992 Dec;77(6):1143-7.
50. Ateş Y, Kinik H, Binnert MS, Ateş Y, Canakçi N, Keçik Y. Comparison of prilocaine and bupivacaine for post-arthroscopy analgesia: a placebo-controlled double-blind trial. *Arthroscopy*. 1994 Feb;10(1):108-9.
51. Müller M, Burkhardt J, Borchardt E, Büttner-Janz K. Postoperative analgesic effect after intra-articular morphine or ropivacaine following knee arthroscopy - a prospective randomized, doubleblinded study. *Schmerz*. 2001 Feb;15(1):3-9.
52. Franceschi F, Rizzello G, Cataldo R, Denaro V. Comparison of morphine and ropivacaine following knee arthroscopy. *Arthroscopy*. 2001 May;17(5):477-80.
53. Richmond CE. Alkalinization of local anaesthetic for intra-articular instillation during arthroscopy. *Br J Anaesth*. 1994 Aug;73(2):190-3.
54. White AP, Laurent S, Wilkinson DJ. Intra-articular and subcutaneous prilocaine with adrenaline for pain relief in day case arthroscopy of the knee joint. *Ann R Coll Surg Engl*. 1990 Nov;72(6):350-2.
55. Dahl MR, Dasta JF, Zuelzer W, McSweeney TD. Lidocaine local anesthesia for arthroscopic knee surgery. *Anesth Analg*. 1990 Dec;71(6):670-4.
56. Choyce A, Peng P. A systematic review of adjuncts for intravenous regional anesthesia for surgical procedures. *Can J Anaesth*. 2002 Jan;49(1):32-45.
57. Richardson MD, Bjorksten AR, Hart JA, McCullough K. The efficacy of intra-articular morphine for postoperative knee arthroscopy analgesia. *Arthroscopy*. 1997 Oct;13(5):584-9.

58. Kanbak M, Akpolat N, Ocal T, Doral MN, Ercan M, Erdem K. Intraarticular morphine administration provides pain relief after knee arthroscopy. *Eur J Anaesthesiol.* 1997 Mar;14(2):153-6.
59. Stein C, Comisel K, Haimerl E, Yassouridis A, Lehrberger K, Herz A, Peter K. Analgesic effect of intraarticular morphine after arthroscopic knee surgery. *N Engl J Med.* 1991 Oct 17;325(16):1123-6.
60. Gupta A, Bodin L, Holmström B, Berggren L. A systematic review of the peripheral analgesic effects of intraarticular morphine. *Anesth Analg.* 2001 Sep;93(3):761-70.
61. Dalsgaard J, Felsby S, Juelsgaard P, Froekjaer J. Low-dose intra-articular morphine analgesia in day case knee arthroscopy: a randomized double-blinded prospective study. *Pain.* 1994 Feb;56(2):151-4.
62. Allen GC, St Amand MA, Lui AC, Johnson DH, Lindsay MP. Postarthroscopy analgesia with intraarticular bupivacaine/morphine. A randomized clinical trial. *Anesthesiology.* 1993 Sep;79(3):475-80.
63. Rasmussen S, Kehlet H. Intraarticular glucocorticoid, morphine and bupivacaine reduces pain and convalescence after arthroscopic ankle surgery: a randomized study of 36 patients. *Acta Orthop Scand.* 2000 Jun;71(3):301-4.
64. Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, Codd EE, Vaught JL. Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992 Jan;260(1):275-85.
65. Wordliczek J, Banach M, Garlicki J, Jakowicka-Wordliczek J, Dobrogowski J. Influence of pre- or intraoperative use of tramadol (preemptive or preventive analgesia) on tramadol requirement in the early postoperative period. *Pol J Pharmacol.* 2002 Nov-Dec;54(6):693-7.
66. Garlicki J, Dorazil-Dudzik M, Wordliczek J, Przewłocka B. Effect of intraarticular tramadol administration in the rat model of knee joint inflammation. *Pharmacol Rep.* 2006 Sep-Oct;58(5):672-9.
67. Beyzadeoglu T, Yilmaz C, Bekler H, Gokce A, Sayin MM. Intraarticular tramadol plus pericapsular incisional bupivacaine provides better analgesia than intraarticular plus pericapsular incisional bupivacaine after outpatient arthroscopic partial meniscectomy. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2007 May;15(5):564-8. Epub 2006 Nov 10.

68. Tuncer B, Babacan A, Arslan M. Preemptive intraarticular tramadol for pain control after arthroscopic knee surgery. *Agri*. 2007 Jan;19(1):42-9.
69. Akinci SB, Saricaoglu F, Atay OA, Doral MN, Kanbak M. Analgesic effect of intra-articular tramadol compared with morphine after arthroscopic knee surgery. *Arthroscopy*. 2005 Sep;21(9):1060-5.
70. Alagöl A, Calpur OU, Kaya G, Pamukçu Z, Turan FN. The use of intraarticular tramadol for postoperative analgesia after arthroscopic knee surgery: a comparison of different intraarticular and intravenous doses. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2004 May;12(3):184-8. Epub 2003 Dec 23.
71. Buerkle H, Huge V, Wolfgart M, Steinbeck J, Mertes N, Van Aken H, Prien T. Intra-articular clonidine analgesia after knee arthroscopy. *Eur J Anaesthesiol*. 2000 May;17(5):295-9.
72. Reuben SS, Connelly NR. Postoperative analgesia for outpatient arthroscopic knee surgery with intraarticular clonidine. *Anesth Analg*. 1999 Apr;88(4):729-33.
73. Gentili M, Enel D, Szymiskiewicz O, Mansour F, Bonnet F. Postoperative analgesia by intraarticular clonidine and neostigmine in patients undergoing knee arthroscopy. *Reg Anesth Pain Med*. 2001 Jul-Aug;26(4):342-7.
74. Tamosiūnas R, Brazdzionyte E, Tarnauskaite-Augutiene A, Tranauskaite-Keraitiene G. Postoperative analgesia with intraarticular local anesthetic bupivacaine and alpha2-agonist clonidine after arthroscopic knee surgery. *Medicina (Kaunas)*. 2005;41(7):547-52.
75. Joshi W, Reuben SS, Kilaru PR, Sklar J, Maciolek H. Postoperative analgesia for outpatient arthroscopic knee surgery with intraarticular clonidine and/or morphine. *Anesth Analg*. 2000 May;90(5):1102-6.
76. Buerkle H, Boschin M, Marcus MA, Brodner G, Wüsten R, Van Aken H. Central and peripheral analgesia mediated by the acetylcholinesterase-inhibitor neostigmine in the rat inflamed knee joint model. *Anesth Analg*. 1998 May;86(5):1027-32.
77. Naguib M, Yaksh TL. Antinociceptive effects of spinal cholinesterase inhibition and isobolographic analysis of the interaction with mu and alpha 2 receptor systems. *Anesthesiology*. 1994 Jun;80(6):1338-48.
78. Hood DD, Eisenach JC, Tuttle R. Phase I safety assessment of intrathecal neostigmine methylsulfate in humans. *Anesthesiology*. 1995 Feb;82(2):331-43.

79. Yaksh TL, Grafe MR, Malkmus S, Rathbun ML, Eisenach JC. Studies on the safety of chronically administered intrathecal neostigmine methylsulfate in rats and dogs. *Anesthesiology*. 1995 Feb;82(2):412-27.
80. Lauretti GR, de Oliveira R, Perez MV, Paccola CA. Postoperative analgesia by intraarticular and epidural neostigmine following knee surgery. *J Clin Anesth*. 2000 Sep;12(6):444-8.
81. Fee H, Bovil JG, *Pharmacology for Anaesthesiologists*, Taylor and Francis Publishing, 1. Edition, Hampshire, 2005, s.118
82. Talu GK, Ozyalçın S, Koltka K, Ertürk E, Akinci O, Aşık M, Pembeci K. Comparison of efficacy of intraarticular application of tenoxicam, bupivacaine and tenoxicam: bupivacaine combination in arthroscopic knee surgery. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2002 Nov;10(6):355-60. Epub 2002 Aug 7.
83. Fujii K, Tajiri K, Kajiwarra T, Tanaka T, Murota K. Effects of NSAID on collagen and proteoglycan synthesis of cultured chondrocytes. *J Rheumatol Suppl*. 1989 Aug;18:28-31.
84. David MJ, Vignon E, Peschard MJ, Broquet P, Louisot P, Richard M. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on glycosyltransferase activity from human osteoarthritic cartilage. *Br J Rheumatol*. 1992;31 Suppl 1:13-7.
85. Rømsing J, Møiniche S, Ostergaard D, Dahl JB. Local infiltration with NSAIDs for postoperative analgesia: evidence for a peripheral analgesic action. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2000 Jul;44(6):672-83.
86. Ozyuvaci H, Bilgic B, Ozyuvaci E, Altan A, Altug T, Karaca C. Intra-articular injection of tenoxicam in rats: assessment of the local effects on the articular cartilage and synovium. *J Int Med Res*. 2004 May-Jun;32(3):312-6.
87. Saricaoglu F, Dal D, Atilla P, Iskit AB, Tarhan O, Aşan E, Aypar UA. Effect of intraarticular injection of lornoxicam on the articular cartilage & synovium in rat. *Indian J Med Res*. 2008 Apr;127(4):362-5.
88. Nole R, Munson NM, Fulkerson JP. Bupivacaine and saline effects on articular cartilage. *Arthroscopy*. 1985;1(2):123-7.
89. Chu CR, Izzo NJ, Papas NE, Fu FH. In vitro exposure to 0.5% bupivacaine is cytotoxic to bovine articular chondrocytes. *Arthroscopy*. 2006 Jul;22(7):693-9.
90. Balabanova RM, Fedina TP, Tsurko VV, Mach ES, Khitrov NA, Agapova LA, Oliunin IuA, Pushkova OV, Apenysheva NP. Dynamic changes in synovitis

activity after intra-articular administration of xefocam in patients with rheumatoid arthritis (according to clinical and device examinations). *Ter Arkh.* 2003;75(5):33-5.

91. Ankay Yilbas A, Akca B, Buyukakkus B, Bahador Zirh E, Zeybek D, Uzumcugil F, Saricaoglu F. Procaine and saline have similar effects on articular cartilage and synovium in rat knee. *BMC Anesthesiol.* 2018 May 9;18(1):51.
92. Praveen Rao PN, Knaus EE. Evolution of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2008; 11 (2): 81-110.
93. Halford GM, Lordkipanidzé M, Watson SP. 50th anniversary of the discovery of ibuprofen: an interview with Dr Stewart Adams. *Platelets.* 2012;23(6):415-22.
94. Piper SL, Kim HT. Comparison of ropivacaine and bupivacaine toxicity in human articular chondrocytes. *J Bone Joint Surg Am.* 2008 May;90(5):986-91.
95. Erden IA, Altinel S, Saricaoglu F, Zeybek ND, Akinci SB, Asan E, Aypar U. Effect of intra-articular injection of levobupivacaine on articular cartilage and synovium in rats. *Anaesthesist.* 2012 May;61(5):420-3.
96. Jacobs TF, Vansintjan PS, Roels N, Herregods SS, Verbruggen G, Herregods LL, Almqvist KF. The effect of Lidocaine on the viability of cultivated mature human cartilage cells: an in vitro study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011 Jul;19(7):1206-13.
97. Grishko V, Xu M, Wilson G, Pearsall AW 4th. Apoptosis and mitochondrial dysfunction in human chondrocytes following exposure to lidocaine, bupivacaine, and ropivacaine. *J Bone Joint Surg Am.* 2010 Mar;92(3):609-18.
98. Irwin W, Fontaine E, Agnolucci L, Penzo D, Betto R, Bortolotto S, Reggiani C, Salviati G, Bernardi P. Bupivacaine myotoxicity is mediated by mitochondria. *J Biol Chem.* 2002 Apr 5;277(14):12221-7
99. Karpie JC, Chu CR. Lidocaine exhibits dose- and time-dependent cytotoxic effects on bovine articular chondrocytes in vitro. *Am J Sports Med.* 2007 Oct;35(10):1621-7.
100. Johnson ME, Uhl CB, Spittler KH, Wang H, Gores GJ. Mitochondrial injury and caspase activation by the local anesthetic lidocaine. *Anesthesiology.* 2004 Nov;101(5):1184-94.

101. Dragoo JL, Braun HJ, Kim HJ, Phan HD, Golish SR. The in vitro chondrotoxicity of single-dose local anesthetics. *Am J Sports Med.* 2012 Apr;40(4):794-9.
102. Busson M. Update on ibuprofen: review article. *J Int Med Res.* 1986;14(2):53-62.
103. Zafer Hasçelik, Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar, STED, Ocak 2001
104. Smyth E, FitzGerald G, Katzung B. The eicosanoids: prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes, and related compounds. *Basic and Clinical Pharmacology.* 11th ed. New York, NY: McGraw-Hill.
105. Scott JL. Intravenous Ibuprofen In Adults For Pain and Fever. *Drugs* 2012; 72 (8): 1099-1109
106. Bookstaver PB. Et al. *Journal of Pain Research* 2010;3;67-79.
107. Smith SH, Voss B. Pharmacokinetics of Intravenous Ibuprofen Implications of time of Infusion in the Treatment of Pain and Fever. *Drugs* 2012; 72 (3): 327-337.

