ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

İbuprofenin *in situ* Jel Formülasyonunun Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Osteoartrit Üzerine Etkisinin Klasik Formülasyonlarla Karşılaştırılması

Özge GÜNEY

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Ocak, 2025

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZ ONAYI

İbuprofenin *in situ* Jel Formülasyonunun Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Osteoartrit Üzerine Etkisinin Klasik Formülasyonlarla Karşılaştırılması

Özge GÜNEY

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Bu Yüksek Lisans Tezi 09/01/2025 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Değerlendirilmiş ve Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Doç. Dr. Umay Merve GÜVEN BÖLGEN (Danışman) ……

: Prof. Dr. Işıl VAR ……

: Doç. Dr. Merve ÇAPKIN YURTSEVER ……

: Doç. Dr. Işıl AYDEMİR ……

: Dr. Öğr. Üyesi Sinan KANDIR ……

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FDK-2021-13474

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
ÇİZELGELER DİZİNİ IV
ŞEKİLLER DİZİNİ V
SİMGELER VE KISALTMALAR IX
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 3
2.1. Dizin Anatomisi 3
2.1.1. Kemik Yapılar 3
2.1.2. Kemik Dışı Yapılar 5
2.1.3. Kan Damarları ve Sinir Yapıları 10
2.1.4. Dizin Biyomekaniği 11
2.2. Osteoartrit 12
2.2.1. Osteoartrit Tarihçesi 12
2.2.2. Osteoartrit Etiyolojisi 13
2.2.3. Osteoartrit Epidemiyolojisi 14
2.2.4. Osteoartritin Patofizyolojisi 16
2.2.5. Osteoartritin Histopatalojisi 23
2.2.6. Osteoartrit Tanısı 24
2.2.7. Osteoartrit Tedavisi ve Ağrı Yönetimi 27
2.2.8. Osteoartritte Yeni Tedaviler ve Gelişmeler 32
2.3. Kontrollü İlaç Taşıyıcı Sistemler 33
2.3.1. İlaç Taşıyıcı Sistemlerinin Sınıflandırılması 34
2.3.2. Güncel İlaç Taşıyıcı Sistemleri ve Uygulamaları 36
2.4. İbuprofen 47
3. MATERYAL VE METOT 51
3.1. Deneylerde Kullanılacak Formülasyonların Hazırlanması 51
3.1.1. İbuprofen in situ Jel Formülasyonu Hazırlanması: 51
3.1.2. in situ Jel Formülasyonların Karakterizasyonu 54
3.2. Deney Hayvanları ve Barındırma Koşulları 55
3.3. Deneysel Ostaeoartrit Modeli Oluşturulması 56
3.3.1. Deney Grupları ve Formülasyonların Uygulanması 58
3.3.2. İntraartiküler Enjeksiyon 60

3.4. Deneysel Osteoartrit Modelinde Farmakolojik Aktivite Testleri 62
3.4.1. Hot-Plate Testi 62
3.4.2. Tail Flick Testi 63
3.4.3. Diz Eklem Çaplarının Ölçümü 64
3.4.4. Vücut Sıcaklığı Ölçümü 66
3.4.5. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz 67
3.5. Histopatolojik İnceleme 67
3.5.1. Hematoksilen-Eozin Boyama 68
3.5.2. Safranin O- Fast Green Boyaması 69
3.5.3. Histopatolojik Değerlendirme 70
3.5.4. İstatistiksel Analiz 71
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 73
4.1. Bulgular 73
4.1.1. in situ Jel Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar 73
4.1.2. in situ Jel Formülasyonların Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi 73
4.1.3. Farmakolojik Aktivite Testleri 75
4.1.4. Histopatolojik Bulgular 83
4.2. Tartışma 95
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 105
KAYNAKLAR 107
ÖZGEÇMİŞ 133

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

İbuprofenin *in situ* Jel Formülasyonunun Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Osteoartrit Üzerine Etkisinin Klasik Formülasyonlarla Karşılaştırılması

Özge GÜNEY

Danışman: Doç. Dr. Umay Merve GÜVEN BÖLGEN

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

ÖZ

Osteoartrit (OA), dejeneratif eklem hastalığı olarak da bilinen bir kas-iskelet sistemi hastalığıdır. OA tedavisinde sık tercih edilen non-steoridal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) inflamasyon gelişimini kontrol ederek ağrı ve inflamasyon tedavisinde önemli etkileri olan ilaçlardır. Ancak OA tedavisindeki yararlı etkilerine karşın, NSAİİ'larin eklem bölgesinde istenilenden az süre kalması nedeniyle sık sık yüksek dozlarda alımı gerekmekte, bu da ciddi gastrointestinal, kardiyovasküler, alerji, döküntü, hepatotoksisite ve nefrotoksisite gibi yan etkilere neden olmaktadır. Bu durum hasta uyuncunu zayıflatarak, tedavinin başarı oranın azalmasına neden olmaktadır. Bu nedenle OA ağrısını tedavi edecek yeni analjezik uygulamalarının geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu çalışmada OA tedavisinde kullanılan intraartiküler uygulanacak enjeksiyonluk ibuprofenin *in situ* jel formülasyonları geliştirilerek, karakterizasyonu yapıldı. Sıçanlarda oluşturulan deneysel osteoartrit modelinde diz eklemine intraartiküler enjeksiyon yapılarak ibuprofen *in situ* jel formülasyonu ile ibuprofenin klasik formülasyonunun etkileri karşılaştırıldı. İntraartiküler uygulamaları ardından Hot Plate (HP), Tail-Flick (TF) testlerinde antinosiseptif etkileri karşılaştırılmış olup, vücut sıcaklığı ve diz eklem çapının ölçüm testleri ile de desteklemiştir. Sıçanlar üzerinde histolojik incelemeler yapılarak her iki formülasyonun uygulandığı sıçanların diz eklemlerinde görülen histopatolojik değişiklikler incelendi. Çalışmanın sonuçlarına göre ibuprofenin *in situ* jel formülasyonu, klasik formülasyona kıyasla daha fazla antinosiseptif etki gösterdi. Bununla birlikte ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun intraartiküler uygulamasının OA tedavisinde kullanmak üzere ileri çalışmalar yapılmasına ve ibuprofenin *in situ* jel formülasyonunun etkisinin daha iyi anlaşılmasına katkılar sağlayacağı düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Osteoartrit, İbuprofen, Non-steorodial antiinflamatuvar, *in situ* Jel, İntraartiküler

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

PhD THESIS

Comparison of the Effect of *in situ* Gel Formulation of Ibuprofen with Classical Formulations on Experimental Osteoarthritis in Rats

---

Özge GÜNEY

Advisor: Assoc. Prof. Umay Merve GÜVEN BÖLGEN

Department of Biotechnology

ABSTRACT

Osteoarthritis (OA), also known as degenerative joint disease, is a musculoskeletal disorder. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are frequently preferred in the treatment of OA due to their significant effects in managing pain and inflammation by controlling the development of inflammation. However, despite their beneficial effects in OA treatment, NSAIDs have a short retention time in the joint area, necessitating frequent administration at high doses. This increases the risk of serious side effects such as gastrointestinal, cardiovascular, allergic reactions, rash, hepatotoxicity, and nephrotoxicity. These adverse effects can weaken patient compliance, thereby reducing the success rate of treatment. Thus, the development of novel analgesic applications to effectively treat OA pain is of great importance. In this study, injectable ibuprofen *in situ* gel formulations for intraarticular use in OA treatment were developed and characterized. In an experimental osteoarthritis model induced in rats, intra-articular injections were administered to compare the effects of ibuprofen *in situ* gel formulations with those of classical ibuprofen formulations. Following intraarticular administration, antinociceptive effects were evaluated using the Hot Plate (HP) and Tail-Flick (TF) tests, complemented by body temperature and knee joint circumference measurements. Additionally, histological analyses of the rats' knee joints were conducted to examine the histopathological changes resulting from both formulations. The results of the study demonstrated that ibuprofen *in situ* gel formulations exhibited greater antinociceptive effects compared to classical formulations. Furthermore, the intraarticular administration of ibuprofen *in situ* gel formulations is considered to hold potential for future studies aimed at OA treatment, contributing to a better understanding of its effects.

Keywords: Osteoarthritis, Ibuprofen, Non-steroidal anti-inflammatory, *in situ* Gel, Intraarticular

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimime başladığım ve tezimin oluşum sürecine kadar geçen yoğun çalışma dönemi boyunca bana yol gösteren, beni cesaretlendiren, engin bilgi ve tecrübelerinden her zaman faydalandığım ve öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım kıymetli hocam ve ilk danışman hocam Prof. Dr. Fazilet AKSU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora öğrenimim yolunda ilerlerken danışman hocam olarak beni onure eden ve bu süreçte, değerli bilgilerini benimle paylaşan, motivasyonumu canlı tutan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan, her sorun yaşadığımda pozitif bakış açısıyla bana destek olan, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve mesleki hayatımda da gelecekte bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli danışman hocam Doç. Dr. Umay Merve GÜVEN BÖLGEN'e teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum. Araştırmanın uygulama aşamasında kıymetli zamanlarını ayırarak bana yardımda bulunarak desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Işıl AYDEMİR'e, Didem, Dr. Öğr. Üyesi Didem YILMAZ ORAL'a, tez çalışmamdaki tüm süreç boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana destek olan Prof. Dr. Işıl VAR ve Doç. Dr. Merve ÇAPKIN YURSEVER'e, tezimin deneysel aşamasının gerçekleştirildiği Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi sorumlu veteriner hekim Arş. Gör. Dr. Çağrı AVCİ'ye içtenlikle şükranlarımı sunuyorum. Tez çalışmamdaki ibuprofen etken maddesini temin etmemde bana destek olan ADEKA İlaç firmasına ve Ecz. A. Cüneyt KAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım süresince desteklerini her koşulda hep hissettiğim beni yetiştiren, bu günlere getiren canım annem ve babama, lisans eğitimimden bu zamana kadar kardeşliği ile beni her alanda destekleyen, karşılaştığım her zorlukta bana ışık tutarak, sevgi ve neşesi ile birlikte bana güç veren Pınar GEZ'e, eğitim hayatım süresince her zaman bana yol göstererek motive eden kıymetli ağabeyim Doç. Dr. A. Serdar AYTAÇ'a, her zorlu süreçte desteğini esirgemeyip bana inan ve güvenen hayat arkadaşım Gökhan GÜNEY'e, varlığını içimde hissettiğim günden bu zamana kadar bana sevgisini, neşesini veren, tez çalışmam süresince kendisiyle geçireceğim zamandan fedakarlık edip sabırla beni bekleyen biricik ve canım oğlum Ömür GÜNEY'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. in situ jel ön formülasyon bileşenleri---------- 53
Çizelge 3.2. Deney gruplarının belirlenmesi ---------- 59
Çizelge 3.3. HP uygulanan deney grupları ve uygulama günleri---------- 63
Çizelge 3.4. TF uygulanan deney grupları ve uygulama günleri ---------- 64
Çizelge 3.5. Çalışmanın 0., 1., 3., 5., ve 7. günlerinde sağ ve sol diz eklem çaplarının ölçüldüğü deney grupları ---------- 65
Çizelge 3.6. Çalışmanın 0., 1., 3., 5., ve 7. günlerinde vücut sıcaklıklarının ölçüldüğü deney grupları---------- 66
Çizelge 3.7. Parafin doku takip protokolü ---------- 68
Çizelge 3.8. Hematoksilen-Eozin boyama protokolü ---------- 69
Çizelge 3.9. Safranin O – Fast Green boyama protokolü---------- 70
Çizelge 3.10. Uluslararası Osteoartrit Derneği (OARSI)'nin kriterlerine göre osteoartrit histopatolojisinin değerlendirilmesi (Pritzker ve ark., 2006)---------- 71
Çizelge 3.11. Sinovit histopatolojisinin değerlendirilmesi ---------- 71
Çizelge 3.12. Fibrozis histopatolojisinin değerlendirilmesi---------- 71
Çizelge 4.1. Etkin madde içeren in situ jel formülasyon içeriği---------- 73
Çizelge 4.2. pH Analiz Sonuçları ---------- 74
Çizelge 4.3. Kontrol ve formülasyon gruplarının uygulama öncesi ve sonrası HP reaksiyon zamanları (sn)---------- 75
Çizelge 4.4. Kontrol ve formülasyon gruplarının uygulama öncesi ve sonrası TF reaksiyon zamanları (sn)---------- 77
Çizelge 4.5. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların ve ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında sağ diz eklem çaplarının ölçümleri (mm) ---------- 79
Çizelge 4.6. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların, ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında sol diz eklem çaplarının ölçümleri (mm)---------- 80
Çizelge 4.7. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların, ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında vücut sıcaklığı ölçümleri (°C)---------- 82
Çizelge 4.8. Uluslararası Osteoartrit Derneği (OARSI)'nin kriterlerine göre osteoartrit histopatoljisinin denek sayılarının gruplardaki dağılımı ---------- 89
Çizelge 4.9. Sinovit histopatolojisi değerlendirilmesinde denek sayılarının gruplardaki dağılımı ---------- 90
Çizelge 4.10. Fibrozis histopatolojisinin denek sayılarının gruplardaki dağılımı.---------- 91

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Diz ekleminin yapısını oluşturan kemikler (Prathap ve ark., 2018) 4
Şekil 2.2. Distal femur ve patella ile eklem yüzeyi (Loudon, 2016)..... 4
Şekil 2.3.Menisküsün yapısı ve menisküsün kollateral bağlar ile bağlantısı (Ombregt, 2013) 5
Şekil 2.4. (a) Medial kollateral bağ ve medial menisküs (Ombregt, 2013). (b) ÖÇB, MKB ve AÇB'nin menisküs ile bağlantısı (Robonson, 1976) 6
Şekil 2.5. Diz fleksiyon konumundayken koroner bağların önden görünümü (Ombregt, 2013)..... 8
Şekil 2. 6. Diz ekleminin görüntüsü (Birkelund ve ark., 2014) 8
Şekil 2.7. *Popliteal fossa* (Ombregt, 2013)..... 10
Şekil 2.8. Diz eklemi çevresindeki atardamar ağı (Hirtler ve ark., 2019)..... 11
Şekil 2.9. Osteoartritin tarihsel zaman çizelgesi. a. Osteoartritin 175 ile 1925 yılları arasındaki zaman çizelgesi, b. Osteoartritin 1934 ile 2004 yılları arasındaki zaman çizelgesi (Arden ve ark., 2018)..... 13
Şekil 2.10. OA'nın radyografi belirtileri a) Sağ dizde gözlemlenen osteoartritin radyografik belirtileri, b) Omurgada gözlemlenen osteoartritin radyografik belirtileri (Arden ve ark., 2018)..... 17
Şekil 2.11. OA gelişiminde kıkırdakta meydana gelen bozulma (Goldring, 2012) 18
Şekil 2.12**.** Sinovyumun OA patofizyolojisindeki şekli (Arden ve ark., 2018) 19
Şekil 2.13. Osteoartritin semptomları 26
Şekil 2.14. Kontrollü ilaç taşıyıcı sistemlerinin avantaj ve dezavantajları (Bhowmik ve ark., 2012; Patel ve ark., 2022; Negi ve ark., 2023) 33
Şekil. 2.15.(a) Geleneksel ilaç salım sisteminin eğrisi; (b) Kontrollü ilaç salım sisteminin eğrisi (Adepu ve ark., 2021) 34
Şekil 2.16. pH ve sıcaklık etkisiyle uyarılarak fizyolojik değişime uğrayan çözeltinin doku içindeki jele dönüşümünün gösterimi (Singh ve ark., 2017) 39
Şekil 2.17. Sıcaklığa duyarlı *in situ* jel sistemlerindeki mekanizma..... 41
Şekil 2.18. İbuprofenin kimyasal yapısı..... 47
Şekil 3.1. Hassas terazide maddelerin tartım işlemi..... 51
Şekil 3.2. Ön formülasyonun manyetik karıştırıcıda karıştırılması 52
Şekil 3.3. Ön formülasyon çalışmasında hazırlanan *in situ* jel formülasyonunun görüntüsü 52
Şekil 3.4. Etkin maddesiz (sıvağ) *in situ* jel formülasyonunun görüntüsü..... 53
Şekil 3.5. Etkin madde (ibuprofen) içeren *in situ* jel formülasyonunun görüntüsü 54
Şekil 3.6. Deneysel osteoartrit modeli için MIA enjeksiyonu 57
Şekil 3.7. MIA enjeksiyonunun doğruluğunun metilen mavisi ile gözlemlenmesi 57

Şekil 3.8. MIA enjeksiyonun anestezi altında sıçanlara intraartiküler enjeksiyonu ve sonrasında kafese yerleştirilmesi. a) Anestezi uygulaması, b) MIA enjeksiyon uygulaması 58
Şekil 3.9. Deney grupları. a) Kontrol grubu, b) DOA kontrol grubu, c) DOA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu (Pozitif grup), d) DOA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu (Test Grubu), e) DOA + *in situ* jel sıvağı grubu 58
Şekil 3.10. İbuprofen *in situ* jel formülasyonunun enjeksiyon uygulaması öncesi enjektördeki görüntüsü 60
Şekil 3.11. Deney gruplarına ilaç formülasyonlarının uygulanması 61
Şekil 3.12. Hot Plate cihazı (HP) ve sıçrama reaksiyonu 62
Şekil 3.13. Tail Flick testinin (TF) uygulanması 64
Şekil 3.14. Diz eklem çapının ölçümünün yapılması 65
Şekil 3.15. Rektal termometre ile vücut sıcaklığı ölçümü 66
Şekil 4.1. Arka plan uygulaması ile fiziksel görünüş ve berraklık değerlendirilmesi 73
Şekil 4.2. Formülasyonların 25°C de yapılan ölçüme ait reogram 74
Şekil 4.3. Formülasyonların 37°C de yapılan ölçüme ait reogram 75
Şekil 4.4. Kontrol ve formülasyon gruplarının sıçanlarda uygulama öncesi ve sonrası HP reaksiyon zamanları (saniye) 76
Şekil 4.5. Kontrol ve formülasyon gruplarının sıçanlarda uygulama öncesi ve sonrası TF reaksiyon zamanları (saniye) 78
Şekil 4.6. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların, ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında sağ diz eklem çaplarının ölçümleri (mm) 79
Şekil 4.7. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların, ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında sol diz eklem çaplarının ölçümleri (mm) 81
Şekil 4.8. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların, ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında vücut sıcaklığı ölçümleri (°C) 83
Şekil 4.9. Grup I (Kontrol/Naive Grubu) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 83
Şekil 4.10. Grup II (Deneysel OA Kontrol Grubu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 84
Şekil 4.11. Grup II (Deneysel OA Kontrol Grubu-2) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 84

Şekil 4.12. Grup III (Deneysel OA + Klasik İbuprofen formülsyonu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 85
Şekil 4.13. Grup III (Deneysel OA + Klasik İbuprofen Formülasyonu Grubu-2) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 85
Şekil 4.14. Grup IV (Deneysel OA + in situ jel İbuprofen Grubu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 86
Şekil 4.15. Grup I (Kontrol Grubu) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 86
Şekil 4.16. Grup II (Deneysel OA Kontrol Grubu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 87
Şekil 4.17. Grup II (Deneysel OA Kontrol Grubu-2) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 87
Şekil 4.18. Grup III (Deneysel OA + Klasik İbuprofen Formülasyonu Grubu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 88
Şekil 4.19. Grup III (Deneysel OA + Klasik İbuprofen Formülasyonu Grubu-2) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B). 88
Şekil 4.20. Grup IV (Deneysel OA + *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu Grubu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B) 88
Şekil 4.21. Uluslararası Osteoartrit Derneği (OARSI)'nin kriterlerine göre osteoartrit histopatolojisinin kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), Deneysel OA+Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), Deneysel OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve Deneysel OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında karşılaştırılması. ***p<0,001 90
Şekil 4.22. Sinovit histopatolojisinin kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), Deneysel OA+Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), Deneysel OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve Deneysel OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında karşılaştırılması. ***p<0,001 91

Şekil 4.23. Fibrozis histopatolojisinin kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), OA+ Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında karşılaştırılması. ***p<0,001 92
Şekil 4.24. Eklem yüzeyinde osteofit uzunluğu (a), kıkırdak genişliği (b) ve kıkırdak uzunluğunun ölçüm bölgeleri, Büyütme: x100 92
Şekil 4.25. Kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), Deneysel OA+ Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında osteofit uzunluklarının karşılaştırılması. **p<0,01 93
Şekil 4.26. Kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), OA+Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında eklem yüzeyindeki kıkırdak genişliklerinin karşılaştırılması. ***p<0,001; *p<0,5 93
Şekil 4.27. Kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), Deneysel OA+ Deneysel Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında eklem yüzeyindeki kıkırdak uzunluklarının karşılaştırılması..... 94
Şekil 4.28. Eklem yüzeyinde kıkırdak dokusunda kondrosit hücre sayımının ImageJ programında belirlenmesi 94
Şekil 4.29. Kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), Deneysel OA+Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), Deneysel OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve Deneysel OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında eklem yüzeyindeki kıkırdak dokusundaki kondrosit sayılarının karşılaştırılması. ***p<0,001; **p<0,01..... 95

SİMGELER VE KISALTMALAR

BT : Bilgisayarlı tomografi
COX-1 : Siklooksijenaz-1
COX-2 : Siklooksijenaz-2
DKÇT : Düşük kritik çözelti sıcaklığı
DSC : Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
EDTA : Etilendiamintetraasetik asit
ESM : Ekstraselüler matriks
FGP : Fibroblast Büyüme faktörü
FTIR : Fourier Transform Infrared
GI : Gastrointestinal
HDM : Hücre dışı matris
HP : Hot Plate
HPMC : Hidroksipropil metil selüloz
IGF : İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL1β : İnterlökin-1 Beta
IL6 : İnterlökin-6
IL15 : İnterlökin-15
IL17 : İnterlökin-17
IL18 : İnterlökin-18
IL21 : İnterlökin-21
KİTS : Kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri
Km : Kafi miktar
LCL : Lateral kollateral bağ
MIA : Monosodyum iyodoasetat
MCL : Medial kollateral bağ
MKC : Mezenkimal kök hücre
MR : Manyetik rezonans
NaCl : Sodyum klorür
NGF : Sinir Büyüme Faktörü
NMP : N-metil pirolidon
NSAİİ : Non-steoridal antiinflamatuvar ilaçlar
OA : Osteoartrit
PAA : Poliakrilik asit
PCL : Posterior çapraz bağ
PEG : Poli(etilen glikol)

PEVA : Poli (etilen-ko-vinil asetat)

PLGA : Poli (laktik-ko-glikolik asit)

PNIPAAm : Poli-N-izopropil akrilamid

sn : Saniye

TGA : Termogravimetrik analiz

TF : Tail Flick

TNFα : Tümör nekroz faktörü

TGF-β : Transforme edici büyüme faktör-beta

ÜKÇT : Üst kritik çözelti sıcaklığı

VGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

1.GİRİŞ

Osteoartrit (OA), toplumda 60 yaş ve üzerindeki kişilerde en sık görülen ve dejeneratif eklem hastalığı olarak da bilinen bir kas-iskelet sistemi hastalığıdır. Dünya geneline bakıldığında 60 yaş üstü kadınlarda %18, erkeklerde ise %9.6 oranında OA gözlemlenmektedir (Pereira ve ark., 2015). Vücutta en çok eklem, kalça ve ellerde gözlenen osteoartrit genetik, biyokimyasal ve mekanik faktörlere bağlı olarak gelişebilmektedir (Bilge ve ark., 2016).

OA'nın etkisi ile hastalarda yaşamlarını etkileyecek şekillerde hareket ve fonksiyonlarında değişimlere neden olmaktadır. Eklemlerde sertlik, çıtırtı, ağrı, hareket kısıtlaması ve şişlik gibi klinik bulgulara sahiptir. OA'nın en belirgin semptomu olan ağrının periferik ve merkezi sinir sisteminin ağrı yollarındaki uyaranlar, nosiseptif ile nöropatik mekanizmalarla tetiklendiği düşünülmektedir. OA'da fiziksel hareketler ağrıyı tetiklerken, ağrı da fiziksel fonksiyonda kısıtlamalara neden olabilmektedir. Harekette kısıtlanmaya yol açan ve zamanla sürekli hale gelebilen OA ağrısı ilk etapta dinlenme ve basit analjeziklerle giderilebilmektedir. Ancak zamanla eklemlerde artan yıpranma ağrıyı daha belirgin hale getirir ve buna bağlı olarak ilaçlar da yetersiz kalmaktadır. OA tedavisinde asıl amaç ağrıyı azaltmak ve eklem fonksiyonunu sürdürmek veya iyileştirmektir (Arden ve ark., 2006; Altman, 2010).

OA tedavisinde hastanın hareketlerini ve fonksiyonlarını sürdürebilmesi için ağrının kontrol edilebileceği, hatta iyileşebileceği, hastaya özel bir şekilde kullanabileceği en az düzeyde yan etkiye sahip ilaçların uygulanması önem arz etmektedir (Pereira ve ark., 2015). OA tedavisinde non-steoridal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'lar), parasetamol ve diğer analjezikler, eklem içi enjeksiyonlar (kortikosteroidler, hyaluronik asit) tercih edilen ilaçlı tedavi yöntemlerindendir. İnflamasyon gelişimini kontrol ederek ağrı ve inflamasyon tedavisinde önemli etkileri olan NSAİİ'lardan; etodolac, naproxen, meloxicam, indomethacin, etoricoxib, piroxicam, diflofenak ve ibuprofen OA tedavisinde yaygın olarak kullanılanlardandır. Şiddetli ağrının olduğu OA'lı hastalarda kodein ve propoksifen gibi narkotikler de genellikle kombine tedavilerde kullanılmaktadır (Ünal ve ark.; Arden, 2018). Ancak NSAİİ'ler OA tedavisindeki yararlı etkilerine karşın gastrointestinal, kardiyovasküler, alerji, döküntü, hepatotoksisite ve nefrotoksisite gibi yan etkilere neden olabilmektedirler (Vidotto ve ark., 2013; Bilge ve ark., 2016; Arden N., 2018; Bindu ve ark., 2020).

NSAİİ olan ibuprofen antiinflamatuar, analjezik ve antipiretik etkiye sahiptir. OA tedavisinde etkili olarak kullanılan ibuprofenin 400, 600 ila 800 mg olan tabletler halinde yaygın olarak kullanımında terapötik etkisini sürdürmek için günde üç veya dört kez alınması gerekmektedir. Bu da hasta uyuncunu azaltarak tedavideki etkinliğini azaltabilmekte ya da ciddi yan tesirlere neden olabilmektedir. İbuprofenin topikal uygulaması ise oral dozaj formuna kıyasla kardiyovasküler, gastrointestinal (GI) ve renal yan etkilerini azaltan formülasyonlardır. Günümüzde OA tedavisinde kullanılan topikal ibuprofen, %5 ibuprofen içeren jel formülasyonu olarak piyasada

mevcuttur. İbuprofen jelin OA tedavisinde kullanımı günde en fazla dört defadır. İbuprofenin kontrollü salımını sağlamak üzere literatürde topikal olarak, mikroemülsiyon bazlı hidrojel topikal formülasyonu ve mikroemülsiyon bazlı kalınlaştırılmış hidrojel topikal formülasyonu, rektal uygulamalar için katı dispersiyon bazlı bir termosensitif *in situ* jel formülasyonu üzerine yapılan çalışmalar yer almaktadır (Chen ve ark., 2006; Maru ve ark., 2015; Firoz ve ark., 2024; Anonim 1, 2024).

OA'da yaygın olarak kullanılan mevcut NSAİİ'ların eklem bölgesinde istenilenden az süre kalması nedeniyle sık sık yüksek dozlarda alımı gerekmekte, bu da ciddi yan etkilere neden olmakta, ilacın kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle OA ağrısını tedavi edecek yeni analjezik uygulamalarının geliştirilmesi önem arz etmektedir (Mease ve ark., 2011; Prince, 2019). Düşük doza sahip hidrojel ile yüksek doza sahip hidrojel formasyonlarının eklem içine uygulanmasıyla birlikte hem iltihaplı hem de sağlıklı eklemlerde sürekli ve kontrollü bir salım profilinin oluştuğu gözlenmiştir. *in situ* oluşturan hidrojellerin yan etkilerinin az olması ve eklem ağrısı üzerindeki uzatılmış etkileri sayesinde, *in situ* oluşturan hidrojeller formülasyonlarının daha çok araştırılarak değerlendirilmesi gerektiği önerilmiştir. NSAİİ'lerin eklem içi uygulanması, sistemik yan etkilerden kaçınmak için etkili bir yöntem olmakla birlikte sinovyal ortamdaki kısa yarı ömrü nedeniyle sık enjeksiyonlar gerektirmektedir. Bu sorunu aşmak için sürekli ilaç salınımı sağlayan formülasyonlara ihtiyaç vardır. Yeni bir yavaş salınımlı NSAİİ taşıyıcı formülasyonu ile etkinliğin artırılmasını ve yan etkilerin hafifletilmesini amaçlamaktadır (Allen ve ark., 2009; Zhang ve Huang, 2012; Cokelaere ve ark., 2018; Liu ve ark., 2018).

Bu çalışmada mevcut osteoartrit tedavilerinde kullanılan ibuprofenin düşük dozda, daha uzun süreli salım profiline sahip, düşük yan etkiye sahip intraartiküler uygulamayla tedaviyi etkin kılacak *in situ* jel formülasyonu ile konvansiyonel formülasyonunun karşılaştırmalarının yapılarak, i*n situ* jel formülasyonunun etkinliğini ve başarısını ortaya koymak amaçlanmıştır. Çalışma formülasyonları kıyaslamak üzere OA'nın en yaygın belirtilerinden biri olan ağrı ve inflamasyon üzerindeki etkileri hayvan modelleri aracılığıyla araştırılmıştır. Bu yaklaşım, daha uzun süreli tedavi ve daha az enjeksiyon gereksinimi sunmayı hedeflemektedir. Böylece OA tedavisinde ilacın eklemde kalış süresini ve hedef doku içindeki difüzyonunu artırarak, daha düşük dozda daha etkili, daha az yan etkili ve hasta uyuncunun iyi olduğu bir formülasyon oluşturulmuştur. Formülasyonun karakterizasyonu yapılmış ve formülasyonun etkinliği farmakolojik ve histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda elde edilen veriler OA ve benzeri eklem rahatsızlıklarının tedavisinde uzun ve etkili bir salım profili gösteren bir ilaç tasarımı yapılmasına yönelik daha ileri düzeyde klinik çalışmaların yapılmasına ve geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Dizin Anatomisi

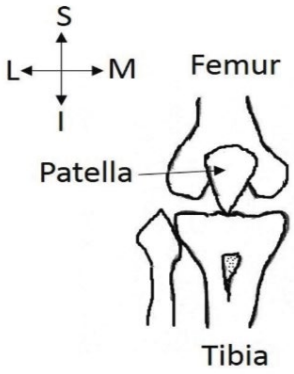
Vücuttaki en büyük sinovyal eklem olan diz, günlük aktivitelerin çoğunun gerçekleştirilmesine imkan sağlamaktadır. Dizin anatomisini oluşturan kısımlar; kemik ve eklemler, kaslar, sinirler, bağlar ve tendonlar ve kan damarlarıdır (Scuderi 2010; Flandry 2011). Sinir ve damarlardan (arterler, toplardamarlar, lenfatikler) oluşan ağsı yapının yer aldığı yumuşak dokular olan deri, yağ, kapsül ve sinovyum tarafından sağlanmaktadır (Eckhoff, 2005; Flandry ve ark., 2011).

Diz eklemi femur, tibia ve patella olmak üzere üç kemiği birbirine bağlayan sinoviyal bir eklemdir. Aynı zamanda diz eklemi tibiofemoral eklem ve patellofemoral iki eklemden oluşan karmaşık bir menteşe eklemidir. Patellofemoral eklem, patella ve femur arasında, tibiofemoral eklem ise tibia ve femur arasındaki bir eklemdir (Flandry ve ark., 2011; Vaienti ve ark., 2017). Tibiofemoral eklem, vücut ağırlığının femurdan tibiaya iletilmesini ve küçük bir derecede tibial eksenel rotasyon ile birlikte menteşe benzeri, sagital düzlem eklem dönüşü sağlamaktadır (Flandry ve ark., 2011). Tibiofemoral ve patellofemoral eklem olmak üzere iki ana eklem olarak kavramsallaştırılan ve vücuttaki en karmaşık eklem yapılarından biri olan diz, üç farklı düzlemde (sagital, transvers ve frontal) hareket etme kabiliyetine sahiptir. Diz ekleminin ağırlık taşıyan bileşeni olan tibiofemoral (diz eklemi), femurun medial ve lateral kondilleri tibial kondillerle eklemi oluşturmaktadır (Flandry ve ark., 2011). Patellofemoral eklem, diz kapağı ile femur veya uyluk kemiğinin ucu arasındaki eklem ile uyluk ve kaval kemiği arasındaki diz ekleminin ana ağırlık taşıyan bileşenini oluşturan medial ve lateral tibiofemoral kompartmanlardır (Scuderi ve Tria 2010; Flandry 2011).

2.1.1. Kemik Yapılar

Diz eklemi, femur (uyluk kemiği), tibia (kaval kemiği) ve patella (diz kapağı) olmak üzere üç ana kemikten (Şekil 2.1.) oluşur. Bu kemikler, diz ekleminde birlikte hareket eder ve hiyalin kıkırdakla kaplanarak düşük sürtünme ile kayma ve dönme sağlamaktadır (Scuderi ve Tria 2010; Flandry ve ark., 2011; Vaienti ve ark., 2017).

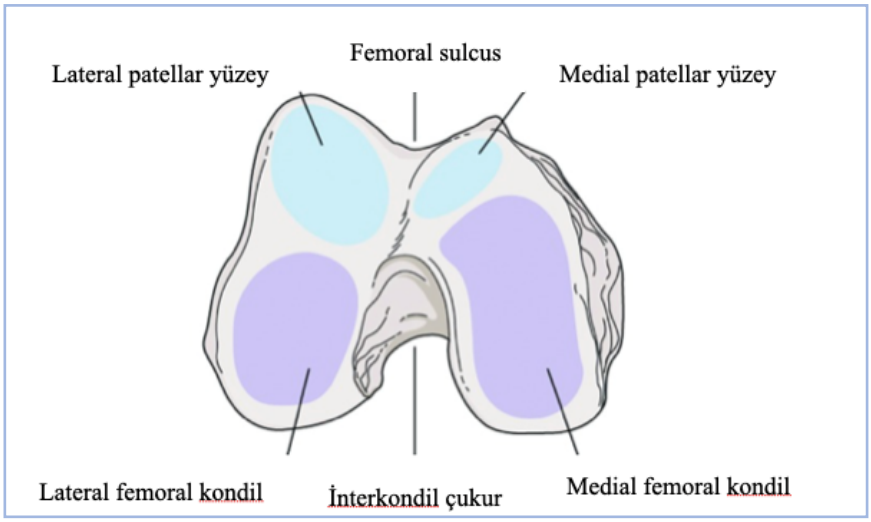
Femur: Hafif küboid ve asimetrik yapıda olan femur, diz çevresindeki birçok bağ ve tendon için bağlanma alanları sağlamaktadır (Scuderi ve Tria 2010). Dizin çevresindeki birçok tendon ve bağ için ortam sağlayan femurun, medial ve lateral kondil bileşenleri interkondiler çentikle birleşmektedir. Her iki düzlemde de dışbükey çıkıntıya sahip olan kondillerden medial kondil, lateralden biraz daha distal olarak uzanmaktadır. Lateral femoral kondilin daha belirgin olması, patellanın laterale kaymasını engellemektedir (Scuderi ve Tria 2010; Ombregt, 2013). Distal femurun bu morfolojik özellikleri anterior, posterior ve distal eklem kıkırdağı ile kaplıdır (Eckhoff, 2005).



Şekil 2.1. Diz ekleminin yapısını oluşturan kemikler (Prathap ve ark., 2018)

Tibia: Distal femurun eklem yaptığı medial ve lateral kondillerden oluşan tibianın orta tarafı neredeyse düz, yan taraf ise dışbükey yapıdadır (Scuderi and Tria 2010). Medial (oval ve içbükey) kondili ve lateral (dairesel ve konveks) kondili ayıran tibia, ön ve arka çapraz bağları ayırmaktadır. Tibianın ön yüzeyinde, patellar tendonun girdiği yerde bulunan yüksekliğe tibial tüberkül, proksimal tibianın iliotibial traktusun girdiği yanal yüzeyinde yer alan yüksekliğe ise gerdy tüberkülü denilmektedir. Fleksiyon ve ekstansiyon sırasında, tibia ve patella femura göre tek bir yapı gibi hareket etmektedir (Scuderi and Tria 2010; Ombregt, 2013).

Patella: Diz ekleminin ön kısmında yer alan yassı ve üçgen formda olan patella, vücudun en büyük sesamoid kemiğidir (Scuderi and Tria 2010; Ombregt, 2013). Lateral ve femoral kondillerin birleşmesinin neticesinde patella (Şekil 2.2.), femural sulcus veya distal femurun ön eklem yüzeyi ile eklemlenmektedir (Flandry and Hommel, 2011).



Şekil 2.2. Distal femur ve patella ile eklem yüzeyi (Loudon, 2016)

Eklemin üst kısmı, yağ dokusu ile tibia başından ayrılmaktadır (Ombregt, 2013). Eklem yüzeyi, lateral taraf daha geniş ve daha derin olacak şekilde medial ve lateral faset olarak bölünmüştür. *Patella sulkusa* yaklaşık 45 ° diz fleksiyon açısında geçtiğinde ekleme biraz daha

kemik stabilitesi kazandırmaktadır (Scuderi and Tria 2010; Flandry ve ark., 2011). Patella, üzerindeki ortak tendondan geçerek tibial tüberozitenin düz kısmına kadar uzanan *quadriceps femoris'in,* büyük bir açıyla hareket edebilmesini sağlayarak dizin kaldıraç gücünü arttırmakta ve kalkan görevi yaparak dizin önünü korumaktadır (Scuderi ve Tria 2010; Ombregt, 2013; Vaienti ve ark., 2017).

2.1.2. Kemik Dışı Yapılar

2.1.2.1. Menisküsler

Tibial kondiller ile femoral kondiller arasında yer alan fibro kıkırdaklı yapıya sahip iki hilal şeklindeki yapı olan menisküs (Şekil 2.3.), temas alanı oluşturarak hareket esnasındaki rotasyonu yönlendirme ve translasyonu sabitleme gibi biyomekanik süreçleri yönetmektedir (Vaienti ve ark., 2017; Flandry ve Hommel, 2011; Ombregt, 2013). Medial menisküs C harfi şeklinde olup daha iç tarafta yer alırken, lateral menisküs daha yuvarlak bir formda dış tarafta yer almaktadır. Medial menisküs, lateral menisküse göre daha geniş olup, koroner bağları da lateral menisküsüne göre daha güçlü bir yapıya sahiptir (Answorth ve ark., 1995; Ombregt, 2013; Vaienti ve ark., 2017). %75 kollajen ve %8-13 kollajen olmayan proteinler menisküsün yapısını oluşturmaktadır (Ingman ve ark., 1974). Femoral ve tibial kondiller ile alt ve üst yüzeyleri temas halinde bulunmaktadır (Ombregt, 2013). Dış bükey yapıda olan menisküslerin periferik sınırı kalın ve eklem kapsülünün iç kısmına yapışık şekilde bulunmaktadır.



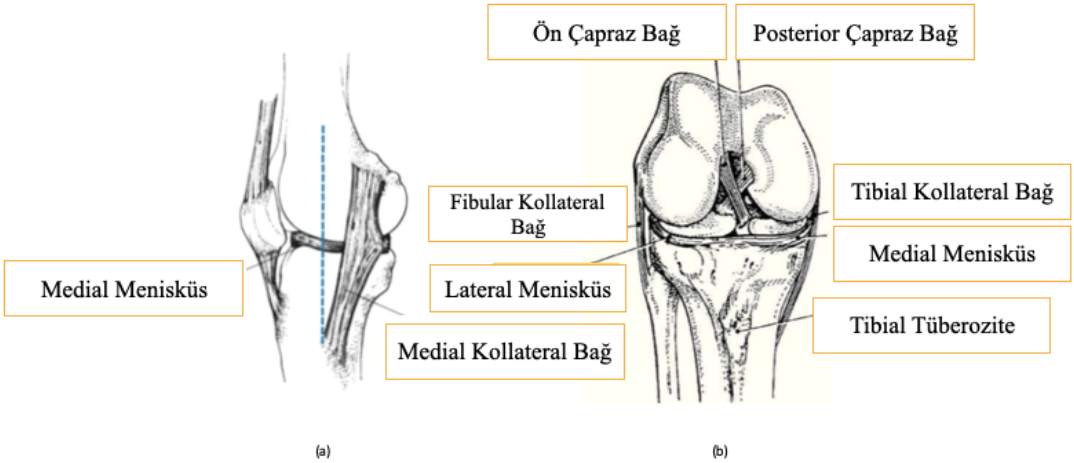
Şekil 2.3. Menisküsün yapısı ve menisküsün kollateral bağlar ile bağlantısı (Ombregt, 2013)

Menisküs, femur ve tibia eklem yüzeyleri arasındaki temas bölgesini arttırarak, yüzeydeki ağırlık dağılımını lateral ve medial kompartmanlar arasında dengeli bir şekilde aktarımını sağlamaktadır. Ayrıca menisküs, sinovyal sıvının dağılımını eklem yüzeyleri üzerinde arttırarak eklemler arasındaki uyumu da arttırmakta ve bu da hareket sırasında yumuşak doku sıkışmasını önlemeyi sağlamaktadır (Eckhoff, 2005; Scuderi, 2010; Vaienti ve ark., 2017).

Menisküslerin gövdesi femoral kondilin etrafına sabitlenmiş halde bulunur ve femur ile hareket ederken, menisküslerin boynuzları da tibial alana iç kısımlarından bağlanarak tibia ile birlikte hareket etmektedir. Hem sabit hem de hareketli bölgelere teması sebebiyle, hareket sırasında menisküsler deformasyona uğrayabilme potansiyeline sahiptir. Lateral menisküsün gövdesi daha hareketli olması ve boynuzlarının daha uzun olması deformasyonun lateral menisküste daha belirgin olmasına neden olmaktadır (Answorth ve ark., 1995; Ombregt, 2013). Diz eklemine kayganlık ve beslenme sağlayan menisküs, ağrıya duyarlı yapılar içermemektedir. Bu nedenle gerçekleşen zararlı hareketler neticesinde menisküs travmaya karşı duyarsızdır ve bu da eklem kıkırdağı dejenerasyonu, semptomatik OA, osteofit oluşumu ve eklem aralığı daralması gibi dejeneratif eklem rahatsızlıklarına neden olabilmektedir (Ombregt, 2013; Prathap, 2018).

2.1.2.2. Eklem Kapsülü ve Bağlar

Eklem kapsülü kas tendonları ve bu tendonların genişlemeleri sonucunda eklem çevresinde kalın bir bağ kılıfı meydana getiren karmaşık bir yapı olup, femurun distal ucunu tibianın proksimal kenarı ile birleştirmektedir. Diz eklemini kayganlaştıran ve besleyen sinovyal zar bu kapsülün içinde yer almaktadır (Ombregt, 2013). Eklem kapsülünde sürtünmeyi azaltan sıvı dolu bursa adı verilen kesecikler ve dış kuvvetlere yastık görevi gören infrapatellar yağ yastığı bulunmaktadır. Femur ve tibiayı birbirine bağlayarak yerinde tutan bağlar, dizin stabilitesini sağlar ve çıkmasını önleyerek konumunu korumaktadır (Last, 1948; Ombregt, 2013; Hirschmann ve Müller, 2015). Diz ekleminin bağları (Şekil 2.4.), eklem kapsülünün içinde yer alan intrakapsüler bağlar ve eklem kapsülünün ışında yer alan ekstrakapsüler bağlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Last, 1948; Scuderi 2010; Ombregt, 2013; Hirschmann ve Müller, 2015).



Şekil 2.4. (a) Medial kollateral bağ ve medial menisküs (Ombregt, 2013). (b) ÖÇB, MKB ve AÇB'nin menisküs ile bağlantısı (Robonson, 1976)

İntrakapsüler bağlar çapraz bağları içerirken, ekstrakapsüler bağlar ise patellar bağ, fibular (lateral) ve tibial (medial) kollateral bağlar ve eğik, kavisli popliteal bağları içermektedir. Tibia ve

femuru birbirine bağlayan bu iki bağ, stabiliteyi sağlamakta ve yerinden oynamasını önlemektedir. Dizin yanlarında, yanlara doğru hareketlere sabitlik sağlayan dizin iç tarafında medial kollateral bağ (MKB) ve dış tarafında lateral kollateral bağ (LKB) bulunmaktadır. Bu iki bağ, diz ekleminin merkezinde birbirini çaprazlayarak, ön tarafa doğru çapraz bağ (ÖÇB) ve dizin arkasına doğru çapraz bağlanarak ise arka çapraz bağları (AÇB) oluşturmaktadır. ÖÇB, tibianın öne doğru çok fazla kaymasını önleyerek ve kesme, dönme ve zıplama sporlarına izin vermek için de dizin sabitlenmesini sağlarken, AÇB ise tibianın geriye doğru hareket etmesini engellemektedir (Ombregt, 2013; Scuderi 2010; Last, 1948; Hirschmann ve Müller, 2015).

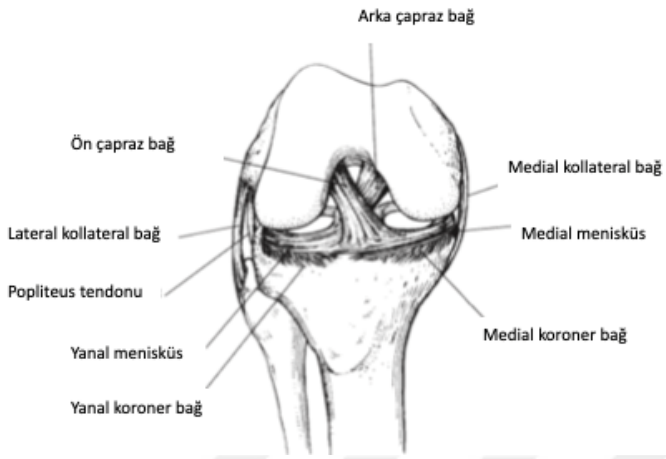
Medial Kollateral Bağ (MKB): Diz ekleminin en güçlü ve düz bağı olan MKB, yüzeysel ve derin lifler olmak üzere iki lif grubuna ayrılabilmektedir. Femurun medial epikondilinden medial kondile ve tibianın medial yüzeyinin üst kısmına kadar uzanmaktadır. Yüzeysel lifler, femurun medial epikondilinin hemen proksimalinden kaynaklanır ve tibianın medial kondilinde proksimaline doğru bağlanmaktadır. Derin lifler medial femoral kondilden kaynaklanır ve medial tibial platonun proksimaline doğru uzanmaktadır. Medial femoral kondilden başlayan derin lifler eklem kapsülüne kadar devam etmektedir. Medial menisküse yapışır ve medial tibial platonun proksimal tarafına eklenmektedir (Last, 1948; Scuderi 2010; Ombregt, 2013; Hirschmann ve Müller, 2015). MKB fleksiyon esnasında gevşemesine rağmen menisküse yapışık halde bulunan arka liflerin ekisiyle MKB gergin kalmaktadır. Bu sayede de MKB dizi dış rotasyona ve aşırı *valgus* kuvvetlerine karşı stabilize etmektedir (Ombregt, 2013).

Lateral Kollateral Bağ (LKB): Femurun lateral epikondilinden köken alan ve fibula başının yan yüzeyine tutunmak üzere distal olarak uzanan güçlü bir bağ olan LKB, dizin lateral stabilitesinden sorumlu kısmıdır. Ekstrakapsüler bir bağ olarak kabul edilen LKB, MKB'den farklıdır. Dizdeki *varus* kuvvetlerine direnmede görevlidir (Scuderi 2010; Last, 1948; Ombregt, 2013).

Ön Çapraz Bağ (ÖÇB): Ön çapraz bağ diz eklemini sabitleyen dört önemli bağdan biri olup, lifli doku yapısıyla kemikleri bir eklemde birbirine bağlamaktadır. Tibianın ön interkondiler alanına, medial ve lateral menisküslerin ön boynuzları arasına bağlanan ön çapraz bağların lifleri, femurun lateral kondilinin iç tarafına doğru lateral ve posterior olarak uzanmaktadır. Ön çapraz bağ *varus* hareketini ve tibianın öne doğru kaymasını engelleyerek, diz eklemini sabitleyen bir direnç göstermektedir (Last, 1948; Scuderi 2010; Flandry, 2011; Ombregt, 2013).

Arka Çapraz Bağ (AÇB): Dizdeki en büyük eklem içi bağ olan AÇB, tibianın arka yüzeyinden menisküsün iki arka boynuzu arasından uzanmaktadır. Diz ekleminin 90° (Şekil 2.5) fleksiyonun ötesinde, tibial iç ve dış rotasyonları kısıtlamada AÇB'nin küçük ama önemli bir rolü bulunmaktadır. AÇB, ön çapraz bağa kıyasla daha kalın olup, posteromedial ve anterolateral demet olmak üzere iki lif demetine sahiptir. Anterolateral demet fleksiyonda gerginken, posteromedial demetin ekstansiyonda daha gergin olduğu bilinmektedir (Last, 1948; Scuderi 2010; Flandry, 2011;

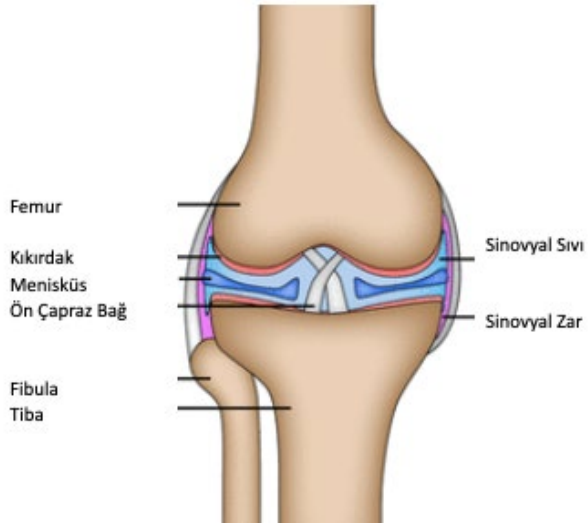
Ombregt, 2013). Her iki AÇB demeti de diz fleksiyonunun tamamı boyunca posterior translasyon açısından stabilize edici bir işleve sahiptir (Kennedy, 2013; Wijdicks, 2013).



Şekil 2.5. Diz fleksiyon konumundayken koroner bağların önden görünümü (Ombregt, 2013)

2.1.2.3. Eklem Kıkırdağı

Eklem yapılarının yüzeyini örten ve bu yapıların yüzeylerinin birbirine sürtünerek aşınmasını önleyen ve hareket kolaylığını sağlayan kaygan madde eklem kıkırdağı olarak adlandırılmaktadır. Hiyalin kıkırdak olan eklem kıkırdağında sinirler, lenfatikler ve kan damarları yer almamaktadır. Lastiksi bir niteliğe sahip olan eklem kıkırdağı, diz ekleminde (Şekil 2.6.) femurun uçlarını, patellanın arkasını ve kaval kemiğinin tepesini kaplamaktadır (Bhosale, 2008; Fox, 2009).



Şekil 2. 6. Diz ekleminin görüntüsü (Birkelund ve ark., 2014)

Eklem kıkırdağı, hareket esansında kemik yüzeylerinin birbirine uygulayacağı stresi azaltan, hareket kabiliyetini kolaylaştıran pürüzsüz bir yüzey görevindedir. Bu nedenle eklem sağlığı kıkırdağın korunmasına bağlı olup, eklem hareketsizliği ve eklemler üzerine aşırı yüklenme kıkırdak

bozulması ile ilişkilidir (Bhosale, 2008; Fox, 2009). Sıvı ve katı fazdan oluşan eklem kıkırdağı kollajen, proteoglikanlar ve sudan oluşan hücre dışı matristen (HDM) oluşmaktadır. Sıvı fazını oluşturan bileşenler su, kalsiyum, sodyum, potasyum, klorür oluştururken, katı fazını ise geçirgen ve gözenekli yapı olan HDM oluşturmaktadır. Kollajen fibrilleri gerilme kuvvetlerine karşı koruyucu role sahip iken, proteoglikanlar da kıkırdağa basınç kuvveti sağlamaktadır. Kıkırdağa esneklik sağlayan özellik, interstisyel sıvı ve proteoglikan agregatları arasındaki negatif elektrostatik itme kuvvetlerince oluşturulmaktadır (Bhosale, 2008; Fox, 2009; Slater, 2022).

2.1.2.4. Sinovyal Zar ve Sinovyal Sıvı

Sinovyal zar, sinovyal eklemlerde çevre dokulardan gelen sıvıyı ve sinyal boşluğu içine alarak kapatan özel bir bağ dokusudur. Eklem boşluğunu kaplayan, eklemlerdeki moleküllerin ve besinlerin giriş-çıkışını düzenleyen sinovyal zar, lifli bir bağ dokusuna sahiptir (Vangsness ve ark., 2011).

Sinovyal zar tarafından meydana gelen sinoviyal sıvı, dizdeki eklem yüzeyleri üzerinde viskoz bir film tabaka oluşturarak, birbiri ile sürtünmelerini azaltmaktadır. Sinovyal sıvı monosoitler, lenfositler, nötrofiller, glikoz, sinovyal hücreler beyaz kan hücresi ve ürik asitten oluşmaktadır. Kıkırdağa difüzyon ile geçen sinovyal sıvı, kıkırdakta içerisinde kıkırdağın sıkışması ve gevşemesiyle kıkırdakta dağılarak eklem yüzeylerini kayganlaştırma ve besin taşıma rollerine sahiptir. Bu özelliği ile damarsız yapıya sahip olan kıkırdağın ihtiyacı olan madde alışverişine imkan tanımaktadır. Eklem sıvısında kimyasal ve fiziksel etmenlere bağlı zamanla oluşan değişimler eklemde OA gibi hastalıklara neden olabilmektedir (Vangsness, 2011; Mathiessen ve Conaghan, 2017; Slater ve Slater, 2022;). Soğuk havalarda sıcaklığın düşüşüne bağlı olarak sinovyal sıvının viskozitesinde meydana gelen değişim ile eklem sertliğine neden olması, bu da sinovyal sıvının fiziksel etmenlere bağlı olarak değişime uğradığının en belirgin örneklerindendir (Brannan ve Jerrard, 2006).

2.1.2.5. Kas

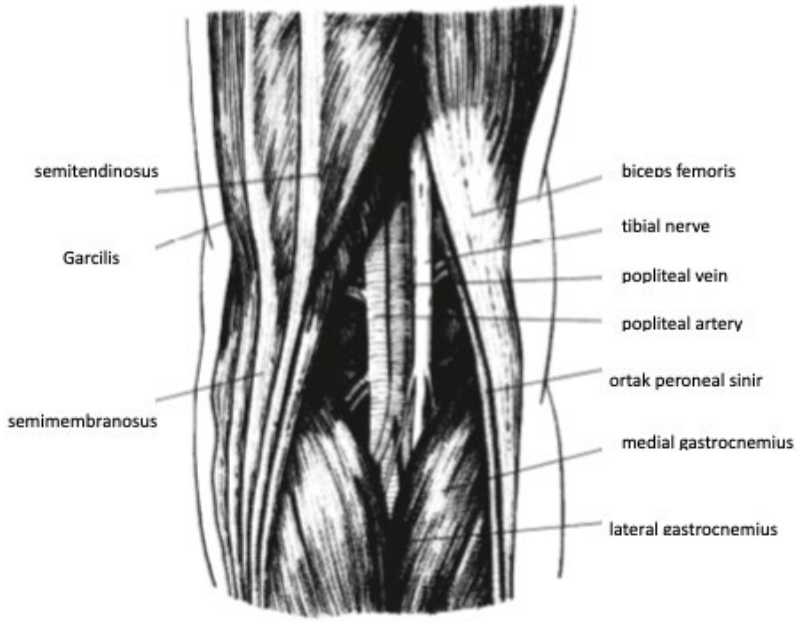
Diz eklemini hareket ettirerek yürümeyi, merdiven çıkmayı, sandalyeye oturmayı sağlayan motora ekstansör mekanizma denmektedir. Dizin ekstansörü *quadriceps* olup, dört farklı kası içermektedir. Bunlar *vastus lateralis, vastus medialis, rectus femoris* ve *vastus intermedius*'dur (Scuderi, 2010; Ombregt, 2013). Tendon içinde gömülü bir şekilde yer alan patella, *quadriceps* kasılmalarının etkinliğini arttırmaktadır ve her yerinde tendon lifleri bulunmaktadır (Ombregt, 2013). Tendonun parçaları, patellanın üzerindeki kısmına suprapatellar tendon (*quadriceps* tendonu), alt kısmına infrapatellar tendon (veya patellar bağ) olarak adlandırılmaktadır. Dizin bükülmesi fleksiyon olarak adlandırılır ve yürüme, koşma gibi gündelik hareketlerde dizin iç veya dışa doğru dönmesini sağlamaktadır. Dizin fleksörleri olarak bilinen *hamstringler semitendinosus, semi-membranosus* ve *biceps femori, sartorius* ve *gracilis, popliteus* ve *gastrocnemii* olarak

adlandırılmaktadır. Fleksiyon ve ekstansiyon karşıt kas grupları tarafından kontrol edilmektedir. *Quadriceps* kasları kasıldığında diz düzleşmekteyken, diz ve uyluğun arkasındaki kaslar olan hamstring kasları kasıldığında diz bükülmektedir (Scuderi, 2010; Ombregt, 2013).

2.1.3. Kan Damarları ve Sinir Yapıları

2.1.3.1. Sinir Yapıları

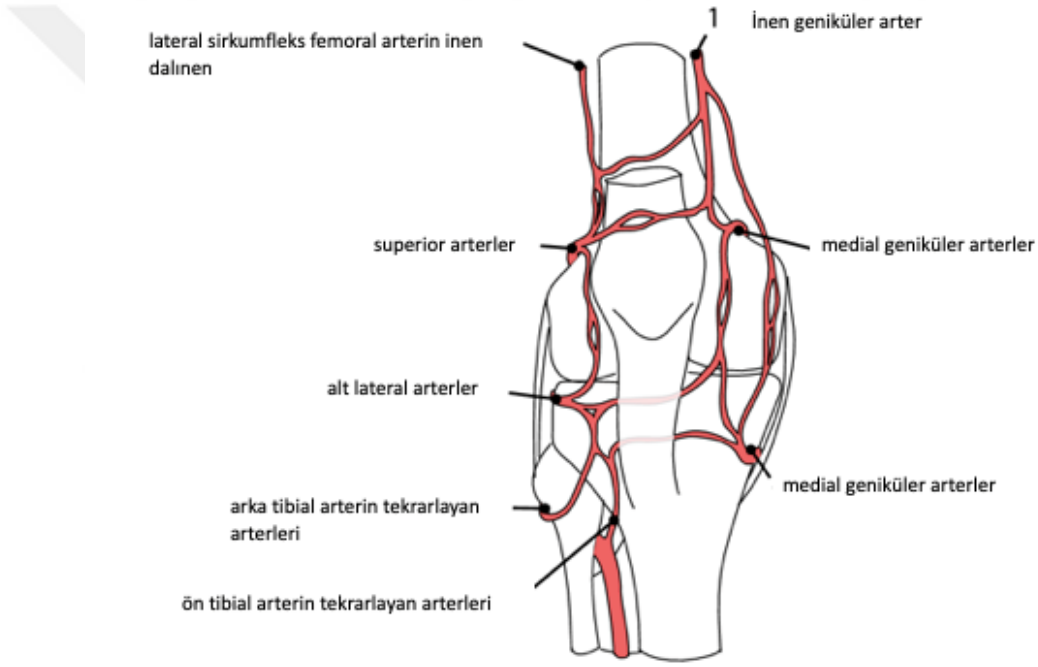
Diz yapıları ve fleksör kasların çoğu femoral sinirin dallarından innervasyon alırken, ekstansör kaslar ise tibial sinire ve ortak peroneal sinire dallanan siyatik sinirden innervasyon almaktadır. Diz çevresindeki tibial sinir ve dizin arkasındaki ortak peroneal sinirler en önemli sinirlerdir. Tibial sinir ve peroneal sinirler, duyu ve kas kontrolü sağlayarak alt bacak ve ayağa gitmektedirler. Büyük siyatik sinir, tibial siniri ve ortak peroneal siniri oluşturmak için dizin hemen üzerinde ayrılmaktadır. *Popliteal fossa* boyunca distal uzanarak *gas*trocnemius*'un* iki başı arasındaki aralıkta devam etmektedir. Birçok eklem, kas ve eklem dalı olan tibial sinirin en büyük eklem dalı posterior artiküler sinirdir. Ortak peroneal sinir dizin dışından ve bacağın önünden ayağa doğru hareket ederken, tibial sinir bacağın arkasından devam eder. Bu sinirlerin her ikisi de diz çevresindeki yaralanmalardan zarar görebilir. Tibial sinirin lateralinden *popliteal fossaya* (Şekil 2.7.) giren ortak peroneal sinir, *biceps femoris* tendonunun medial kısmında distale doğru ilerlemektedir. *Gastrocnemius'un* lateral başı ve *biceps femoris* tendonu arasından gerçek fibula arkasına devam eden ortak peroneal sinir, fibula boynunun yan kısmında ilerlemektedir. *Biceps femoris* tendonu ile *gastrocnemius'un* lateral başı arasından geçer ve fibula başının arkasından devam etmektedir (Scuderi, 2010; Kerver ve ark., 2013).



Şekil 2.7. *Popliteal fossa* (Ombregt, 2013)

2.1.3.2. Kan Damarları

Tibial sinir ile bacağın arka kısmından ayağa doğru ilerleyen dizin ana kan damarları, popliteal arter ve popliteal ven olmak üzere en büyük kan damarlarıdır. Popliteal arter ayağa ve bacağa kan taşıdığından hayati önem taşımaktadır. Popliteal arter beş geniküler artere ayrılmaktadır (Şekil 2.8.). Orta geniküler arter, sinovyumdan geçen ve AÇB ile ÖÇB'yi saran bir pleksus oluşturan dallara ayrılarak, kollajen liflerine paralel uzanan damarlarla anastomoz yapmaktadır. Diz çevresindeki anastomoz, femoral arteri popliteal ve anterior tibial arterlere bağlamaktadır. Patellayı çevreledikten sonra kemiğin ön yüzeyinde proksimal olarak beliren besleyici damarlara ayrılmaktadır. Dizin ön cildi hem medial hem de lateral taraftan kan alırken, birincil damarlanma medial taraftan gelmektedir. Popliteal ven ise kanı kalbe geri iletimini sağlamaktadır (Gray, 1918; Scapinelli, 1967; Berger, 1993; Scapinelli, 1997; Scott, 2017).



Şekil 2.8. Diz eklemi çevresindeki atardamar ağı (Hirtler ve ark., 2019)

2.1.4. Dizin Biyomekaniği

Hareket esnasındaki kasların, tendonların, kemiklerin ve bağların koordinasyonunu inceleyen hareket biyomekaniği, hem mekanik hem de anatomik olarak oldukça karmaşık bir eklem olan diz ekleminin hareketini incelemektedir. Diz ekleminin çeşitli hareketler sonucu gelişen kuvvetlere karşı gösterdiği direncin incelenmesi, hastalıklı diz eklemlerinin teşhis, tedavi ve rehabilitasyonu için önem arz etmektedir (Chhabra, 2001; Madeti ve ark., 2015).

Diz eklemini oluşturan bileşenleri olan bağlar ve kaslar hareket esnasında eklemin stabilitesini sağlamaktadır. Diz ekleminin gerçekleştirdiği ekstensiyon, fleksiyon, yanal rotasyon ve medial rotasyon olmak üzere dört ana hareket bulunmaktadır. Bunlardan ilki olan uzatma

(ekstensiyon); tibial tüberoziteye giren q*uadriseps femoris* tarafından gerçekleştirilirken, fleksiyon da *hamstrings, gracilis, sartroius* ve *popliteus* tarafından gerçekleştirilmektedir. Yanal rotasyon hareketi *biceps femoris* tarafından meydana gelirken, sonuncu hareket olan medikal rotasyon da *semitendinosus, gracilis, semimembranosus, popliteus* ve *sartorius* tarafından oluşmaktadır. Diz eklemi yukarı ve aşağı (kompresyon/distraksiyon), sola ve sağa kayma (medial/lateral) ve ileri ve geri hareket (anterior/posterior) olmak üzere altı derecede hareket kabiliyetine sahiptir (Silva, 2015; Madeti ve ark., 2015; Pinskerova ve Vavrik, 2020).

Alt ekstremite hareketlerini gerçekleştirilirken diz eklemi üzerine etki edebilecek aşırı yüklenme veya basınç, diz kinematiğinde anormalliğe, eklem ve eklem bölgesindeki dokularda hasar oluşumu ile birlikte ağrı gelişimi ve diz hareketlerinde kısıtlama meydana gelmektedir. Dünya genelinde yaygın bir problem olarak yaşanan osteoartrit ile gelişen kısıtlı hareket ve ağrı yaşayan hastaların yaşamlarını kolaylaştırmak üzere, diz eklemlerinin temas noktalarındaki basınç dağılımının belirlenmesi önem arz etmektedir. Dizin biyometrik modelleri dize uygulanan kuvvetlerin ve yüklerin değerlendirilmesinde kullanılarak tedavide kullanılacak iyileşme prosedürlerinin belirlenmesinde ve geliştirilmesinde faydalı olmaktadır (Woo ve ark., 1999; Madeti ve ark., 2015).

2.2. Osteoartrit

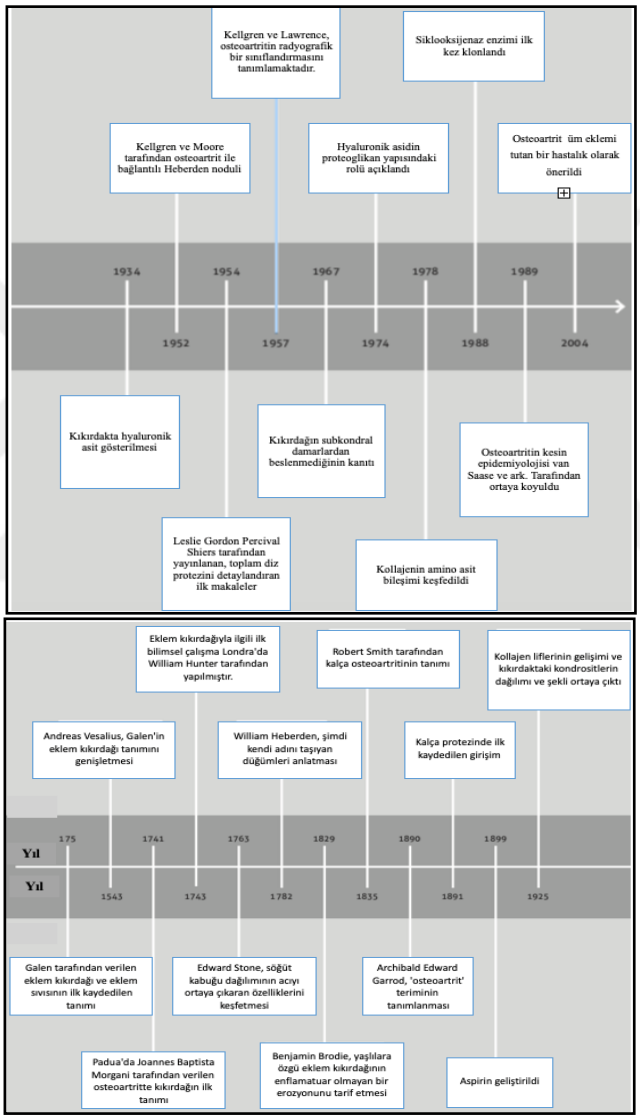
Eklem kıkırdağının aşınması sonucu gelişen, ağrı ve hareket kısıtlılığı gibi semptomlara sahip bir hastalık olan osteoartrit, artritin en yaygın şeklidir. OA'dan en çok etkilenen eklemler, genellikle vücuttaki yükü taşıyan eklemler olan el, diz ve kalça olarak belirtilmektedir (Chen, 2017; Katz, 2020; Akhter, 2021). Karmaşık bir sistem olması nedeniyle henüz net olarak anlaşılamayan OA'nın, gelişimi ve moleküler mekanizmaları araştırılmaya devam etmektedir. Osteoartrit patogenezini ve osteoartritin patolojik mekanizmalarını daha iyi anlamak için yeni yöntemlerin, yaklaşımların ve tekniklerin kullanılması gerekmektedir (Akhter, 2021; Tong, 2022).

2.2.1. Osteoartrit Tarihçesi

İnsan vücudunda en sık görülen osteoartrit, biyokimyasal ve genetik faktörlerin etkisiyle birçok eklemi etkileyebilen özellikte bir hastalıktır. OA'nın tarihçesine baktığımızda artrit türevli hastalıklar, ilk olarak gut hastalığının belirtileri olarak kabul edilmiş olup, 1782 yılında osteoartritin gut hastalığından bağımsız olduğu belirtilmiştir. 19. yüzyılın sonunda x-ışınlarının da medikal olarak uygulanmaya başlaması ile hastalık sürecinin anlaşılması gelişme kaydedilmiştir. Osteoartritin inflamatuvar erezyonu olduğu ilk defa 1829 yılında vurgulanmıştır (Zhang ve ark., 2013; Arden ve ark., 2018; Dobson ve ark., 2018).

Osteoartritin tüm eklemi ilgilendiren bir hastalık olduğunu ve iltihabın ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını savunan A. E. Garrod tarafından 1890'da 'osteoartrit' terimi ilk olarak tanımlanmıştır. Eklem kıkırdağının yapısındaki kollajenlerin yönü, kondrositlerin dağılımı ve

hyaluronik asitin varlığının keşfiyle ve eklem fonksiyonlarının anlaşılmasıyla birlikte osteoartrite yönelik bilimsel çalışmalar (Şekil 2.9.) büyük bir gelişme kaydetmiştir. Garrod'ın elde ettiği gelişmelerin ışığında daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar ile de osteoartritin eklemin dışında bulunan nörojenik bir lezyonla ilişkilendirilmesi ve tüm vücut sistemi ile bütüncül bir şekilde ele alınmasına yönelik görüşler gelişmiştir. Günümüzde eklemlerde hasar, ağrı ve hareket kısıtlılığına neden olan osteoartrit, iltihaplanma, bağışıklık ve merkezi sinir sistemi işlev bozukluğuna sahip çoklu bir hastalık olarak nitelendirilmektedir (Zhang ve ark., 2013; Arden ve ark., 2018; Dobson ve ark., 2018).



Şekil 2.9. Osteoartritin tarihsel zaman çizelgesi. a. Osteoartritin 175 ile 1925 yılları arasındaki zaman çizelgesi, b. Osteoartritin 1934 ile 2004 yılları arasındaki zaman çizelgesi (Arden ve ark., 2018)

2.2.2. Osteoartrit Etiyolojisi

Osteoartritin (OA) etyolojisi çok faktörlü olup, başlıca klinik semptomlar arasında kronik ağrı, eklem instabilitesi, eklemlerde fonksiyon kaybı yer almaktadır. Radyografik bulgularda da eklem aralığı daralması ve sertliğin gözlemlendiği OA, genellikle yaşlılarda yaygın görülse de, her

yaşta kıkırdakta meydana gelebilen travmatik yaralanmalar ve inflamatuvar hastalıklar, OA'ya yol açabilmektedir. Eklemlerde karmaşık bir hastalık olarak gözlemlenen OA eklem çevresi kemiğinin, sinovyal eklem astarının, eklem kıkırdağının ve destekleyici bağ dokusu elemanlarının yapısında meydana gelen dejenerasyon ile karakterize edilmektedir (Zhang ve ark., 2013). Dejeneratif eklem hastalığı olarak da bilinen OA en sık diz, eller, kalçalar ve apendiküler eklemleri etkilemektedir. Yaşlı yetişkinlerde sık görülen OA, normal hücre farklılaşmasındaki bozukluklar nedeniyle eklem kıkırdak yıkımına sebep olmaktadır (Vidotto, 2013; Kolasinski ve ark., 2020).

Erişkinlerde sık görülen OA, birincil ve ikincil OA olarak sınıflandırılmaktadır. Birincil OA hastalığın en yaygın olan türü olup, herhangi bir sebep olmaksızın eklem kıkırdağının yıpranma ve aşınma dejenerasyonu sonucunda meydana gelmektedir. Birincil OA'nın gelişmesine, cinsiyetin kadın, yaş, eklem yaralanması ve anatomik faktörler, obezite, kas zayıflığı gibi risk faktörlerine sahip olmak önemli ölçüde etkilemektedir (Michael ve ark., 2010; Sen, 2023; Hsu, 2022). İkincil OA ise daha önceden var olan bir eklem sorunu ile meydana gelmektedir. Buna zemin hazırlayan sorunlar arasında *osteopetrozis*, akromegali, metabolik bozukluklar, hiperürisemi, inflamatuvar artrit, avasküler nekroz, raşitizm, konjenital eklem bozuklukları, hiperparatiroidizm, osteokondrit dissekansları, doğuştan malformasyon, hemoglobinopati, malpozisyon (*varus, valgus*), Paget hastalığı, *okronozis*, Wilson hastalığı, skolyoz, romatizmal eklem iltihabı ve travmalara bağlı yaralanmalar yer almaktadır (Michael, 2010; Chen, 2017; Hsu, 2022; Sen, 2023).

2.2.3. Osteoartrit Epidemiyolojisi

En yaygın erişkin eklem hastalığı olan osteoartrit (OA) için yapılan epidemiyolojik çalışmalar hastalığın ortaya çıkmasında endojen (etnik köken, yaş, cinsiyet, kalıtım, menopoz sonrası değişiklikler) ve eksojen (kilo alma, travmalar, yaşam tarzı, rezektif eklem cerrahisi, alkol ve tütün kullanımı içeren bir yaşam tarzı) risk faktörlerinin etkili olduğu gözlemlenmiştir (Michael ve ark., 2010). Küresel olarak etkili bir hastalık olan OA, başta kadınlar olmak üzere dünya nüfusunun %7'sini etkilemektedir. Yaşlı yetişkinlerde hareket kısıtlayıcı ve yaşam kalitesini düşüren önemli bir neden olan OA'nın görülme oranını, yaşlı nüfus ve obezitedeki artış daha da arttırmaktadır (Zhang, 2010; Hunte ve ark., 2020; Kloppenburg ve Berenbaum, 2020).

Cinsiyet: Kadınlarda OA'nın oluşmasının olasılığı erkeklere göre daha yüksektir. En yaygın artrit türü olan diz OA'sı, kadınların %13'ünde ve 60 yaş üstü erkeklerin %10'unda görülmektedir. Bu durumun nedeni tam olarak açıklanamamış olsa da, yalnızca hormonal faktörlerle değil, genetik faktörler, anatomik farklılıklar ve önceki yaralanmaları da içeren çok faktörlü bir yapıdan kaynaklanabildiği düşünülmektedir (Zhang, 2010; Nelson, 2010; Neogi ve Zhang, 2013; Peshkova ve ark., 2022; Hsu ve Siwice, 2022).

Etnik Köken (Irk): OA'dan etkilenme ırksal ve etnik gruplar arasında da farklılık göstermektedir. Diz ve kalça OA'sının Afro-Amerikalılarda gelişme olasılığı daha yüksektir. Özellikle yapılan çalışmalar göstermiştir ki, Afro-Amerikalı erkeklerin kalça OA yaygınlığının,

beyazlara göre daha yüksek oranda sahiptirler. Bir başka OA çalışmasındaki sonuçlara göre de Çinli kadınlardaki OA prevalansı beyaz kadınlardan daha yüksektir (Zhang ve ark., 2001; Vina ve Kwoh, 2018).

Yaş: OA'nın risk faktörlerinden biri olan yaş sinovyum, kıkırdak, kas ve subkondral kemik olmak üzere tüm eklem dokularını etkilemektedir. Yaşlanmayla birlikte meydana gelen eklem kıkırdak incelmesi ve zayıf kas gücü gibi durumlar OA'nın oluşma olasılığını arttırmaktadır. Eklem kondrositleri üzerinde yapılan çalışmalar OA'nın, yaşlanmayla birlikte ortaya çıkan faktörlerin hücrelerin oksidatif stres gibi zorluklarla başa çıkma yeteneğini azaltabilen biyolojik değişikliklere kümülatif maruziyetin bir sonucu olduğunu göstermiştir (Zhang ve ark., 2010; Neogi ve Zhang, 2013; Chen ve ark., 2017).

Obezite: Diz OA'sı için önemli bir risk faktörü olan obezite, OA'nın oluşma olasılığını arttırmakta ve hastalığın ilerlemesini daha da hızlandırmaktadır. Obezitede OA, diz eklemine etki eden yük miktarının artışı ve sitokinlerin salgılanmasıyla birlikte yağ dokusunda sistemik inflamasyonun tetiklenmesine bağlı olarak daha da şiddetli gelişmektedir (Allen, 2015; Chen, 2017). Araştırmalara göre vücut kitle endeksi 25'in üstünde olan hastalarda meydana gelecek kilo kaybı OA'nın gerilemesi için önemli bir unsurdur (Neogi ve Zhang, 2013; Hsu ve Siwiec, 2022).

Spor Yaralanmaları: Travmaya bağlı diz yaralanmaları, eklem çıkığı, kıkırdak dokusu yırtılması, transartiküler kırık, bağ gerilmeleri ve yırtıkları, OA'nın genç erişkinlerde görülmesinin başlıca sebeplerindendir. Klinik raporlara göre travmatik diz OA'sı gelişen bireylerde, sitokin ve kemokin üretimi artışına ve sinovyal doku gelişmesine bağlı olarak inflamasyon belirtileri gözlemlenmiştir (Zhang, 2010; Neogi ve Zhang, 2013; Chen, 2017).

İltihaplanma: Yapılan araştırmalarda inflamasyonun OA üzerindeki etkisi tam olarak anlaşılamamakla birlikte, inflamasyonun OA'da kronik olduğu tespit edilmiştir. OA'da bulunan kronik düşük dereceli inflamasyonun hastalık gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Mora ve ark., 2018). Sinovyal dokuda histolojik inflamasyonun varlığı, osteoartrit patogenezinde çok önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (Arden ve ark., 2018). Bu nedenle inflamasyonun hastalığın ilk evresinde ve ileri evrelerinde daha sık görülmesi yaygın bir OA bulgusu olarak kabul edilmektedir. OA ilerlemesi sırasında, kıkırdak, subkondral kemik ve sinovyum dahil olmak üzere tüm sinovyal eklem, iltihaplanma sürecine dahil olmaktadır. Diyabetik ve yaşlı hastalar incelendiğinde, L-1β ve TNF-α gibi inflamatuvar faktörlerin ve kemokinlerin, hem kondrositlerde hem de sinoviyal hücrelerde NF-κB sinyalinin aktivasyonuna yol açan sistemik inflamasyona katkıda bulunduğu bildirilmiştir. İnflamatuvar hücrelerinin sinovyuma infiltrasyonu olarak bilinen sinovit, OA'nın ilk evrelerinde görülmektedir. Plazma proteinleri (OA için bir belirteç olarak önerilen C-reaktif protein), nitrit oksiti, sitokinler (TNF, IL1β, IL6, IL15, IL17, IL18, IL21) ve büyüme faktörleri (TGFβ, FGF'ler, VEGF, NGF), lökotrienler (LKB4), prostaglandinler (PGE2) olmak üzere çok sayıda inflamatuvar aracı sinovyal sıvıda bulunmaktadır (Chen ve ark., 2017; Mora ve ark., 2018).

Genetik eğilim: OA üzerinde yapılan çalışmalar OA'nın kalıtsal ve eklem bölgesine göre değişiklik olabileceğini göstermiştir. OA hastalıkların %30-65'i kalıtsal yatkınlık olduğu bilinmektedir. El ve kalça OA'sının, diz OA'sına göre daha yüksek genetik yatkınlık olduğu bildirilmiştir (Vina, 2018; Arden, 2018; Zhang ve Jordan, 2010). OA ile ilgili genetik ilişkilendirme çalışmalarında genlerin ve sinyal yolaklarının OA'nın oluşmasının etkileri tespit edilmiştir. Fonksiyon kaybına ve normal tip II kollajen üretimine neden olan COL2A1 mutasyonları ile gelişen Stickler sendromu, OA'ya neden olan genetik problemlerden biridir. Ayrıca DNA transkripsiyonunun anormal düzenlenmesi yoluyla hasar görmüş eklem dokularının onarım yeteneğinin azalması da OA'ya neden olan genetik faktörlerdendir (Francomano ve ark., 1987; Van de Laar ve ark., 2011; Neogi ve Zhang, 2013; Chen ve ark., 2017).

2.2.4. Osteoartritin Patofizyolojisi

Tüm eklem dokusunu etkileyen bir hastalık olan osteoartritte (OA) ilk olarak yüzey düzensizliği, fibrilasyon, lokal erozyonlar meydana gelmekte ve bunlar daha sonra kemiğe kadar uzanarak sürekli eklem yüzeyinde genişleme eğilimi gösterdiği görülmektedir. Kıkırdak matrisinin bozulmasıyla birlikte gerçekleşen bu değişimlere sonrasında osteofit oluşumu ve subkondral plakanın kalınlaşmasıyla birlikte kemik yapısında meydana gelen değişiklikler ve sinovyal membranda inflamasyon da eşlik etmektedir. OA'da gözlenen patolojik durumlar, osteofit oluşumu, sertlik, şişme, kıkırdak bozulması, kemiğin şekil değiştirmesi ve sinoviyal inflamasyon şeklinde gözlemlenmektedir. Eklem kenarlarında oluşan kemik ve kıkırdak çıkıntıları olarak tanımlanan osteofitlerin, mekanik eklem yüklemesi ve lokal eklem stresleri tarafından tetiklenerek oluştuğu belirtilmektedir (Arden ve ark., 2018; Nagosa ve ark., 2002; Sen, 2023).

Tip II kollajen, kondrositler, su ve proteoglikanlardan oluşan eklem kıkırdağında meydana gelebilecek bozulmaya karşın bileşenler arasında sentezle sürekli bir denge sağlanarak eklem sağlığı korunmaktadır. OA'lı hastalarda ekstraselüler matriks (ESM), sinovyal eklemlerde parçalanarak, tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) gibi inflamatuvar aracılarını üretmektedir. İnflamatuvar aracıları da ESM'nin tüm bileşenlerini parçalayabilen metalloproteinazların (MMP'ler) üretimini uyarmaktadır. OA sürecinde matris metalloproteazlar aşırı üretilerek, proteoglikan ve kollajen kaybına sebep olmaktadır. İlk aşamada kondrositler metalloproteazların doku inhibitörlerini salgılayarak proteoglikanların sentezini arttırarak onarmaya çabalamaktadır. Ancak onarım sürecinde artan su içeriği, düzensiz kollajen ile eklem kıkırdağında esneklik kaybı meydana gelmektedir. Bu da neticede proteoglikanın azalmasına neden olarak kıkırdağın çatlamasına ve eklem erezyonuna sebep olmaktadır (Hsu ve Sixic, 2022).

Anormal eklem kıkırdağına sebep olan yaşlanma, cinsiyet, kas zayıflığı, obezite ve eklem yaralanması gibi risk faktörleri kıkırdak bileşenini, matrisini ve kondrosit farklılaşmasına ve dolayısıyla işlev dejenerasyonuna sebep olmaktadır (Arden ve ark., 2018; Sen ve Hurley, 2023). OA mikroskobik düzeyde incelendiğinde, kıkırdakta meydana gelen yaralanma sonrasında kollajen

matrisi zedelenerek kondrositlerin çoğalmasına ve kümelenmesine neden olduğu gözlenmektedir. Artış gösteren kondrositlerde gerçekleşen fenotipik değişimin etkisiyle, osteofitlerin oluşumu gözlenmektedir. Kollajen matrislerinin uğradığı hasar arttıkça subkondrol kemik kalınlaşması gelişerek, daha ileri düzeyde ender de olsa kemik kisti oluşumuna sebep olmaktadır. En son aşamada OA'larda nadiren kemik erozyonları da görülebilmektedir (Sen ve Hurley, 2023).

OA, tanımlandığı zamandan itibaren uzun bir süre boyunca her ne kadar hiyalin kıkırdak kaybına bağlı bir hastalık tablosu çizilmiş olsa da, günümüzde tüm organlarla ilişkili bir hastalık olduğu belirtilmiştir. Diz OA'sının sadece yaşlılık ile bağlantılı olmadığı, kıkırdakta meydana gelen bozulmalardaki enzim düzeyleri kıyaslanarak elde edilen bulgularla doğrulanmıştır. Yaşlanmaya bağlı gelişen diz OA ve diğer risk faktörleri sonucunda gelişen diz OA'daki kıkırdak meydana gelen bozulmadaki enzim düzeyleri kıyaslandığında, yaşlanan kıkırdaktaki enzim düzeyleri normal iken herhangi bir risk faktörü neticesinde gelişen enzimlerin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Herrero-Beaumont, 2007; Reginster, 2007; Kahan, 2009; Eriksen, 2014; Hsu ve Sixic, 2022).

2.2.4.1. Eklem Yapısındaki Değişiklikler

Diz, kalça ve eller osteoartritte en sık etkilenen yapılar olup gözlemlenen radyografik değişimler (Şekil 2.10.a.) osteofitoz, eklem boşluğun daralması, subkondral kemikteki kistler, temas yüzeyinde kemiğin yoğunlaşması, eklem kapsülünün hipertofisi şeklindedir. OA'dan etkilenen bir diğer bölge olan omurgada (Şekil 2.10.b.) ise apofiz ve kostovertebral eklemlerde alt lomber ve lumbosakral omurların intervertebral disklerinde dejeneratif bölgeler gözlemlenmektedir (Arden ve ark., 2018; Loeser ve ark., 2012; Hunter ve ark., 2013).

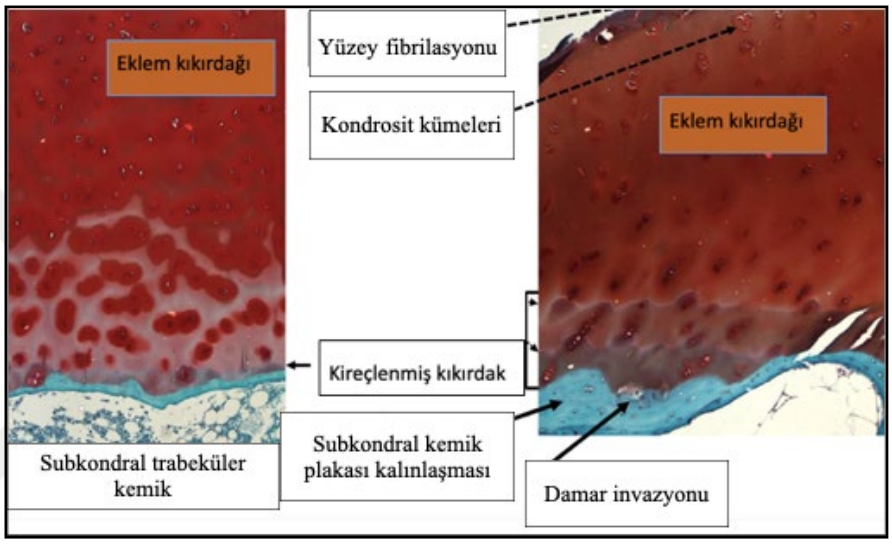


Şekil 2.10. OA'nın radyografi belirtileri a) Sağ dizde gözlemlenen osteoartritin radyografik belirtileri, b) Omurgada gözlemlenen osteoartritin radyografik belirtileri (Arden ve ark., 2018)

2.2.4.2. Kıkırdak Bozulması

OA gelişiminde kondrositler aktive olarak fenotipik bir değişime uğrayarak, kıkırdak matrisinin fibrilasyonu ve bozulması (Şekil 2.11.), kondrosit kümelerinin ortaya çıkması ile

bağlantılı olarak kıkırdak kalsifikasyonunda artış ve subkondral kemikten vasküler penetrasyon meydana gelmektedir. Eklem kıkırdağındaki matrisi oluşturan kondrositler, matriste bulunan proteoglikanlar ve özellikle tip II kolajenler gibi bileşenler normal bir eklemde denge halindedir. OA durumunda kıkırdak yapısında meydana gelen değişimler ile kondrositler elastik ve dirençli olan matris üretemez hale gelmektedirler. Bu durumda kondrositler ise daha küçük proteoglikanlar, parçalayıcı enzimler, nitrik oksitler, inflamatuvar aracı olan inrelökin IL-1β (İnterlökin-1 beta) gibi daha fazla iltihaplanma aracılarını üretmeye başlamaktadır. Bununla birlikte gelişen parçalanma olayı eklem kıkırdağın bozulmasına kadar ilerleyebilmektedir (Loeser ve ark., 2012; Arden ve ark., 2018; Goldring, 2012; Hunter ve ark., 2013).



Şekil 2.11. OA gelişiminde kıkırdakta meydana gelen bozulma (Goldring, 2012)

Eklem kıkırdağında sinir yapısı olmadığı için innervesyonlu dokular etkilenene kadar ilk başta klinik olarak belirtiler görülmemektedir. OA'da kıkırdak kaybına aşırı yüklenme, travma, yaşlanma, altta yatan genetik problemler, sinovyal sıvıda biriken inflamasyon gibi faktörler neden olabilmektedir (Goldring, 2012; Loeser ve ark., 2012; Hunter ve ark., 2013; Arden ve ark., 2018).

2.2.4.3. Osteoartritte Subkondral Kemiğin Rolü

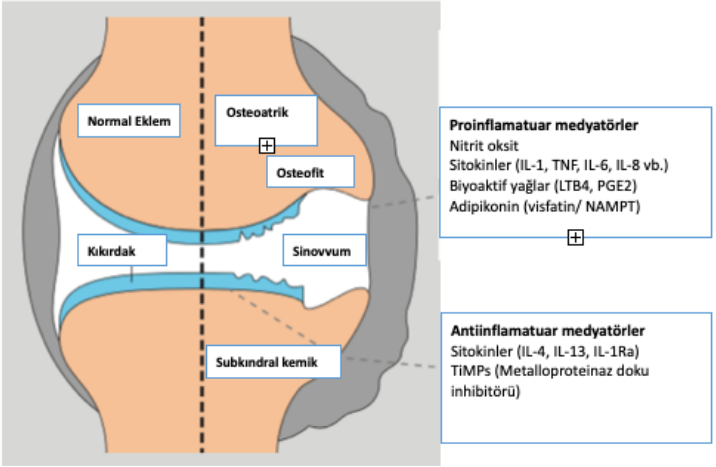
Kortikal bir kemik plakası olan subkondral kemik, kalsifiye kıkırdağın hemen altında yer alan düşük yoğunluklu süngerimsi bir kemiktir. OA patogenezinde etkili olduğu düşünülen subkondral kemik, eklemlerde kıkırdağı besleyici, şok emici ve destekleyici görevlerini yerine getirmektedir. OA'nın erken evrelerinde subkondral kemik kaybı ve kemiğin yeniden şekillenmesi gözlemlenmektedir. Buna rağmen kıkırdak dejenerasyonunun tetikleyici faktörü mü ya da ikincil bir sonucu olarak mı ortaya çıktığı henüz netliğe kavuşmamıştır (Li, 2013; Arden ve ark., 2018).

OA'nın erken evresinde kemiğin yeniden şekillenmesinin artmasında hücresel sinyaller, vasküler invazyon, kemik-kıkırdak etkileşimi gibi birkaç farklı mekanizmanın etkili olduğu

varsayılmaktadır. OA'nın erken evresinde zamanla subkondral plakada gelişen mikro çatlakların kıkırdak-kemik etkileşmesine yol açabileceği öngörülmüştür. Bozulan kıkırdaklarda IL-1 ve IL-6 gibi inflamasyon aracılarının yüksek düzeylerde olduğu tespit edilmiştir. Yoğun bir vasküler yapıya sahip bir doku olan subkondral kemikte OA'nın erken patolojisinde meydana gelen yeniden şekillenme, artan vaskülarite ile ilişkilendirilmektedir. Artan vaskülariteye karşı önlem alınmadığında, damarların eklem kıkırdağının derin katmanlarına kadar ulaşması ve kıkırdağın beslenmesinin olumsuz etkilemesi söz konusu olabilmektedir. Meydana gelen bu değişim kondrositlerin matris metalloproteinazlar gibi katabolik enzimleri sentezlemesini tetikleyerek kıkırdak dejenerasyonuna sebep olabilmektedir (Loeser ve ark., 2012; Arden ve ark., 2018).

2.2.4.4. Osteoartritte Sinoviyal İnflamasyon

Sinovyal zar ve sinovyal sıvı, sinovyumda yer almaktadır. Eklem boşluğunu kaplayan yarı geçirgen, ince bir hücresel tabaka olan sinovyal zar, eklem içi ve eklem dışı moleküler transferi düzenlemektedir. Sinovyal sıvı, besin maddelerini eklem kartilajına ileten ve eklem yüzeyinin sürtünmesini önleyen, kayganlaştırıcı yapıda olan lubrisin ve hyaluronik asit gibi bileşenlerin yer aldığı ortamdır. OA'da ağrı gibi klinik semptomlar ile gözlemlenen sinovyal inflamasyon (sinovit), eklemdeki doku hasarına ve parçalanmasına yanıt olarak proinflamatuvar ve antiinflamatuvar mediyatörlerin (sitokinlerin) sentezi ile ortaya çıkmaktadır. Sinovit OA'da (Şekil 2.12.) genellikle lokalize olup, hasarlı kıkırdak ve kemiğe yakın alanları etkilemektedir (Krasnokutsky, 2008; Monemdjoul, 2010; Berruto ve ark., 2016).



Şekil 2.12. Sinovyumun OA patofizyolojisindeki şekli (Arden ve ark., 2018)

Sinovit, histolojik olarak incelendiğinde inflamasyonlu hücrelerin sinovyuma sızması olarak da tanımlanmaktadır (Krasnokutsky, 2008; Monemdjoul, 2010; Berruto ve ark., 2016).

Erken OA'da gözlemlenebilen sinovit, düşük lökosit sayımları nedeniyle uzun bir süre inflamatuvar olmayan artrit olarak sınıflandırılmış ancak artroskopik çalışmalar neticesinde sinovyumun lokalize proliferatif ve inflamatuvar değişikliklerinin OA hastalarının büyük bir

kısmında oluştuğu, bunların birçoğunun aktif inflamasyona sahip olmadığı tespit edilmiştir. Klinik belirtilerinde gözlemlenen ağrının yanı sıra OA tanısı için uygulanan hem ultrason hem de manyetik rezonans görüntülemelerinde sinovyal kalınlaşma da saptanmaktadır (Ayral ve ark., 1996; Kristoffersen ve ark., 2006; Berruto ve ark., 2016). OA'lı bireylerin klinik bulgularında sıcaklık, eklem efüzyonları, ağrı ve sertlik gibi eklem inflamasyonu belirtileri, sinovyal efüzyon ve sinovyal sıvı birikiminden kaynaklı olarak görülebilmektedir. Sinovitte, sinovyal sıvıda plazma proteinlerinin ve sitokinlerin yüksek oranda olmasının yanı sıra, OA kaynaklı sinovyal hücrelerin ve kondrositlerin yüksek miktarda mediyatör (TNFα , nitrik oksit (NO) ve IL1β gibi) ürettiği gözlemlenmiştir. Klinik hayvan deneylerinde yapılan çalışmalarda, eklem dejenerasyonuna inflamasyonun, osteofitlerin oluşumuna da sinovyal makrofajların etkilediği gözlemlenmiştir. Bu da OA'nın patolojik özelliklerinin azaltabilme ve önlenebilme karakterine sahip olmasıyla, inflamasyonun terapötik olarak hedefleyerek hastalığın seyrinin kontrol edilerek yavaşlatılabileceğini mümkün olduğunu göstermektedir (Pelletier ve ark., 2001; Glasson, 2007; Sellam ve Berenbaum, 2010; Berruto ve ark., 2016).

OA patogenezinde eklemlerdeki inflamasyonun kaynağı sistemik de olabilmektedir. Kronik inflamasyon sistemik dolaşıma dahil olarak, eklemlerde OA'nın lokal olarak gelişmesine yol açabilmektedir. Yağ dokusu, dolaşımdaki proinflamatuvar sitokinlerin önemli bir kaynağı olup, artan vücut yağ kütlesinin kronik inflamasyon ile ilişkilendirilmiştir. Obezite ile kanda dolaşıma katılan proinflamatuvar sitokinler ve adipokinler gibi inflamatuvar mediyatörlerin, sistemik inflamasyonun ortaya çıkmasına katkıda bulunarak bireylerde OA gelişimine sebep olduğu bilinmektedir. Bu nedenle OA'lı hastalarda yaşamsal değişikliklerle desteklenerek sağlanacak kilo kaybı ile kronik inflamasyonun azaltabileceği bilinmektedir (You, 2006; Berenbaum, 2013).

Sitokinler, kemokinler, adipokinler, nöropeptitler ve lipid inflamatuvar aracılar dahil olmak üzere çözünür inflamatuvar faktörler OA patogenezinde rol oynamaktadır (Kapoor, 2011; Sokolove, 2013). OA patofizyolojisinde proinflamatuvar sitokinlerin kıkırdak, sinovit ve ağrı yıkımında önemli rol oynadığı gözlenmiş olup, inflamasyonun türü, şekli ve hastalığın seyrinin belirlenmesinde belirteç olarak kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada OA serumunda ve sinovyal sıvıda IL-6 ve IL-8 seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir. OA patolojisinde yer alan ve sinovyumda üretilen sitokinler proinflamatuvar sitokinler, antiinflamatuvar sitokinler ve kemokinler olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Bloom, 2007; Monemdjou, 2010; Mathiessen ve Conaghan, 2017; Molnar ve ark., 2021).

Proinflamatuvar sitokinler: OA inflamasyonundaki en önemli mediyatörlerden biri olan sitokinler arasında IL6 (İnterlökin-6), IL15 (İnterlökin-15), IL17 (İnterlökin-17), IL18 (İnterlökin-18), IL21 (İnterlökin-21), IL1β (İnterlökin-1 Beta), TNFα (Tümör nekroz faktörü) ve lösemi inhibitör faktörü bulunmaktadır. IL1β ve TNFα'nın kıkırdak bozulmasını tetiklediği tespit edilmiştir (Steenvoorden, 2007; Kapoor, 2011; Sokolove, 2013; Wojdasiewicz, 2014).

IL1β: IL1β'nın OA hastalarında subkondral kemik tabakasında, kıkırdakta, sinovyal membran ve sinovyal sıvıda yüksek oranda bulunmaktadır. OA inflamasyonunun erken evrelerinde eklemlerden kondrositler, osteoblastlar ve sinovyal makrofajlar tarafından salgılanan proinflamatuvar sitokinlerden biri olan IL1β, OA'nın birincil katabolik sitokin olarak bilinmektedir. IL1β, proteoglikanın ve tip II kollajenin üretimini baskılayarak matris metalloproteazların (MMP) salgılanması için sinovyal hücreleri uyarmaktadır (Cameron ve ark.,1994; Benito ve ark., 2005; Wojdasiewicz ve ark., 2014).

IL-15: IL-15 (İnterlökin-15)'in, OA inflamasyonun ileri evrelerinde sinovyal sıvıda atış gösterdiği tespit edilmiştir (Martel-Pelletier ve ark., 2005; Scanzello ve ark., 2009). İskelet kası, inflamatuvar hücreler, fibroblastlar, sinoviyositler ve fagositler gibi hücrelerden üretilen IL-15'in MMP üretiminde artış meydana getirdiği bilinmektedir (Molnar ve ark., 2021).

IL-6: Bir diğer önemli proinflamatuvar sitokin olan IL-6, vücutta pek çok inflamatuvar hastalıkta rol almakta olup, OA'da osteoblastlar, sinoviyositler ve kondrositler tarafında üretilmektedir. OA hastaların klinik bulgularında eklemlerindeki sinovyal sıvıda IL-6 artışının oldukça yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir (Akdis, 2011; Sanchez, 2009). Eklem dokularında IL-6'nın genellikle TNFα ve IL-1β'nı tetiklemesiyle üretilmekte olup diğer sitokinlerde olduğu gibi MMP grubundaki enzimlerin üretimini arttırırken, tip II kollajen üretiminde azalmaya neden olmaktadır (Wojdasiewicz ve ark. 2014; Molnar ve ark., 2021).

IL-17: Proinflamatuvar sitokinlerden biri olan interlökin-17 (IL-17)'nin, kondrositler tarafından proteoglikanların sentezini inhibe ettiği ve MMP grubu enzimlerinin üretimini teşvik ettiği gözlemlenmiştir (Wojdasiewicz, 2014; Molnar ve ark., 2021).

IL-18: Interleukin-18 (IL-18) de kondrositler, osteoblastlar, fibroblast benzeri sinoviyosit (FLS) ve makrofajlar tarafından üretilmektedir. OA hastalarındaki sinoviyal sıvıda konsantrasyonları oldukça yüksektir. IL-18 kondrositlerde ve sinoviyositlerde IL-6 ve TNF-a'nın sentezini tetikleyerek, osteoartritin patogenezindeki proinflamatuvar sitokinler ve diğer inflamatuvar mediyatörlerin birbirini etkilemesi durumuna katkıda bulunmaktadır (Fu ve ark., 2012; Wojdasiewicz, 2014; Molnar ve ark., 2021).

IL-21: Vücudun bağışıklık sürecinde de aktif rol oynayan IL-21, doğal öldürücü hücreler, foliküler T hücreleri ve Th17 hücreleri tarafından üretilmektedir. IL-21'in konsantrasyonu romatoid artritte sinoviyal sıvılarındaki IL-17 ve IL-6 seviyeleri ile ilişkin olmasına rağmen, OA'da kıkırdak dejenerasyonu olan hastalarda tespit edilmiş, ancak immünolojik mekanizmadaki rolü henüz net olarak saptanamamıştır (Scanzello, 2009; Spolski, 2014; Molnar ve ark., 2021).

TNF-α: Majör bir proinflamatuvar sitokin olan tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α)'nın OA patogenezi ile yakından ilişkilidir. TNF-α da IL-1β'yı eklemlerde sentezleyen hücreler tarafından salgılanır ve kıkırdak, sinovyal sıvı, sinovyal membran ve subkondral kemikte tespiti OA patogenizini doğrulamaktadır (Wojdasiewicz ve ark., 2014). TNF-α tip II kollajen ve kondrositlerin proteoglikan bileşenleri sentezini bloke etmektedir. Proinflamatuvar özelliği bakımından TNF-α'nın

inhibisyonunun OA tedavisinde terapötik bir seçenek olarak değerlendirilebilmektedir (Séguin 2003; Oo, 2018). IL-1 ve TNF-α arasındaki etkileşim neticesinde kollajenle indüklenen romatoid artritte, TNF-α'nın akut inflamasyonu etkilediği, IL-1'in de kıkırdak erozyonu ve enflamasyonun sürdürülmesinde etkin olduğu tespit edilmiştir (Goldring, 1970; Li ve ark., 2018; Molnar ve ark., 2021).

Antiinflamatuvar sitokinler: OA'nın gelişmesine ve ilerlemesine neden olan IL-1β ve TNF-α gibi sitokinleri inhibe eden düzenleyici sitokinlerdir. IGF (İnsülin benzeri büyüme faktörü), TGF-β (Transforme edici büyüme faktör-beta), IL-4 ve IL-10, OA patogenizinde etkili olduğu bilinen antiinflamatuvar sitokinlerdir. Antiinflamatuvar sitokinler, proinflamatuvar sitokinlerin etkisini engelleyerek inflamatuvar yanıtı ve eklem kondrositlerinin parçalanmasını inhibe edebilir ve OA'nın ilerlemesini yavaşlatabilmektedir (Molnar ve ark., 2021; Muzamil ve ark, 2021).

IL-4: Eozinofiller, mast hücreleri, bazofiller ve Th2 hücreleri tarafından salgılanan interlökin-4 reseptörü (IL-4)'ün, OA için yapılan çalışmalarda sinovyal sıvı ve sinovyal hücrelerdeki konsantrasyonunu artış gösterdiği saptanmıştır. IL-4 sahip olduğu kondroprotektif etkisi ile IL-6, TNF-α ve IL-1β gibi sitokinlerinin ve COX-2, PLA2 ve COX-2 gibi inflamatuvar aracılarının üretilmesini azaltmaya yönelik etkisi mevcuttur. (Schlaak, 1996; Wagner, 1997; Schuerwegh, 2003 Wojdasiewicz, 2014).

IL-10: Makrofajlar, T hücreleri ve kondrositler tarafından üretilen IL-10, kıkırdaktaki enflamasyon ve erozyonu sürdüren IL-1β ve akut inflamosyonu tetikleyen TNF-α gibi inflamatuvar sitokinlerin sentezini ve salgılanmasını inhibe ederek OA gelişimini önlemede etkili olduğu bilinmektedir (Rudwaleit, 2000; Smith, 2011; Bigoni, 2019; Molnar ve ark., 2021).

IGF: Peptit hormon olan IGF, IGF-1, IGF-2 ve alt reseptörlerinden oluşmaktadır. Hücre proliferasyonunu, farklılaşmasını ve apoptozunu, protein ve glikojen sentezini düzenleyen ve kondrogenezi indükleyen IGF ve IGF'nin sinyal yolakları OA tedavisinde kıkırdak onarımında önemli bir rol taşımaktadır. IGF-1 çeşitli hücreler tarafından sentezlenebilmekte, vücutta pek çok sistem üzerinde düzenleyici ve onarıcı etkiye sahiptir (McAlindon, 1993; Shah, 2020). Kondrosit yaşlanmasını ve ölümünü inhibe eden IGF-1, kıkırdakta kondrositlerin çoğalmasını, kıkırdak matris kollajeni ve kıkırdak matris proteoglikanlarını sentezleyebilme özelliğine sahiptir. Yapılan bazı çalışmalarda da, IGF-1 ve TGF-β birlikteliğinde proteoglikanların daha çok üretildiği, kondrositlerdeki tip II kolajenin de miktarının arttığı tespit edilmiştir (McQuillan, 1986; Longobardi, 2006; Davies, 2008).

TGF-β: TGF-β1, 2 ve 3 olmak üzere çok sayıda yapıdan oluşmakta ve proteoglikan ve tip II kollajen sentezini uyarmakta sorumlu bir sitokin ve büyüme faktörü olarak bilinmektedir (Grimaud ve ark., 2002). Kıkırdak, sinovyal dokular ve kemikte oldukça etkili olan TGF-β, kıkırdak homeosteazını korumada önem teşkil etmektedir (Van Lent, 2004; Scanzello, 2008; Blaney Davidson, 2007). TGF-β'ler, hücre çoğalması, doku oluşumu, onarımı ve iltihaplanma gibi bir çok biyolojik süreçte aktif rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda OA'lı bir hastadaki TGF-β

konsantrasyonunun, sağlıklı bireye göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Dickson, 1995; Van der Kraan, 2018).

Kemokinler: Kemotaktik sitokinler olarak da bilenen kemokinler, OA eklemlerinde gözlemlenen iltihapta önemli bir rol oynamaktadırlar. Bağışıklık efektör hücrelerinin iltihap bölgelerine taşınması ve yönlendirilmesinde etkilidirler. OA'da etkili olan en önemli CC ailesi kemokinleri CCL2, CCL3, CCL4 ve CCL olarak belirtilmektedir (Scanzello, 2017).

Adipokinler: Yağ dokusundan gelişen adipokinler, obeziteyle ilişkili inflamasyon gelişimindeki rolleri nedeniyle OA ile ilişkilendirilmiştir. Diz OA eklemlerinde infrapatellar yağ pedleri, sinovyum, kondrositler, osteoblastlar ve osteoklastlar tarafından üretilen adipokinlerin, sistemik ve sinovyal sıvıdaki seviyesinin sinovyal inflamasyon ve kıkırdak dejenerasyonu ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle OA'nın takibinde adipokinler biyobelirteç olarak kullanımının uygunluğu vurgulanmıştır. Leptin, vasfatin, tesistin ve adiponektin adipokinlerden birkaçıdır (Sokolove ve Lepus, 2013; Poonpet ve Honsawek, 2014).

Prostaglandinler: OA iltihabı ve ağrısında etkin olan prostaglandinler, anormal subkondral kemik yeniden şekillenmesi, kıkırdak dejenerasyonu ve sinovyal iltihaplanma gibi pek çok patolojik süreçten sorumlu olduğu bilinmektedir. Prostaglandinlerin iltihaplı dokuda biyosentezleri arttığından, inflamasyonun tespit edilmesinde önemli bir belirteçlerdir (Martel-Pelletier ve Pelletier, 2003; Sokolove ve Lepus, 2013).

2.2.5. Osteoartritin Histopatalojisi

Normal bir sinovyal eklemde kemik uçları kollajen tip II, proteoglikan ve sudan oluşan hiyalin kıkırdak tabakası kemik uçlarına bağlı bir şekilde bulunmaktadır. OA hastalarında ise özellikle erken dönemlerde proteoglikan kaybı gözlemlenmektedir. Kıkırdak yapısındaki en belirgin hasar gözlemi ışık mikroskobuyla yapılarak, kıkırdak yumuşaması ve su birikimi ile sonuçlanan kıkırdak fibrilasyonu ve ardından gelişen çatlaklar olduğu belirtilmiştir. Kıkırdakta gerçekleşen kayıpla birlikte kondrosit çoğalması ve aktivasyonu tetiklenmektedir. *Pannus* adı verilen bölgeye fibroblastlar yerleşerek ilerleyen zamanlarda kalsifiye olabilmektedir. Zamanla küçük damarlarla da sarılan bölge, OA'nın son aşamasında subkondral kemik kalınlaşarak, eklem kemiklerinin kenarlarında osteofit adı verilen çıkıntılar olmaktadır (Sulzbacher, 2013; Khlopas, 2019).

Histopatolojik olarak bir kıkırdağın değerlendirilmesi için uygulanan sistemlerin kullanışlılık, basitlik, genişletilebilirlik, ölçeklenebilirlik ve karşılaştırılabilirlik gibi beş prensibe sahip olması gerekmektedir. OA'nın histopatolojik değerlendirmesi Collins tarafından geliştirilen makroskobik derecelendirme ve Mankin tarafından geliştirilen mikroskobik Histolojik Histokimyasal Sistemi ile yapılmaktadır. Makroskobik OA patalojik değerlendirmesi diz dokularının, distal femurun gözlemiyle kemik yapısındaki değişiklikler, kıkırdak yüzey dokusu ve lezyon boyutunu ele alarak I-IV arası derecelendirmeye dayandırılmıştır. Kondrositler tarafından SO_4 alımının miktarına göre OA hastalığı derecelendirilmiştir. Yapılan çalışmalarla OA'da meydana

gelen kıkırdak hasarının mekanik bir olaydan ziyade biyolojik bir durum olduğu ortaya koyulmuştur (Collins, 1939; Collins,1949; Mankin, 1971).

OA'nın mikroskobik olarak değerlendirmesinde ise, osteoartritik femur başlarının cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra kireçten temizlenen kısımların Safranin O- Fast Green ile boyanarak mikroskobik olarak incelenmesi yapılmaktadır. Mankin'in histopatoloji derecelendirme sisteminde 14 puanlık bir skor sistemi kullanılarak OA'nın araştırılması gerçekleştirilmektedir (Ostergaard, 1997; Ostergaard, 1999).

2.2.6. Osteoartrit Tanısı

Dünya genelinde yaygın bir hastalık olmasına rağmen OA'nın teşhisi oldukça zordur. Hastalarda gözlemlenen semptomlara ilaveten radyolojik görüntülemeye göre tanı konulabilmektedir. OA'da el, kalça ve diz için teşhis kriterleri ile değerlendirilirken, vücudun diğer kemik yapıları olan parmak, omurga için henüz bir OA tanı kriteri bulunamamıştır. OA tanısındaki ilk kriter hastalık semptomlarını romatoid artrit ve anklizon spondilit gibi diğer artrit türevi hastalıklarından ayırmaktır. OA hastalığının erken evrelerinde tanısı zor olmakla birlikte, manyetik rezonans (MR) görüntüsü bu zorluğu ortadan kaldırabilmektedir. İleri derecede OA'ya sahip olan hastalarda tanının konulması daha kolay olabilmektedir (Litwic, 2013; Katz, 2021). Tanı için öncelikle hastanın ayrıntılı öyküsü, fiziki muayene yapılması ve tanıyı destekleyici bir radyografi görüntünün alınması önem arz etmektedir. OA'dan en sık etkilenen eklemler diz, kalça gibi ağırlık taşıyan eklemler olup, tek bir eklemde veya aynı anda birkaç eklemde de OA görülebilmektedir. OA'nın ilerleme hızı, başlangıç yaşı ve eklemdeki tutulumun türü bireylere göre farklılıklar göstermektedir. OA hastalarının semptomlarına karşılık elde edilen radyografi görüntüleri karşılaştırıldığında tutarlı bir uyum görülmektedir. Bu nedenle hasta öyküsü ve radyografik görüntülemenin paralel bir şekilde yapılması tanının konulmasında birbirini destekleyici niteliktedir. Teşhisi oldukça zor olan diz OA'sında, radyografik değişikliklerin ortaya çıkması daha çok zaman alması nedeniyle kıkırdak ve kemik yapısındaki deformasyon oranı daha fazladır. OA'nın klinik olarak teşhisinin yapılması özellikle erken evrede, eklemlerdeki hasarın gelişimini yavaşlatmada etkili olmaktadır (Altman, 1986; Wu; 2005; Lane, 2011; Abhishek, 2013; Martel-Pelletier, 2019).

2.2.6.1. Diz Osteoartritinde Klinik Bulguları

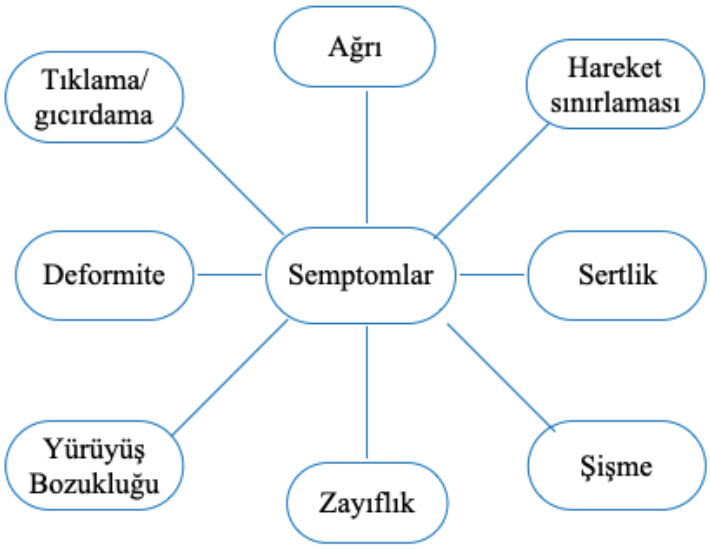
Dünyada OA'nın tüm türlerine bakıldığında diz osteoartritinin %83 gibi bir oran ile başta kadınlar olmak üzere yaygın olduğu gözlemlenmektedir (Kohn, 2016). OA hastalığı tanısı konulurken hastalığın birincil ve ikincil formları göz önünde bulundurulmalıdır. Birincil OA genellikle orta ve ileri yaşlarla ilişkili olup, fiziksel aktivite, genetik faktörler gibi etmenlere bağlıyken, sekonder OA ise inflamasyon, travma gibi predispozan gibi faktörlere bağlıdır (Qiu, 2010; Kamaruzaman, 2013).

Genellikle eklemlerdeki ağrı ve sertlik nedeniyle medikal desteğe başvuran OA hastalarının fiziki muayenelerinde sıvı birikimi yok veya yok denecek kadar az miktarda olup, buna bağlı olarak şişme, hareket açıklığının azalması ve krepitasyon görülebilmektedir. Az miktarda sıvı birikimi olan OA hastalarında ise, dizin arka kısmında sinoviyal şişliğin uzantıları olan Baker veya popliteal kistleri oluşabilmekte ve bazı vakalarda kemik büyümesi ve dizilim bozukluğu da görülebilmektedir. OA tanısının konulmasında laboratuvar testlerine gerek yoktur, ancak tedaviye yanıt bulunamadığında detaylı araştırma için testlere başvurulmaktadır. Eklemlerdeki sinovyal sıvı viskoz ve berraktır. Düz radyografi ile elde edilen bulgular, subkondral kemik sklerozu, kist oluşumu, eklem aralığında daralma ve osteofit oluşumu olup, tanıyı doğrulama amaçlı kullanılabilmektedir. Bilgisayarlı tomografi (BT) ile patellofemoral eklemdeki patellofemoral dizilim bozukluğunun, manyetik rezonans (MR) da ise subkondral kemik değişiklikleri, kıkırdak incelmesi ve osteofit bulgularının saptanması yapılabilmektedir (Hinton, 2002; Dieppe, 2008; Katz, 2020).

2.2.6.2. Osteoartritin Semptomları

OA hastalarında görülen semptomlar genellikle sinsi olup ağrı, eklem şişmesi, krepitus, eklem sertliği, yürüyüş bozukluğu, kas kütlesinde kayıp, ekstremize deformesi, tıklama ve gıcırdama hissi ve dengesizlik olarak sıralanabilmektedir. Genellikle ağrı en belirgin semptom olup, ağrının şiddeti hastanın fiziksel aktivitesine göre değişmektedir. Uzun süreli oturma veya gün içerisinde yoğun hareketli bir süreç sonrası ağrı kendini gösterebilmektedir. Ağrı bazı basit analjeziklerle veya dinlenme ile hafifletilebilmektedir. Hastalığın farkına varılmasıyla veya tedavi edilmemesiyle devam eden bu semptomlar ilerleyen zamanlarda kıkırdaklarda ve eklemlerdeki hasarın artmasıyla daha da ağırlaşarak, ilaçlara yanıt veremeyecek duruma gelebilmektedir (Taruc-Uy, 2013; Abhishek, 2013). Diz OA hastalarında ağrı, patellofemoral yapışma yerinin distalinde veya medial eklem çizgisi boyunca gerçekleşmektedir. Medial ağrı anatomik değişikliklerle bağlantılıyken, lateral ağrı ise artrit yıkım *valgus* deformitesi ile birlikte gıcırdama belirmektedir (Engh, 2003; Myers, 2005; Altman, 2011).

OA'da uzun süre hareketsizlik sonrasında ortaya çıkan eklemlerdeki sertliğin etkisi genellikle otuz dakikadan daha kısa sürmekte ve birkaç fiziksel hareket ile hafifletilebilmektedir. Kıkırdak yüzeyinin eklem hareketi esnasında hasar görmesiyle meydana gelen kemik krepitasyonu, diz OA'larında özellikle gözlenmektedir. Ağırlığı taşıyan diz ve kalça gibi eklemlerde meydana gelebilecek deformasyon yürümeyi olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Diz eklemlerinde meydana gelecek deformasyonla *varus* (eğilme) veya *valgus* (çarpıklık) gibi bozukluklar meydana gelebilmektedir. Eklemlerde meydana gelebilecek şişme, hastanın hareket kabiliyetini etkileyebilmektedir. OA'da yaşanan yürüyüş bozukluğu ve ağrı gibi semptomlar (Şekil 2.13.) nedeniyle fiziksel aktivitenin azalmasına bağlı olarak hareketsizlik, kaslarda güç kaybına ve çevresindeki yumuşak dokuların bozulması ile eklemlerin aşırı zorlanmasına neden olmaktadır (Qiu, 2010; Altman, 2011; Bijlsma, 2011; Kamaruzaman, 2013).



Şekil 2.13. Osteoartritin semptomları

2.2.6.3. Osteoartritte Ağrı

Dış uyaranlara karşı vücudun organizmayı korumak için gösterdiği tepkisel etki "ağrı" olarak adlandırılmaktadır. OA'nın en yaygın semptomlarından biri olan ağrı nosiseptif, inflamatuvar, nöropatik ve nosiplastik olmak üzere üç türde ele alınmaktadır. Ağrı reseptörleri, eklem kıkırdağı hariç bağlarda, sinovyumda, subkondral kemikte, eklem kapsülünde ve çevre dokularda bulunmaktadır (Enohumah ve Imarengiaye, 2008; Dimitroulas ve ark., 2014; Thirumaran ve ark., 2023).

Nosiseptif ağrı: Nosiseptif ağrı nöral olmayan dokuların olası hasarına veya yaralanmasına bağlı olarak belirli ağrı reseptörlerinin uyarılmasından kaynaklanmaktadır. Diz OA'sında nosiseptif ağrı devam eden eklem iltihabını ve çevreleyen doku hasarına bağlı olarak subkondral kemikteki ve sinovyumdaki periferik nosiseptif reseptörlerin duyarlılaşmasına bağlı ortaya çıkmaktadır (Enohumah ve Imarengiaye, 2008; Dimitroulas ve ark., 2014; Thirumaran ve ark., 2023).

Nöropatik ağrı: Nöropatik ağrı bir dereceye kadar sinir hasarına bağlı ortaya çıkmaktadır. Yaygın olarak somatosensoriyel sistemdeki bir lezyondan kaynaklanan nöropatik ağrı, kronik olması nedeniyle hastaların yaşam kalitesini etkilemektedir. Subkondral kemiği besleyen sinirlerde meydana gelen hasar, osteoartritte nöropatik ağrının patogenezinde etkilidir. Konvansiyonel ağrı kesiciler, nöropatik ağrıda daha az etkiye sahiptir (Dimitroulas ve ark., 2014; Thirumaran ve ark., 2023).

Nosiplastik ağrı: Fibromiyalji gibi durumlarda olduğu gibi, kronik ağrının tanımlanamadığı, doku hasarı veya somatosensoriyel sistem işlev bozukluğuna dair net bir kanıt olmaksızın, belli bir nosiseptif veya nöropatik bileşeni olmayan ağrı durumlarını ifade etmektedir. Merkezi ve periferik sinir sistemindeki bozulmuş duyusal yolların işlevinden kaynaklanan ve ağrı duyarlılığına neden olarak tanımlanan nosiplastik ağrıdaki şikayeti destekleyecek nosiseptif ve nöropatik ağrıdaki gibi

tutarlı fiziksel bulgular ve patoloji sonuçlar yer almamaktadır. Ağrı şikayetleri sızlama ve vuran ağrı şeklinde nosiseptif ve nöropatik ağrıyla benzerlik göstermektedir (Dimitroulas ve ark., 2014; Thirumaran ve ark., 2023; Karunarathna ve ark., 2024).

OA ağrısının temel nedeni tam netleştirilmemiş olsa da ağrının biyolojik değerlendirilmesi ele alındığında, ağrının nöronal aktivite ile eklem ağrısının meydana geldiği kabul edilmektedir. OA'da eklem içerisinde subkondral kemik, menisküsler, bağlar ve sinovyum olmak üzere yumuşak dokularda ağrı algılayan afferent nöronlar (nosiseptörler) yer almaktadır. Eklemlerdeki inflamasyon durumunda kimyasal aracıların ortama salınması neticesinde birincil afferent nöronları duyarlı hale getirmektedir. Bununla birlikte fiziksel egzersiz, hava koşulları gibi etmenlerle nörofizyolojik yanıt gelişebilmektedir. Başka bir durumda da; omuriliğin ikinci derece nöronlarındaki tetikleme oranında meydana gelecek artış ile nosiseptif sinyallerin somatosensoriyel kortekse iletilmesini artarak ağrı algısını oluşmasına neden olabilmektedir. Eklemlerde ortaya çıkan ve merkezi duyarlılığa yol açan inflamatuvar sitokinlerden kaynaklanan dorsal kök ganglionlarının sürekli uyarılmasıyla, merkezi sinir sistemi ağrı yolları etkilenebilmektedir. Bilimsel çalışmalarda elde edilen bulgular ışığında OA'da ağrı, göre merkezi ve periferik sinir sistemi duyarlılığını göstermektedir. OA ağrısının ilerlemesi ve kronikleşmesi durumunda klasik analjeziklerin kullanımının tedaviye yanıt vermediği, bu nedenle daha etkin rol oynayacak analjezikler üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Enohumah ve Imarengiaye, 2008; O'Neill ve Felson, 2018; Farinelli ve ark., 2024).

2.2.7. Osteoartrit Tedavisi ve Ağrı Yönetimi

OA tedavisi ile hastaların günlük yaşamlarını kolaylaştırmak üzere eklem fonksiyonlarını iyileştirici, ağrıyı azaltıcı ve dejeneratif süreci yavaşlatıcı tedavi çeşitleri uygulanmaktadır. Günümüzde uygulanan tedavi yöntemleri eklemde gelişen inflamatuvarı kontrol altında tutmayı ve eklem kıkırdağını onarmayı kapsamaktadır (Vidotto ve ark., 2013).

Özellikle el, diz, kalça gibi eklemlerde gerçekleşen OA hastalığı, günlük yaşamdaki hareket kısıtlılığına sebep olan dejeneratif bir hastalıktır. OA'nın en belirgin ve yaygın semptomlarından biri olan ağrıyı, geçici olarak durdurmanın dışında tamamı ile yok edecek bir yöntem henüz olmadığı için ağrıyı kontrol edebilmek hastalar için önem arz etmektedir. OA'nın ilerleyen evrelerinden ağrı kronikleşerek hastanın fiziksel aktivitelerindeki kısıtlılıklarda artışa neden olmaktadır. Bu nedenle iyi bir ağrı yönetimi için hasta özelinde farmakolojik olmayan yöntemler ile farmakolojik yöntemlerin kombinasyonundan oluşan bir tedavi programı uygulanmalıdır (Alhamo ve ark., 2019; Farinelli ve ark., 2024).

OA'lı hastalarda osteokondral bölgede fonksiyonel yapısal bozukluklar oluşmadan tedavinin hastalığın erken aşamalarında başlatılıp uygulanması, tedavinin etkinliği ve sonuç alınabilmesi bakımından önemlidir. OA tedavisi uygulanırken bireylerin psikolojik, davranışsal durumları göz önünde bulundurularak fiziksel ve farmakolojik tedavinin tek başına veya bütünsel olarak değerlendirilerek semptomları kontrol altına alınmasının daha uygun bir yöntem olduğu

vurgulanılmaktadır. Tedavinin hasta özeline göre şekillendirilerek uygulanması, tedavide hedeflenen başarayı ulaşılmasına katkı sağlayacak en uygun yöntemdir. Bu sayede OA tedavisinde bireye özgü tedavi yönteminin seçilerek uygulanması, tüm hastalara uygulanan tek tip tedavi ile elde edilen olumsuz sonuçlarını bertaraf edebilecektir. OA'nın tedavisi farmakolojik, farmakolojik olmayan, tamamlayıcı tıp yöntemleri ve cerrahi yöntemler olmak üzere sınıflandırılmaktadır (Sinusas, 2012; Goldring, 2016; Grässel, 2020; Kolasinski ve ark., 2020).

2.2.7.1. Farmakolojik Olmayan Yöntemler

Farmakolojik olmayan tedavi yöntemleri OA'nın tedavisinde önemli bir yere sahiptir. Tedavi süreci hastalığın evresi, anatomik durumu, ilerleme hızı gibi unsurlar dikkate alınarak planlama yapılması gerektirmektedir. Farmakolojik olmayan tedavi yöntemleri arasında egzersiz, kilo verme gibi uygulamaları içeren yaşam şeklini değiştirmeye yönelik uygulamalar, fizyoterapi, biyomekanik (medikal aparatlar) uygulamaları ve psikolojik tedavileri içermektedir (Jordan ve ark., 2003; Brismee ve ark., 2007; Yusuf, 2016; Kolasinski ve ark., 2020)

Diz OA'sı için önemli bir risk faktörü olan obezitenin tedavi edilmesine yönelik bir yöntemin uygulanması, OA hastaları üzerinde olumlu bir etki sağlamaktadır. Obez olan diz OA hastalarında gerçekleşecek olan kilo kaybı ile diz üzerindeki yük azaltılabilmektedir. Kilo verme, diz eklemlerindeki biyomekanik stresi azalttığından ağrı gibi OA semptomlarını önemli ölçüde azaltmayı ve yapısal hasarın geciktirilmesine olanak sağlamaktadır. Diz OA hastalarında kilo verme süreciyle birlikte eş zamanlı olarak uygulanacak fizik tedavi egzersizleri de OA hastalarının tedavisine önemli bir katkı sunmaktadır. Yapılan araştırmalara göre, 10 kiloluk bir kayıbın dizdeki yükü 40 kilo azaltabileceği ve bu sayede diz osteoartriti riskinin yarı yarıya farkedeceği belirtilmiştir (Garfinkel, 1994; Sen ve Hurley, 2023; Garstang, 2006; Brismee, 2007; Zhang ve ark., 2010; Nelson ve ark., 2014; Kolasinski ve ark., 2020). Diz OA hastalarında güvenli ve faydalı bir yöntem olan egzersizler, eklem mobilizasyonunu sağlayarak, eklemlerin çevresindeki kasların güçlendirilmesini neticesinde diz eklemlerindeki ağrının hafiflemesine ve hareket kabiliyetinin artmasına katkı sağlamaktadır. Egzersiz uygulanan diz OA hastaları üzerinde yapılan çalışmalar, direnç egzersizleri, aerobik, yoga, yüzme, bisiklete binme gibi düzenli egzersiz uygulamasının ardından hastaların ağrı ve fiziksel performanslarında iyileşmeler olduğu gözlenmiştir (Ettinger ve ark., 1997; Jordan ve ark., 2003). Yine diz OA hastalarının tedavisi üzerinde yapılan bir araştırmada da, düzenli olarak Tai Chi ve yoga uygulanan hastaların ağrı ve eklemlerin fonksiyonlarında anlamlı derece de iyileşme ortaya konulmuştur (Garfinkel ve ark., 1994; Brismee ve ark., 2007). Kinezyo bant, dizlik, baston ve korse gibi yardımcı ekipmanlar da diz OA hastalarının farmakolojik olmayan tedavi yöntemleri arasında sayılmaktadır. Korse, kinezyo bant ve dizlik gibi ekipmanlar eklemlere destek sağlayarak OA'lı hastaların ağrılarının azalmasına ve eklemleri üzerindeki yükün hafifletilmesine olanak tanıyabilmektedir. Alanında uzman bir fizyoterapist tarafından kişinin özelinde değerlendirilerek

seçilen uygulama ile OA'lı hastalarda yarar sağlanabilmektedir (Lee, 2016; Kolasinski ve ark., 2020).

2.2.7.2. Farmakolojik Yöntemler

OA'da kullanılan farmakolojik yöntemler içerisinde oral, tropikal ve enjekte edilebilir dozaj formları yer almaktadır. Burada amaç ağrı ve fonksiyonel kaybı en aza indirerek hastanın yaşam kalitesini arttırmaya yöneliktir. Seçilecek tedavi yöntemi ve dozaj formu hastanın yaşı, mevcutta kullandığı ilaçlar, osteoartritin oluştuğu eklemin yeri, gastrointestinal ve kardiyovasküler rahatsızlıkların varlığı, hasta uyuncu ve hastalığın şiddeti göz önünde bulundurularak yapılmalıdır. Bu nedenle ağır OA semptomları gösteren hastalara farmakolojik olmayan yöntemlerle birlikte farmakolojik yöntemin bir arada kullanacağı tedavi yöntemi de uygulanabilmektedir. Seçici olmayan, seçici oral steroidal olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'ler), siklooksijenaz-2 (COX-2), asetaminofen (parasetamol), opioidler, tropikal NSAİİ'ler, kapsaisin ve intraartiküler kortikosteoroid enjeksiyonları bulunmaktadır. Glukozamin, kondroitin sülfat ve hiyalüronatlar da OA semptomlarının giderilmesinde bilenen farmakolojik yöntemlerdendir. Glukozamin, kondroitin sülfat ve diaserin gibi analjezikler de aynı zamanda şiddetli ve dirençli ağrılarda kullanılan yöntemler arasında yer almaktadır (Martell-Pelletier ve ark., 2016; Di Laura Frattura ve ark., 2018; Kriz ve ark., 2018; Xing ve ark., 2018). Günümüzde kullanılan OA tedavilerindeki amaç ağrıyı azaltarak eklem fonksiyonlarındaki kaybı azaltmaktır. Yapılan çalışmalara göre OA'da kullanılan ilaçlardan biri olan NSAİİ'ler için sinovyum gibi hasar görmüş olan yapıyı değiştirme potansiyeli olduğu belirtilmesine rağmen henüz klinik bir kanıtı yer almamaktadır. Bu nedenle OA hastalığının neden olduğu hasarlı yapıları etkili bir şekilde düzeltecek henüz bir ilaç olmadığı belirtilmektedir (Inman ve ark., 2012).

Diz, el ve kalça OA'sında etkili olan asetaminofen (parasetamol), en sık kullanılan birinci basamak analjezik ilaçlardan biri olup, diz OA ağrısının azaltılmasında orta derecede etkisi bulunmaktadır. Tedavide etkinliğinin zayıf olması nedeniyle, NSAİİ'lerin kullanımında intolerans ve kontrendikasyonlar yaşayan hastalar için asetaminofen periyodik ve kısa süreli kullanımda uygun bir ilaç olduğu belirtilmektedir (Parker ve ark., 2018; Kolasinski ve ark, 2020). Prostaglandin sentezinin zayıf bir inhibitörü olan ve analjezik etki yaratan asetaminofen, serotonerjik yolları aktive etmektedir. Analjezik ve antipiretik özellikleri ile NSAİİ'lere benzeyen asetaminofenlerin antiinflamatuvar etkileri de bulunmamaktadır. Asetaminofenin güvenlik profili NSAİİ'lerle karşılaştırıldığında, asetaminofenin daha az yan etkisi olsa da, yüksek dozda kullanıldığında mide ülseri, glomerüler filtrasyon oranının azalmasına ve hipertansiyon insidansının daha yüksek olmasına neden olabileceği bildirilmiştir (Bannwarth, 2004; Anderson, 2008; Jozwiak-Bebenista ve ark., 2014; Bruyère ve ark., 2016; Roberts ve ark., 2016).

Analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkilere sahip olan NSAİİ'ler, oral ve topikal olarak diz osteoartritinde kullanılmaktadır. NSAİİ'ler antiinflamatuvar özellikleriyle birlikte analjezik olmaları sebebiyle inflamasyon tedavisinde kullanıldıklarında ağrı kesici etkileriyle artrit

ağrısında da etkilidir. Siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitörleri ve klasik NSAİİ'ler diz OA'da etkilidir. Potansiyel toksik etkilerine rağmen sıklıkla kullanılan NSAİİ'ler, gastrointestinal yan etkileri sebebiyle proton pompası inhibitörü ile kullanımı hastalara uygulanması önerilmektedir (Parker ve ark., 2018; Richard ve ark., 2023). Siklooksijenaz-2'yi (COX-2) ve genellikle prostaglandin sentezinde rol oynayan siklooksijenaz-1 (COX-1) enzimlerini inhibe ederek çalışan NSAİİ'lerin birkaç sınıfı bulunmaktadır. Salisilat grubunun bir örneği olan asetilsalisik asit (aspirin), propiyonik asit türevi olan ibuprofen ve naproksen, selekoksib, fenilasetik grubundan olan diklofenak NSAİİ'lere örnek olarak verilebilmektedir (Zhang ve ark., 2004; Chou ve ark., 2011; Derry ve ark., 2016). Reçetesiz bir ilaç olan asetilsalisilik asit (aspirin), düşük dozda dahi peptik ülsere neden olabileceği için doz ayarlanmasına dikkat edilmesi gerekmektedir. İbuprofen diğer NSAİİ'lere nazaran daha az peptik ülser yan etkisine sahip olmasına rağmen, risk grubundaki hasta gruplarında kullanılması OA tedavisi bakımından zorunlu kılındığı hallerde, günde bir kez olmak üzere proton pompası inhibitörü gibi gastroprotektif ajanlar ile kullanılabileceği bildirilmektedir (Weilve ark., 1995; Lanza ve ark., 2009). NSAİİ'lerin kardiyovasküler olayları arttırma riskine bakıldığında, ibuprofen ve diklofenin, naproksene kıyasla kardiyovasküler risklerinin daha fazla olduğu bilinmektedir (Yusuf, 2016).

NSAİİ'lerin gastrointestinal yan etki riskini en aza indirgemenin en etkili yolu topikal uygulamadır. Topikal formülasyonlar ile hedeflenen bölgenin lokal olarak dokularında etkili konsantrasyonunu sağlamaktadır. Oral NSAİİ'lere göre, OA'lı dokulara lokal, arttırılmış ilaç dağıtımı avantajı sağlaması bakımından etkilidir. Topikal uygulaması yapılan NSAİİ'lerin kan plazma konsantrasyonları oral uygulama ile karşılaştırıldığında, daha güvenli ve kan plazma değerleri oral NSAİİ'lere göre %5-15'tir. Bu sayede hedeflenen bölgede her ne kadar düşük terapötik konsantrasyonlar elde edilse de, GI'deki yan etkiler engellenmiş, ilk geçiş metabolizması bertaraf edilmiş olacaktır. Kullanılan topikal NSAİİ'ler diklofenak, eltenak, etorikoksib, felbinak, flufenamat, flurbiprofen, indometasin, ibuprofen, ketoprofen, nimesulid, piketoprofen ve piroksikamdır (Heyneman ve ark., 2000; Derry ve ark., 2016; Sardana ve ark., 2017). NSAİİ'ler topikal uygulama sonrası deriden geçerken stratum korneum, epidermis, bazal membran ve dermis katmanlarından geçmektedir. Bunlardan stratum korneumun lipofilik özelliği yüksek olup, epidermal tabaka ise hidrofiliktir. NSAİİ'lerin topikal uygulamadan sonra derin dokulara ve sistemik dolaşıma optimal düzeyde penetrasyonu, emilimi ve hedeflenen bölgede yeterli düzeyde konsantrasyonu sağlamak üzere NSAİİ'lerin hem hidrofilik hem de hidrofobik özellikte olması gerekmektedir (Touma ve ark., 2007). Ancak topikal NSAİİ'lerin üstünlüklerine rağmen, formülasyonlarında yer alan taşıyıcı bileşen olan dimetilsülfoksit gibi maddeler, uygulama yerinde toksisiteye neden olabilmektedir (Bookman, 2004).

OA tedavisinde kullanılan ancak bazı sistemik yan etkilere sahip olan bazı ilaçlara alternatif olarak kullanılan kapsaisinler ise, OA hastalarında topikal analjezik olarak uygulanarak, diz ağrısında azalma ve fonksiyonel sonuçlarda iyileşme gösterdiği yapılan çalışmalarda belirtilmiştir.

Ancak her ne kadar diğer ilaçlara nazaran daha güvenli görülse de, hastalıkların tedavisindeki kullanımı halen netlik kazanamayarak kapsaisinler üzerindeki tartışmalar devam etmektedir (Guedes ve ark., 2018; Tshering ve ark., 2024).

OA'nın dirençli ağrılarının tedavisinde kullanılan bir başka analjezik olan opioidler, oral, transdermal yama ve enjeksiyon olarak farklı dozaj şekillerinde kullanılmaktadır. Tramadol, oksikodon ve morfin gibi örnekleri ile sıralayabileceğimiz opioidler, yan etkilerinden ziyade daha çok kullanım amacından farklı olarak kötü amaçla kullanıma uygun ilaçlar olduklarından, diğer analjeziklerin ağrı üzerindeki etkisi yetersiz kaldığında veya ameliyat durumu olmayan hastalıklarda ağrının giderilmesine yönelik kullanımına önem verilmektedir. Baş dönmesi, bulantı, kabızlık, kusma gibi yan etkileri olan opioidler, hem yan etkileri hem de bağımlılık oluşturabilme özellikleri nedeniyle kullanımlarına uygun bir şekilde doz ayarının yapılması ve tedavi süresince hasta takibinin yapılmasını gerektirir (Katz ve ark., 2016; Yusuf, 2016).

Enjekte edilebilir kortikosteroidlere yönelik yapılan çalışmalara bakıldığında hastalarda ağrı semptomlarının iyileştirilmesinde hızlı sonuç sağlarken, iyileşme süresinin ise kısa süreli olduğu görülmüştür. Enjekte edilebilir kortikosteroidler, OA hastalarında antiinflmatuvar etkiyi, kıkırdak tahribatına katkı sağlayan kollajenlerin üretimini inhibe ederek kısa sürede ağrı ve fiziksel iyileşmeler sağladığı gözlenmektedir (Yusuf, 2016; Parker ve ark., 2018; Richard ve ark., 2023). Glukozamin ve kondroitin gibi takviyeler üzerinde yapılan çalışmalarda da, OA hastalarında analjezik etki sağlamalarının yanı sıra eklem yapısının bozulmasını engelleyecek nitellikte oldukları rapor edilmiştir (Perlman ve ark., 2007; Huskisson, 2008). Hücresel glukoz metabolizmasının bir türevi olan glukozamin, eklem içindeki sinovyal sıvının bir parçası olan hyaluronik asidin, kemiklerin uçlarını kaplayan kıkırdak matrisinin glikozaminoglikanları ve proteoglikanlarının bir bileşen olup, iki formülasyon halinde bulunmaktadır. Reçetesiz olarak da kullanılabilen glukozamin çeşitlerinin üzerine yapılan çalışmalar, glukozamin sülfatın diz OA hastalarında ağrının azalmasında orta derecede etki sağlarken, glukozamin hidroklorürün ise anlamlı bir etkisinin olmadığı ortaya çıkmıştır (Roman-Blas ve ark., 2010). Bir başka araştırmaya göre de glukozamin hidroklorürün tek başına OA tedavisinde olumlu bir gelişme kaydedilmediği, ancak glukozamin hidroklorür, kondroitin sülfat ve manganez askorbattan oluşan başka bir kombinasyonunun hafif ile orta dereceli osteoartritli hastalarda ağrı ve fonksiyonda iyileşme gösterdiği sonucuna varılmıştır (Fox ve ark., 2007; Meulyzer ve ark., 2008). Sinovyal sıvının bir bileşeni olan hyaluronik asitin de OA tedavisinde endike olduğu bilinmektedir. OA'lı hastaların eklemlerindeki hyaluronik asidin, sağlıklı bir ekleme kıyasla daha az konsantrasyonda olması sebebiyle, hyaluronik asitin intraartiküler enjeksiyonunun yapılan bazı çalışmalarda ağrı ve fonksiyon iyileşmesinde anlamlı bir sonuç çıkardığı gözlemlenmiştir. Diz OA'lı hastalarda farmasötik bir tedavi olduğu düşünülen intraartiküler hyaluronik asidin enjeksiyon uygulamasının, tedavide sürecinde az olsa pozitif etki oluşturduğu gözlemlenmiştir (Lo ve ark., 2003; Yusuf, 2016; Chen ve ark, 2021).

Osteoartrit tedavisinde, hastalığı değiştiren ajanların doğrudan eklem boşluğuna uygulanması, ilaç etkinliğini artırmak ve tedavi süresini uzatmak amacıyla ilgi görmektedir. Bu yaklaşım, ilaç biyodağılımını iyileştirirken, güvenliği ve etkinliği artırmayı hedeflemektedir. Araştırmalar, farklı dozajlar, uygulama yöntemleri ve ilaç formülasyonlarına odaklanarak, tedaviye yönelik güvenlik ve etkinlik değerlendirmeleri yapmaktadır. Eklem içi ilaç uygulamaları, OA tedavisinde daha hedefe yönelik ve daha güvenli tedavi seçenekleri sunmayı amaçlamaktadır (Allen ve ark., 2009).

2.2.8. Osteoartritte Yeni Tedaviler ve Gelişmeler

OA tedavisi genellikle semptomları hafifletmek veya bir süre ortan kaldıracak şekilde yapılmaktadır. Ancak hastanın yaşam kalitesini tam anlamıyla iyileştirmede yetersiz kalan bu tedavi yöntemlerine ilave olarak, hastalığın geliştiği eklem, kıkırdak ve benzer dokulardaki yapısal hasarı durdurmaya yönelik tedaviler üzerinde günümüzde çalışılmaktadır. Vücuttaki pek çok faktöre bağlı olarak gelişen OA hastalığının tedavisindeki yeni bakış açısı, biyoteknolojideki gelişmelerin ışığında kıkırdak onarımına yönelik olarak yapılan araştırmalar ile birlikte gerçekleşmektedir. Özellikle eklemlerdeki dejeneratif süreci durduracak, kıkırdak rejenerasyonuna imkan sağlayacak intraartiküler enjekte edilebilir yeni yöntemler üzerinde çalışılmaktadır. Son yıllarda eklem kıkırdağına hedeflendirilmiş intraartiküler uygulama ile eklem kıkırdağının rejenerasyonu için gerçekleştirilen mezenkimal kök hücre (MKH) tedavisine yönelik araştırmalar da devam etmektedir (Grässel, 2020; Chen ve ark., 2021). Yapılan bir çalışmada, osteoartritli dize eklem içi MKH'nin enjeksiyonun neticesinde yapılan radyolojik, histolojik ve radyoskopik incelemeler ile eklem kıkırdağının rejenerasyonunun gerçekleşerek, eklemlerdeki hasarın azaldığı rapor edilmiştir (Jo ve ark., 2014). OA'lı bölgeye ilaç etkin maddesini doğrudan hedeflendirilebilecek bir şekilde geliştirilen intraartiküler hidrojel taşıyıcı sistemler ile geliştirilen tedavi yöntemleri üzerine yapılan çalışmalar da son zamanlarda oldukça yaygınlaşmıştır. Doğal polimerlerden elde edilerek hazırlanan hidrojeller, sahip oldukları biyouyumluluk ve biyoaktiflik özellikleri ile avantajlı konuma sahiptirler. Bu sayede hasarlı bölgeye intraartiküler olarak uygulandıklarında, ilaç etken maddesinin kontrollü ve istenilen sürede salınımını sağlayarak hasarlı dokuyu onarabilmekte ve OA ilerlemesini yavaşlatabilmektedir. Özelleştirilebilir fizikokimyasal özellikleri ve uzun süreli terapotik etki sağlama kabiliyetleri ile OA tedavisinde önemli bir yöntem olacakları öngörülmektedir (Jiang ve ark., 2020; Chen ve ark., 2021).

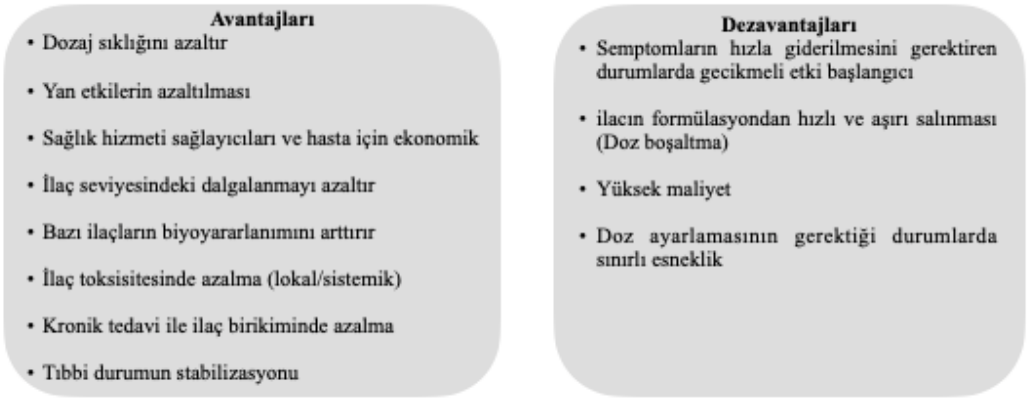
OA hastalarında en yaygın semptomlardan biri olan ağrı için uygulanan NSAİİ'ler, parasetamol ve opioidler çeşitli yan etkilere sebep olması bakımından, nöronal yapıları hedef alan tedaviler geliştirilmektedir. Nosiseptif hücre yüzeyi reseptörlerini ve nosiseptif sinir liflerinin büyümesini uyaran sinir büyüme faktörleri (NGF), OA'da artan ekspresyonu olan bir nörotrofin olarak bilinmektedir. Eklemler, menisküs, bağlar, sinovyumun nosiseptif sinir lifleri ile innerve edildiği için OA'da eklem ve diz ağrısı kaynaklarındandır. Periferik nosiseptif yol üzerine

hedeflendirilecek analjezikler, OA tedavisinde alternatif tedavi sunmaktadır. Sinir büyüme faktörüne (NGF) hedeflendirilmek üzere geliştirilen terapötiklerin, OA ağrısında etki sağladığı, yapılan klinik araştırmaların gelecekte OA tedavisinde umut vaat edecek sonuçlar çıkaracağı düşünülmektedir (Abdiche ve ark., 2009; Denk ve ark., 2017; Schelmez ve ark., 2019).

Nanoteknolojinin medikal alandaki gelişmeleriyle birlikte OA'nın teşhis ve tedavisinde kullanılmak üzere, kuantum noktaları, lipozomlar ve miseller gibi nano-materyaller ile geliştirilecek ilaç taşıyıcı sistemler üzerinde çeşitli çalışılmalar yürütülmektedir. Kemik iliği ve sinovyum yağ dokusundan elde edilen MKH'ler ile geliştirilen eksozomların, OA'da kemik ve kıkırdak yapısını bozmadan inflamatuvarı azaltıp, tip II kollajen ve agrekanın ekspresyonunu pozitif yönde düzenleyecek şekilde etkin bir profil gösterdiği raporlanmıştır. OA tedavisinde geliştirilen her türlü tedavinin uygulama aşamasında avantajları ile birlikte olumsuz yönleri de ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle sağlayacağı yarar ile birlikte, en az yan etki gösteren tedavilerin oluşturulması üzerine araştırmalara yön verilmesi gerekmektedir. Bu da ancak pek çok disiplinin ortak amaç doğrultusunda bir araya gelerek, sistematik bir şekilde etkin tedavi yöntemlerini bulmak üzere çalışması ile gerçekleştirilebilecektir (Xiao ve ark., 2022; Wen ve ark., 2023).

2.3. Kontrollü İlaç Taşıyıcı Sistemler

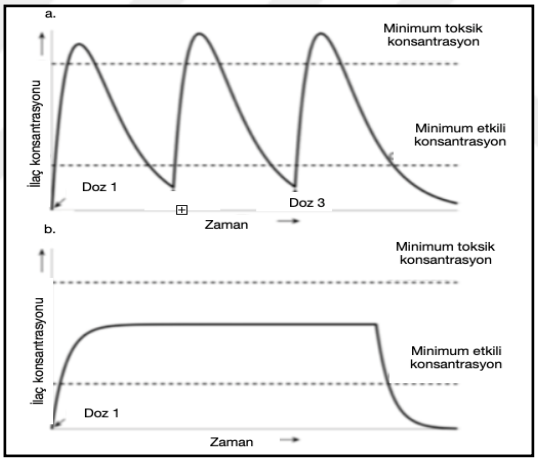
İlaç endüstrisinde farmakokinetik ve farmakolojideki gelişmeler ışığında tedavide istenilen terapötik etkinin elde edilebilmesi için ilaç salım hızı üzerindeki çalışmalara 1950'li yılların başından beri daha fazla ağırlık verilmiştir. Geleneksel ilaç uygulama yöntemlerine alternatif olarak geliştirilen kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri (KİTS), terapötik ajanların belirli bir süre boyunca lokal veya sistemik olarak hedeflenen bölgeye belirli bir hızda dağıtımını ve ilaç etkinliğinin arttırılmasını sağlayan sistemlerdir. Kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri, geleneksel dozaj formlarına kıyasla hasta uyuncu, arttırılmış terapötik etki, azaltılmış toksisite ve yan etki bakımından pek çok avantaja (Şekil 2.14.) sahiptir (Bhowmik ve ark., 2012; Hardenia ve ark., 2019; Negi ve ark., 2023).



Şekil 2.14. Kontrollü ilaç taşıyıcı sistemlerinin avantaj ve dezavantajları (Bhowmik ve ark., 2012; Patel ve ark., 2022; Negi ve ark., 2023)

KİTS'in dezavantajları ise semptomların giderilmesinde gecikmeli etki göstermesi, yüksek maliyetli olması, ilacın formülasyondan hızlı ve aşırı salınması ve doz ayarlanmasının gerektiği durumlardaki müdahale sınırlılığıdır (Bhowmik ve ark., 2012; Hardenia ve ark., 2019; Negi ve ark., 2023).

Geleneksel ilaç formülasyonalarında ilacın kandaki düzeyi ilacın uygulanmasından sonra yükselip, bir sonraki uygulama zamanı gelene kadar azalırken, kontrollü ilaç taşıyıcı sistemlerinde ilacın kanda konsantrasyonunu uzun bir süre boyunca terapötik aralıkta kalmasını sağlayacak bir dağıtım profilini oluşturmaktır (Şekil 2.15.). İlacın salım profiline, uygulama yöntemine ve biyouyumluluğu göz önünde bulundurularak, polietilen glikol (PEG), polietilenkovinil asetat (PEVA), polilaktikkoglikolik asit (PLGA), polivinil alkol, poli2-hidroksi etil metakrilat, poliNvinil pirolidon, polimetakrilik asit, poliakrilamid ve polimerik hidrojeller gibi çeşitli polimerler seçilerek kontrollü ilaç taşıyıcı sistemin formülasyonu hazırlanmaktadır. Formülasyonlarda kullanmak üzere seçilen polimerler biyouyumlu, stabil, seçici/geçirgen, inert ve işelenebilir niteliklere sahip olması gerekmektedir (Bhowmik ve ark., 2012; Hardenia ve ark., 2019; Negi ve ark., 2023).



Şekil. 2.15.(a) Geleneksel ilaç salım sisteminin eğrisi; (b) Kontrollü ilaç salım sisteminin eğrisi (Adepu ve ark., 2021)

2.3.1. İlaç Taşıyıcı Sistemlerinin Sınıflandırılması

İlacın dozaj formundan salım mekanizmasına göre şekillendirilen kontrollü salımlı ilaç taşıyıcı sistemleri çözünme kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri, difüzyon kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri, kimyasal kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri, su penetrasyonu kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri, nanopartikül bazlı kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri olarak sınıflandırılmaktadır (Gupta ve ark., 2010).

Çözünme Kontrollü İlaç Taşıyıcı Sistemleri: Bu ilaç taşıyıcı sistemindeki ilaçlar, oral dozaj şekli olan tabletler ve efervesan tabletlerdir. Bu sistemde amaç, çözünme hızı yüksek olan ilacın yavaş çözünme özelliğine sahip bir taşıyıcı ile hızının kontrollü bir şekilde sınırlandırılmasıdır (Wang ve ark., 2006; Patel ve ark., 2022).

Difüzyon Kontrollü İlaç Taşıyıcı Sistemleri: Membran kontrollü ve matris sistemler olarak olarak sınıflandırılan bu ilaç taşıyıcı sisteminde, ilaç molekülleri suda çözünmeyen polimerik matrisler ve polimerik membranlar (rezervuar sistemleri) ile difüzyonla tutulur ve Fick'in yayılma yasasına tabi olarak salınmaktadır. Membran kontrollü sistemlerde (rezervuar sistemleri) ince bir polimerik yapıda olan gözenekli veya gözeneksiz membran ile kaplanan ilaç difüzyon yolu ile salınmaktadır. İlacın salım hızını membranın gözenekli yapıda olması veya olmaması, membranın kalınlığı ve ilacın fizikokimyasal özellikleri belirlemektedir. Matris kontrollü taşıyıcı sisteminde ise ilacın bir polimer matrisinin bir ilaç çözeltisine batırılmasıyla dış tabakası çözelti ile teması gerçekleştiğinde çözünür ve ilaç matristen dışarıya difüzyonla salınmaktadır (Siepmann ve ark., 2012; Patel ve ark., 2022).

Kimyasal Kontrollü İlaç Taşıyıcı Sistemleri: Biyolojik parçalanabilen polimerlerden yapılan kimyasal kontrollü ilaç salım sistemleri, polimer-ilaç dispersiyon sistemi ve polimer-ilaç konjugat sistemleri olmak üzere sınıflandırılmaktadırlar. Biyobozunur bir polimer içerisinde yer alan ilaç fizyolojik koşullar altında polimerlerin parçalanmasıyla gerçekleşen salınım polimer-ilaç dispersiyon sistemidir. Polimer-ilaç konjuge sisteminde ise ilaç, fizyolojik koşullar altında polimer-ilaç bağlarının bölünmesi yoluyla salınmaktadır (Jain ve ark., 2022).

Su Penetrasyon Kontrollü İlaç Taşıyıcı Sistemleri: Ozmotik basınç kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri ve şişme kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri olmak üzere iki ayrı türde sınıflandırılmaktadır. Ozmotik basınç mantısı kullanılarak geliştirilen ozmotik basınç kontrollü ilaç taşıyıcı sisteminde, çözücünün daha düşük bir çözünen madde konsantrasyonundan daha yüksek bir çözünen madde konsantrasyonuna yarı geçirgen zar boyunca hareket etmesine dayalı gerçekleşmektedir. Ozmotik basınç kontrollü ilaç taşıyıcı sistemleri hem oral hem de enjekte edilebilir dozaj formlarının kontrollü ilaç taşıyıcı sistemlerinin formülasyonunda kullanılmaktadır. Şişme kontrollü ilaç taşıyıcı sisteminde ise sert ama şişebilir özellikte olan polimerik bir ağ içerisinde yer alan ilaç, çözelti ile temas ettiğinde polimerik ağın çözelti içerisinde şişmesine bağlı hacmi artmasına bu da ilacın polimerik ağ boyunca çözünerek difüzyonla yayılmasını sağlamaktadır (Day ve ark., 2018; Patel ve ark., 2022).

Nanopartikül Bazlı Kontrollü İlaç Taşıyıcı Sistemleri: Sahip oldukları yüksek yüzey alanı/hacim oranı ile ilaçların biyoaktivitesini değiştirme eğiliminde olan nanopartikül bazlı ilaç taşıyıcı sistemleri, hazırlanacak ilaç formülasyonuna iyileştirilmiş farmakokinetik, çözünürlük, biyodağılım özellikleri, azaltılmış minimum toksisite, kontrollü salınım ve terapötik ajanların hedeflendirilmiş bölgeye dağıtımı gibi avantajlı özellikler kazandırmaktadır. Nanopartiküllerin şekilleri, yüzey özellikleri ve bileşimleri gibi fizikokimyasal özellikleri değiştirilebilecek ayarlanabilir özellikleri, farklı ilaçlar ve hedeflendirilecek bölgelere göre formülasyonları ve uygulama yolları ayarlanarak, ilaç etken maddesinin sürekli ve uzun süreli salınımının yanı sıra ilacın hedeflenen şekilde taşınması da sağlanabilmektedir (Yu ve ark., 2016; Chamundeeswari ve ark., 2019).

2.3.2. Güncel İlaç Taşıyıcı Sistemleri ve Uygulamaları

Geleneksel ilaç taşıyıcı sistemlerinin etkinliğinin düşük olması ve sahip olduğu yan etkileri ortadan kaldırmak üzere istenilen bölgedeki hüceleri, dokuları ve organları hedeflendirirken, oluşabilecek yan etkileri de en az seviyeye indirebilecek yeni akılı ilaç taşıyıcı sistemlerini geliştirmek üzere umut vaat edici çalışmalar yapılmaktadır.

Günümüzde geliştirilen yeni ilaç taşıyıcı sistemlerinde kullanılan nano-partiküllü ilaç taşıyıcı sistemlerinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Arttırılmış çözünürlük, iyileştirilmiş stabilite, etkinlik, geçirgenlik, nano ölçekli boyutlandırma, spesifik hedeflendirme, kontrollü salım ve azaltılmış toksisite özellikleriyle geliştirilen formülasyonlara sahip ilaç taşıyıcı sistemleri, geleneksel dozaj formlarına göre terapötik etkiyi büyük ölçüde arttırma kabiliyetine sahiptirler. Bu kapsamda geliştirlen yeni akıllı ilaç sistemleri nanopatiküllerin, hidrojellerin, lipozomların, niyozomların, misellerin yer aldığı biyomateryaller kullanılarak stabilitesi, çözünürlüğü ve biyoyararlanımı yüksek ilaç formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılmaktadır (Jain, 2005; Lombardo ve ark., 2019; Rahim ve ark., 2021; Chauhan, 2024; Boppana ve ark., 2024).

2.3.2.1. Uyaran Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Uyaran bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesi ilacın uygulanacağı bölgeye, nanopartikülün türüne, uyarıcı faktörler göz önünde bulundurularak yapılmaktadır. Bu taşıyıcı sisteminde kullanılan biyomateryaller dışardan gelen uyarana fiziksel veya kimyasal bir değişimle yanıt vermektedirler. Hedeflenen bölgedeki uyarcıya yanıt vermesiyle birlikte, taşıdıkları ilacı istenilen şekilde ve yere bırakarak ilacın biyoyararlanımını arttırmaktadırlar. Uyaran bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerinin sahip olduğu bu avantajlar ile parenteral ve oral uygulamalarla gerçekleştirilen ilaç taşıyıcı sistemlerinin uygulanmasında ortaya çıkan olumsuzluklara karşı üstün özellikler göstermektedirler. Ultrason, sıcaklık, ışık, elektriksel kuvvetler, pH değişimi, manyetik alan ve enzim gibi uyaranlara yanıt veren uyaran bazlı ilaç sistemleri, polimerler, nanopartiküller ve lipitler kullanılarak geliştirilmektedir. Sahip olduğu potansiyel dinamiklerden dolayı uyaran bazlı ilaç taşıyıcı sistemleri, gelecekte ilaç salınımını etkin bir şekilde gerçekleştirmek üzere kullanılan başlıca ilaç taşıyıcı sistemlerinden biri olacağı öngörülmektedir. Uyaran bazlı ilaç taşıyıcı sistemleri fiziksel ve kimyasal uyaranlara göre geliştirilmiş sistemler olup doğal veya sentetik olabilen peptidler, polimerler ve lipit yapıda olan nanomateryaller kullanılarak geliştirilmektedirler (Yudina ve ark., 2012; Torchilin, 2018; Chen ve ark., 2019; Adepu ve ark., 2021; Negi ve ark., 2023).

Kimyasal uyarılara duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler pH'a duyarlı ilaç taşıyıcı sistemleri, redoks-tepkili ilaç taşıyıcı Sistemleri ve enzim duyarlı ilaç taşıyıcı sistemleri olmak üzere üçe ayrılmaktadır.

pH'a Duyarlı İlaç Taşıyıcı Sistemleri

pH değerlerinin insan vücudunun her bir bölgesinde farklı bir değere sahip olması göz önünde bulundurularak, hedeflendirilmesi istenilen ilaç etken maddesinin pH'a duyarlı bir şekilde taşınmasını sağlayan sistemlerdir. Enflamasyonlu, kanserli patolojik dokular ile kan arasında, hücre

içi bölümlerinde (lizozom, sitozol, endozom), gastrointestinal yol boyunca pH farklılıkları bulunmaktadır. pH farklılıklarına göre geliştirilen bu sistem ile geliştilen ilaç formülasyonları ile istenilen terapötik etki sağlanabilmektedir. Burda mekanizma pH'a duyarlı ilacın uyarılacağı bölgeye ulaştığında ilaçların hücre içi konsantrasyonu ihtiyaç duyulan terapötik doza eşit olduğunda aktif maddeyi serbest bırakmasına dayanmaktadır. Yapılan pek çok çalışmaya göre anti-kanser ilaçlarının pH'a duyarlı sistem ile başarılı bir şekilde uygulandığında, fizyolojik pH'a kıyaslandığında tümörlerin asidik bir pH'a sahip olması kullanılarak geliştirilen anti-kanser ilaçlarının büyük ölçüde başarı sağladığı rapor edilmiştir. Öte yandan pH'ın çeşitli faktörlere bağlı olarak dışardan kontrol edilemeyen bir değişken olması sebebiyle bu ilaç taşıyıcı sistemin kronik hastalıklarda etkili bir tedavi sağlamada sınırlılıkları bulunmaktadır (Chang ve ark., 2010; Naziris ve ark., 2016; Wells ve ark., 2019; Adepu ve ark., 2021; Radu ve ark., 2022).

Redoks-tepkili İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Hücreler içerisindeki indirgeyici ortama dayanan redoks-tepkili ilaç taşıyıcı sistemleri, hücre içi ve dışındaki glutatyon konsantrasyonunun farklılığına bağlı geliştirilmiştir. Glutatyon konsantrasyonunun tümörlü hücrelerde daha fazla veya az olması, tümörlü doku ile normal doku arasında redoks potansiyellerinde konsantrasyon farklılığı oluşturmaktadır. Meme, akciğer, baş, boyun ve yumurtalık kanserlerinde artan konsantrasyonda bulunurken, karaciğer ve beyin tümörlerinde azalan konsantrasyonda bulunmaktadır. Bu konsantrasyon farklılığına bağlı olarak geliştirilen redoks-tepkili ilaç taşıyıcı sistemlerinde, endrimerler, disülfür çaprazlanmış nanojeller, lipozomlar ilaçları taşıma amaçlı kullanılan biyomateryallerdir (Naziris ve ark., 2016; Adepu ve ark., 2021; Radu ve ark., 2022).

Enzim Duyarlı İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Canlı organizmaların içindeki tüm biyokimyasal ve metabolik süreçlerde yer alan hücre düzenlemesinde önemli rolleri olan enzimler, belirli bölgelere hedeflendirilmede kolaylık sağlamaktadırlar. Enzimin hedeflenen dokuda yüksek konsantrasyonda bulunması gerçekleştiğinde, ilaç taşıyıcı sistem içerisindeki ilaç etken maddesi serbest bırakılacak şekilde tasarlanabilmektedir. Enzim duyarlı ilaç taşıyıcı sistemleri polimerik nanoparçacıklar, polimerler, polimer konjugantları, metal ve yarı-iletken nanopartiküller kullanılarak geliştirilmektedir. Enzim duyarlı ilaç taşıyıcı sistemleri tedavinin yanı sıra çeşitli hastalıkların teşhisi içinde kullanılabilmektedir (Andersen ve ark., 2010; Adepu ve ark., 2021; Radu ve ark., 2022).

Fiziksel uyarılara duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler sıcaklığa duyarlı ilaç taşıyıcı sistemleri, ışığa duyarlı ilaç taşıyıcı sistemleri, manyetik duyarlı ilaç taşıyıcı sistemleri ve ultrasonik duyarlı ilaç taşıyıcı sistemleri olmak üzere dörde ayrılmaktadır.

Sıcaklığa Duyarlı İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Sıcaklık değişimlerinde ilaç etken maddesini hedeflendirildiği bölgede serbest bırakan ısıya duyarlı polimerlerden oluşan sistemlere "sıcaklığa duyarlı ilaç taşıyıcı sistemleri" denilmektedir. Bu sistemlerde kullanılan biyomateryaller genellikle miseller, kolloidal parçacıklar, jeller gibi sıcaklığa

duyarlı polimerler kullanılmaktadır. Sıcaklığa duyarlı ilaç taşıyıcı sistemlerinin mekanizması, taşıdığı ilaç etken maddesini 37 °C' lik sistemik dolaşım sıcaklığında tutarken, 40 °C'nin üzerinde seyreden tümörlü bölgeye geldiği anda ilaç etken maddesini serbest bırakmaya dayalı bir şekilde çalışmaktadır. Isıya duyarlı polimerler hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçları belirli bölgelere taşıyabilme özelliğine sahip olmaları ve ilacı indirgenmiş yan etkilerle sürekli dozajda verebilmeleri bakamından üstün nitelikli oldukları bildirilmiştir (Adepu ve ark., 2021; Radu ve ark., 2022).

Işığa Duyarlı İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Işığın nanopartikülü uyarmasıyla birlikte açma-kapama fonksiyonunu aktifleştirmesiyle ilaç etken maddesinin hedeflenen bölgede serbest bırakılmasına dayanan sisteme "ışığa duyarlı ilaç taşıyıcı sistemi" denilmektedir. Bu sistemde kullanılan ışıma türleri görünür ışık, ultraviyole ve yakın infrareddir. Işığa duyarlı biyomalzeme olarak entegre edilmiş fototepkisel lipozomlar, hidrojeller, dendronlar, miseller ve altın nanopartikülleri kullanılarak ilaç taşıyıcı sistemi geliştirilmiştir (Adepu ve ark., 2021; Rahim ve ark., 2021; Naziris ve ark., 2016).

Manyetik Duyarlı İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Etkili bir manyetik özelliğe sahip olan taşıyıcı ile bir manyetik alan tarafından kullanılarak uygulanan ilaç taşıyıcı sistemleridir. Manyetik nano/mikropartiküllere yüklenen ilaç etken maddesi, kan dolaşımına enjekte edilerek hedeflenen dokuya manyetik duyarlı ilaç taşıyıcı sistemi yönlendirmek üzere manyetik bir alan uygulanmaktadır. Yüksek frekanslı manyetik alanın harici uygulanmasıyla salım yoluyla ısı üretme kabiliyeti neticesinde ilaç salımı gerçekleşmektedir. Manyetik duyarlı ilaç taşıyıcı sistemlerinde kobalt, demir, nikel, kalsiyum silikatlar, lipozomlar ve polimerler yaygın olarak kullanılmaktadır (Naziris ve ark., 2016; Radu ve ark., 2022).

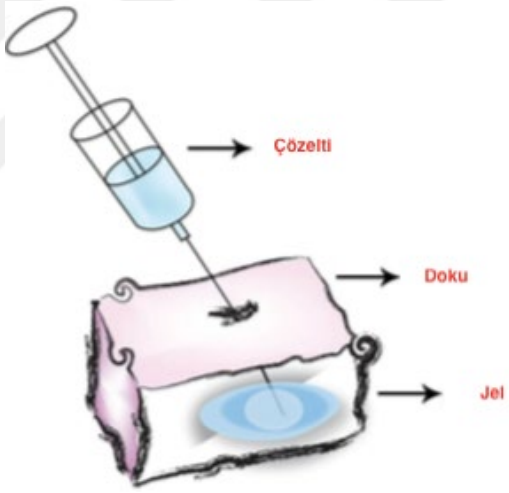
Ultrasonik Duyarlı İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Işıktan daha fazla geçirgenliğe sahip olan ultrason dalgalarının kullanıldığı bu sistemde, elde edilecek termal ve mekanik etkiyle önceden var olan kabarcıklar veya diğer kavitasyon çekirdeklerinin indüklenmesiyle, ilaç etken maddesinin kontrollü bir şekilde salınması gerçekleştirilmektedir. Polimer hidrojeller, polimer kaplı kabarcıklar/emülsiyonlardan ultrasonik duyarlı ilaç taşıyıcı sistemleri genellikle elde edilmektedir. Dokulara derinlemesine ve zarar vermeden nüfuz etmesi, ilaç salımını ve terapötik etkiyi arttırabilme kabiliyetleri bakımından avantajlı sistemlerdir (Naziris ve ark., 2016; Adepu ve ark., 2021; Radu ve ark., 2022).

2.3.2.2. *in situ* Jel İlaç Taşıyıcı Sistemi

İlaçların farmakokinetik özelliklerini ve hedeflenen bölgede salımını değiştirerek kontrollü bir şekilde terapötik etkiyi arttırabilmek üzere ilaç taşıyıcı sistemlerini geliştirmeye yönelik, çok sayıda kapsamlı araştırmaya yarım asırdan uzun bir zamandır odaklanılmıştır. Günümüzde *in situ* jel sistemleri, ilaçların hedeflenen bölgeye taşınmasında ve çeşitli biyomedikal uygulamalarda sahip olduğu avantajlı özellikleri nedeniyle dikkat çekmektedir. *İn situ* jeller, çözelti formunda topikal veya enjekte edilebilir formülasyonlarla vücuda verildikten sonra fizyolojik

koşullar altında jel formuna dönüşmektedir. Polimerik yapıda olan *in situ* jeller hasta uyuncu, uygulama sıklığı, kontrollü salımı, kolay uygulanması ve biyoyararlanımlarının yüksek olması bakımından diğer dozaj formlarına kıyasla üstün niteliklere sahiptir. Bu ilaç taşıyıcı sistemleri UV radyasyonu, pH değişimi, çözücü değişimi, sıcaklık, şişme ve iyonların varlığı gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişimlere (Şekil 2.16.) maruz bırakılarak geliştirilmektedir. Doğal ve sentetik polimerler kullanılarak elde edilen *in situ* jeller, çevresel faktörün etkisine bağlı olarak ağ yapılarındaki geçirgenlik özellikleri veya mekanik güçlerindeki değişmeler ile meydana gelmektedir. *İn situ* jel formülasyonları, ilacın mukoza ile temas halinde kalma süresinin uzatılması, istenilen dozun verilmesi ve ilacın kontrollü bir şekilde salımı gibi kritik öneme sahip faktörlerin gerçekleşmesine olanak sağlayarak, yarı katı dozaj formlarında sıklıkla görülen sorunlara yeni bir çözüm olarak ortaya çıkmıştır. Doğal ve sentetik polimerler ile elde edilen *in situ* jel formülasyonlarının oküler, transdermal, oral, vajinal, rektal, paranteral, bakkal, intraperitoneal ve enjekte edilebilir dozaj formları ile uygulanabilir şekilde hazırlanabilmektedir (Nirmal ve ark., 2010; Mohanty ve ark., 2018; Dhage ve ark., 2022; Ezike ve ark., 2023).



Şekil 2.16. pH ve sıcaklık etkisiyle uyarılarak fizyolojik değişime uğrayan çözeltinin doku içindeki jele dönüşümünün gösterimi (Singh ve ark., 2017)

2.3.2.2.1. in situ Jel İlaç Taşıyıcı Sistemlerinin Avantajları ve Dezavantajları

İlaç taşıyıcı sistemlerinde son zamanlarda ilgi göre *in situ* jellerin hastalıkların tedavisi için kullanımlarında avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Uygulama kolaylığı, hasta uyuncundaki başarısı, ilaçların uzatılmış ve kontrollü salımına olanak sağlaması, biyoyararlanımı arttırması, doz sıklığını azaltması sayesinde ilaç toksisitesini en aza indirgemesi, düşük doz ile maksimum terapötik etkiyi sağlaması, doğal polimerlerle hazırlanması durumunda biyouyumluluk ve biyobozunurluk sağlaması, hedeflendirilebilmesi, hidrofili yapıları sayesinde bağışıklık sisteminin tepkilerinden etkilenmeden fagositik aktiviteleri azaltarak *in vivo* dolaşım süresini artırabilmesi ve kolay modifiye

edilebilmesi bakımından avantajları bulunmaktadır (Srividya ve ark., 2001; Padmasri ve ark., 2020; Vyavahare, 2021).

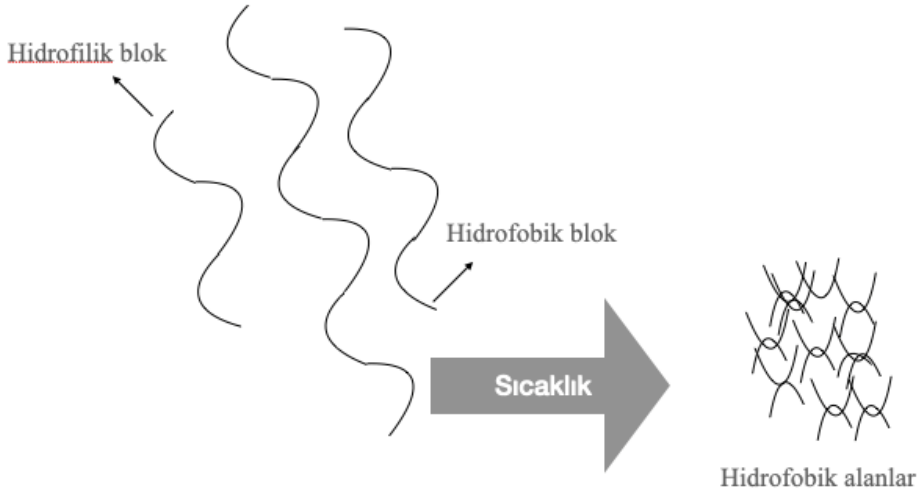
in situ jel ilaç taşıyıcı sistemlerinin dezavantajları ise sadece küçük dozları uygulamada kullanılabilir olması, yüksek miktarda sıvı gerektirmesi, düşük mekanik dayanıklılıklarından dolayı erken çözünme meydana gelebilmesi, ilacın çözelti formunun bozulma potansiyelinin yüksek olması ve nadiren de olsa stabilizasyon problemlerinin olması şeklinde belirtilmektedir (Ma ve ark., 2008; Padmasri ve ark., 2020; Vyavahare, 2021).

2.3.2.3. *İn situ* Jel İlaç Taşıyıcı Sistemlerinin Mekanizması

İn situ jel oluşumunda polimerleri tetikleyerek jel formunun meydana gelmesine olanak sağlayan dört genel mekanizma bulunmaktadır:

Fizyolojik uyaranlara bağlı in situ jel oluşumu

Sıcaklığa duyarlı *in situ* jel sistemlerde sıcaklık artışı ile çözelti-jel faz geçişi gerçekleşen polimerler için kritik sıcaklık aralığı gerekmektedir. Bu sıcaklık aralığı ortam ve fizyolojik sıcaklık olup, jelleşmenin gerçekleşmesi için vücut dışından harici bir sıcaklık uygulanması gerek kalmamaktadır. 20–25°C'de sıvı formda olan *in situ*, 35–37°C'deki vücut sıvısı ile temas ettiklerinde jelleşme mekanizması (Şekil 2.17.) gerçekleşmeye başlamaktadır. Termojelleşme, polimerin şişmesi veya çözünmesine dayalı olarak gerçekleşmektedir. Oluşan jel kararlı yapıda olup, enjekte edildiği yerinde kalarak bir haftadan birkaç aya kadar uzun emilim süresine ve vücut boşluğuna kolay uygulamaya sahiptirler. Sıcaklık kaynaklı jelleşme formuna geçen polimerlerden metil selüloz, etil selüloz, poloksamer, hidroksipropil metil selüloz (HPMC) gibi selüloz türevleri örnektir. Üst kritik çözelti sıcaklığına (ÜKÇT) sahip oldukları bilinen pozitif sıcaklığa duyarlı jeller, düşük kritik çözelti sıcaklığına (DKÇT) sahip olan negatif sıcaklığa duyarlı jeller ve döngüsel faz çözelti-jel geçişleri yaşanan termo-geri dönüşümlü jeller olarak kategorize edilmektedirler. Negatif sıcaklığa duyarlı jellerin polimerleri sıcaklığın artışıyla hidrofilik-hidrofobik geçiş gösterirken, pozitif sıcaklığa duyarlı jellerin polimerleri zıt geçiş eğilimi göstermektedirler (Sawhney ve ark., 1995; Guo ve ark., 1998; Podual ve ark., 2000; Ganji ve Vasheghani-Farahani, 2009; Kushwaha ve ark., 2012; Mohanty ve ark., 2018; Vadodaria ve ark., 2021; Khule ve ark., 2021).



Şekil 2.17. Sıcaklığa duyarlı *in situ* jel sistemlerindeki mekanizma

Sıcaklığa duyarlı geri dönüşümlü sistemlerde jelleşme sıcaklığının üstünde sıcaklıklarda jel formuna sahip olurken sıcaklık azalmasıyla tekrardan kararlı çözelti formuna dönüşebilme özelliği göstermektedir. Bu polimerlere örnek; poloksamer, pluronik (poloksamer), tetronik (poloksaminler), poli (etilen oksit), polipropilen oksit verilebilmektedir (Ganji ve Vasheghani-Farahani, 2009; Nirmal ve ark., 2010; Tushar ve ark., 2020; Padmasri ve ark., 2020; Khule ve ark., 2021). Sıcaklığa duyarlı *in situ* jel sistemlerde çoğunlukla kullanılan pluronik kopolimerler, polietilen oksit polipropilen oksit polietilen oksit yapısında düzenlenmiş tribloklardan oluşur ve genellikle Poloxamers® ve Pluronics® olarak bilinmektedir. Bu polimerlerin jelleşme süreci iki adımı içerir: misel oluşumu ve misel paketleme. Yapısında bulunan polipropilen oksit misel çekirdeğini oluştururken polietilen oksit grupları misel kabuğu oluşturmaktadır. Hem hidrofobik özellik gösteren polipropilen oksitin hem de hidrofilik özellik gösteren polietilen oksitin yapıda birlikte bulunması amfifilik özellik sağlamaktadır. Sıcaklığın artmasıyla polimerik sulu çözelti de bulunan polipropilen oksit miselleri dehidrate olarak jelleşme geçişi başlamakta ve polietilen oksit zincirleri şişerek üç boyutlu bir yapı oluşturmak üzere etkileşime geçmektedir.

Pluronics® kopolimerleri farmasötik yardımcı madde olarak çok ilgi çeken iyonik olmayan, suda çözünür malzemelerdir. Bu polimerler amfifilik bir karaktere sahip olup yüzey aktif özellikler göstermektedir. Aynı zamanda hidrofobik yüzeyler ve biyolojik membranlarla etkileşime girebilir. Sulu çözeltilerde, zayıf çözünen ilaçların çözünürlüğünü arttırmak için de kullanılmaktadır (Khateb ve ark, 2016; Zhang, ve Jiang, 2021).

pH duyarlı *in situ* jel sistemlerde pH'da meydana gelen değişimlere bağlı olarak alkali ve asidik özelliklere sahip polimerlerden oluşmaktadır. Ortamın pH'ı 7.4 olduğunda sıvı jelleşmeye başlamaktadır. pH duyarlı *in situ* jel oluşturma sistemler, oküler ilaç verme sistemi için çoğunlukla tercih edilmektedir. Asidik grupların (anyonik) bir oluşumu ortaya çıkması durumunda, dış pH'daki artışla birlikte hidrojelin şişmesinde artış meydana gelirken, ancak zayıf bazik gruplar durumunda

azalmaktadır (Ganji ve Vasheghani-Farahani, 2009; Laddha ve Mahajan, 2017; Tushar ve ark., 2020; Khule ve ark., 2021; Kurniawansyah ve ark., 2023).

İyon aktiveli sisteme bağlı in situ jel sistemleri: Çözelti, ortamdaki iyonik yapıların etkisiyle jel oluşumu gerçekleşmektedir. Örneğin göz yaşı sıvısında bulunan Ca^{+2}, Na^{+} ve Mg^{+2} katyonlarının varlığı ile sulu polimer çözeltinin jelleşmesini meydana gelmektedir. Sodyum aljinat, karragenan ve jellan zamkları gibi anyonik polimerler, katyon kaynaklı jelleşmenin gerçekleştiği polimer yapılardandır (Nirmal ve ark., 2010; Tushar ve ark., 2020; Khule ve ark., 2021; Kurniawansyah ve ark., 2023).

Fiziksel mekanizmaya bağlı in situ jel sistemleri: Fiziksel mekanizması difüzyon ve şişme esaslı gerçekleşmektedir. Şişme esaslı sistemlerde polimer dış ortamda bulunan sıvıları emdiğinde dışarıdan içeriye doğru şişer ve ilaç yavaşça salınmaktadır. Myverol (gliserol mono-oleat) yaygın olarak kullanılmaktadır. Difüzyon esaslı sistemlerde ise polimer çözeltisinden çözücünün çevreleyen dokuya difüzyonu neticesinde polimer matrisinin çökelmesi veya katılaşması ile gerçekleşmektedir. Difüzyon temelli mekanizmalarda N-metil pirolidon (NMP) yaygın olarak kullanılanmaktadır (Nirmal ve ark., 2010; Padmasri ve ark., 2020; Khule ve ark., 2021).

Kimyasal reaksiyonlara bağlı in situ jel oluşumu: İn situ jelleşmeyle sonuçlanan kimyasal reaksiyonlar, enzimatik çapraz bağlama, fotopolimerizasyon ve iyonik çapraz bağlama gibi süreçleri içermektedir (Nirmal ve ark., 2010; Padmasri ve ark., 2020; Khule ve ark., 2021).

İyonik çapraz bağlamaya dayalı *in situ* jel sistemlerde Mg^{+}, Na^{+}, Ca^{+} ve K^{+} gibi iyonların etkisiyle polimer, faz geçişine uğrayabilmektedir. Aljinik asit, aljinat zincirlerindeki guluronik asit bloğu ile etkileşime girdiğinde Ca^{+2} gibi katyonların varlığında jelleşmeye uğramaktadır (Nirmal ve ark., 2010; Padmasri ve ark., 2020; Tushar ve ark., 2020; Khule ve ark., 2021).

Enzimatik çapraz bağlamaya dayalı *in situ* jel sistemlerde ise, vücut sıvılarında bulunan enzimlerle çapraz bağlar oluşturulmaktadır. Güvenilir olmayan kimyasallar gerekmeden fizyolojik koşulların altında gerçekleşen bu sistemler örnek olarak yapılan bir çalışmada, insülin salabilen hidrojeller incelenmiştir. İnsülin ve glikoz oksidaz içeren katyonik pH'a duyarlı polimerler, kan glikoz seviyesine yanıt olarak şişerek hapsolmuş insülini atımlı bir şekilde serbest bırakabildiği gözlemlenmiştir (Sawhney ve ark., 1995; Guo ve ark., 1998; Podual ve ark., 2000; Ganji ve Vasheghani-Farahani, 2009; Kushwaha ve ark., 2012; Mohanty ve ark., 2018; Tushar ve ark., 2020; Khule ve ark., 2021; Vadodaria ve ark., 2021).

Fotopolimerizasyona dayalı *in situ* jel sistemlerin oluşumunda monomer veya reaktif makromer ve başlatıcı çözeltisi kullanılarak, jel oluşturmak için elektromanyetik radyasyon uygulaması kullanılabilmektedir. Uzun dalga boylu ultraviyole ve görünür dalga boyları kullanılan bu sistemler, enjeksiyon yolu ile istenilen bölgeye ulaştırıldığında fiber optik kabloların yardımı ile fotokürlenerek ilacı serbest bırakmaktadır (Sawhney ve ark., 1995; Guo ve ark., 1998; Podual ve ark., 2000; Ganji ve Vasheghani-Farahani, 2009; Kushwaha ve ark., 2012; Mohanty ve ark., 2018; Khule ve ark., 2021; Vadodaria ve ark., 2021).

2.3.2.3.1. İn situ Jel İlaç Taşıyıcı Sistemlerinde Kullanılan Polimerler

İn situ jel ilaç taşıyıcı sistemlerinde kitosan, gellan zamkı, karragenan, karbopol, sodyum aljinat, hidroksipropil metilselüloz (HPMC), polaksomer, guar zamkı, ksantan zamkı, ksiloglukan gibi polimerler kullanılmaktadır. Kitosan, gellan zamkı, karragenan, karbopol, sodyum aljinat, guar zamkı, ksantan zamkı, ksiloglukan doğal polimerler olup; poliakrilik asit, metilselüloz, HPMC, polaksomer, selüloz asetat fitalat, poli (laktik-ko-glikolid asit) (PLGA) sentetik polimerler arasında yer almaktadır (Nirmal ve ark., 2010; Laddha ve Mahajan, 2017; Mohanty ve ark., 2018; Tushar ve ark., 2020; Padmasri ve ark., 2020; Khule ve ark., 2021; Dhage ve ark., 2022).

2.3.2.3.2. in situ Jel İlaç Taşıyıcı Sistemlerinin Değerlendirilmesi ve Karakterizasyonu

İlaç formülasyonunun hazırlanması esnasında istenen terapötik etkiyi sağlayabilecek ilaç ve ilaç bileşenlerinin belirlenmesi için jelin pH, berraklık, reolojisi, çözelti-jel geçiş sıcaklığı, jel mukavemeti, jelleşme kapasitesi, ilaç-polimer etkileşim çalışması ve termal analiz gibi karakterizasyon çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Formülasyonun pH değeri ilacın stabilitesini ve çözünürlüğünü etkilemektedir. Hazırlanan ilaç formülasyonlarının belirlenen prosedürlere göre pH 4 ve pH 7' nin tamponları kullanılarak pH dengesi sağlanmaktadır. Oluşturulan jel formülasyonu beher içerisinde sürekli karıştırılarak 1 ml NaOH eklendikten sonra pH metre aracılığıyla pH'ı ölçülerek belirlenmektedir (Padma ve ark., 2010; Pawar ve ark., 2012; Anshul ve Renu, 2015; Devasani ve ark., 2016).

Formülasyonun jelleşme öncesi ve sonrasındaki berraklığı, siyah ve beyaz bir arka planda ışık altında incelenerek berraklık, bulanıklık oluşumu veya istenmeyen parça tespiti ile belirlenmektedir (Pandit ve ark., 2007; Anshul ve Renu, 2015; Devasani ve ark., 2016).

İn situ jel ilaç taşıyıcı sistemlerinin formülasyonlarının viskozitesi ve reolojik özellikleri reometre ve viskozimetre cihazları kullanılarak test edilmektedir. Bu ilaç formülasyonlarının özellikle parenteral ve intraoküler uygulamalarında hastanın hiçbir sorun yaşamayacak şekilde olmalıdır (Kashyap ve ark., 2007; Devasani ve ark., 2016).

Formülasyonun yapışma, sertlik ve sıkıştırılabilirliği hakkında bilgi veren doku analizinden elde edilen veriler ile ilaç formülasyonunun *in vivo* parametreleri ile ilişkilendirilebilmektedir. Bu sayede ilaç formülasyonunun hasta uyuncu bakımından özellikleri değerlendirilebilmektedir. Formülasyonun sertliği ve kohezyonu çözeltinin enjekte edilebilirliğini etkilediği için formülasyon *in vivo* olarak uygulanmasında doku analizörü kullanılarak test edilip elde edilen veriler değerlendirilmektedir (Kashyap ve ark., 2007; Gratieri, 2010; Devasani ve ark., 2016).

Sıvı fazdan jel faza geçişin gerçekleştiği çözelti-jel geçiş sıcaklığı, formülasyonu termo-geri dönüşümlü polimerleri içeren *in situ* jel ilaç taşıyıcı sisteleri için söz konusudur. Formülasyondan alınan 2 ml'lik bir numune test tüpü içerisinde su banyosuna yerleştirilerek su banyosundaki sartan sıcaklıktaki değişime bağlı olarak jelleşme durumu incelemektedir. Tüp eğilimine bağlı olarak jel hareket etmiyorsa bu sıcaklık jelleşme sıcaklığı olarak belirlenmektedir (Miyazaki ve ark., 1998; Devasani ve ark., 2016).

Formülasyonu hazırlanan jelin gücü, kullanılan mekanizmaya bağlı olarak jelleştirici maddeye de bağlıdır. Reometre kullanılarak formülasyonda kullanılan jelleştirici maddenin jelleşme mekanizmasına bağlı olarak çözelti formunun beherde belirli miktarda jel hazırlanarak, beherin sıcaklığı belli bir değere kadar yükseltilmektedir. Mekanizmaya bağlı olan prob üzerindeki yükte meydana değişmeler jelin gücü olarak ölçülebilmektedir (Maheswara ve ark., 2011; Agarwal ve ark., 2011; Devasani ve ark., 2016).

Oftalmik *in situ* jel formülasyonları için belirlenen jelleşme kapasitesi, jelleşme yeteneğinin belirlenmesinde kullanılan yöntemdir. Hazırlanan *in situ* jel formülasyonunun jelleşme yeteneğini incelemek üzere simüle edilmiş gözyaşı sıvısının bulunduğu bir test tübünde, jelin çözünmesi için geçen sürenin görsel olarak değerlendirilmesine dayanmaktadır (Kurniawansyah ve ark., 2018).

İlaç-polimer etkileşim çalışması ve termal analizleri için Fourier Transform Infrared (FTIR) spektroskopisi ile etkileşim çalışmaları yapılabilmektedir. *İn situ* jeldeki su oranını ölçmek üzere termogravimetrik analiz (TGA) yapılabilir. Jelleşmede kullanılan saf aktif bileşenle kıyasla termogramlarda bir değişiklik olup olmadığını belirlemek için Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DTK) kullanılmaktadır (Kashyap ve ark., 2007).

2.3.2.3.3. *İn Vitro* İlaç Salım Çalışmaları

Oküler, rektal ve oral uygulanan *in situ* jel formülasyonlarından *in vitro* ilaç salımını değerlendirmek üzere Franz difüzyon hücresi ile yapılan çalışmaları kapsamaktadır. İki yarım hücre, bir reseptör bölmesi ve bir donör bölmesinden oluşan sistemde, iki yarım hücre selüloz membranların yardımıyla ayrılmış haldedir. Donör bölmesine yerleştirilen formülasyon ve reseptör bölmesine yerleştirilen tampon ile düzenek termostat kontrollü manyetik karıştırıcıya yerleştirilmektedir. Ortamın sıcaklığı 37°C ± 0.5°C'de tutulan sistemden, numuneler düzenli olarak alınarak analiz edilmektedir (Mitan ve ark., 2007; Devasani ve ark., 2016).

2.3.2.3.4. İn Situ Jel İlaç Taşıyıcı Sistemlerinin Uygulanabilirliği

Yenilikçi ilaç taşıyıcı sistemlerinden biri olan *in situ* jeller, uygulama yoluna bağlı olarak oral, nazal, enjekte edilebilir, bukkal, oftalmik, intraartiküler, vajinal ve rektal olarak sınıflandırılabilmektedir.

a. Oral *İn Situ* Jel İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Oral dozaj formunda hazırlanmış olan *in situ* jel formülasyonlarının amacı; geleneksel yöntemlerle hazırlanan formülasyonun mideden hızlı geçişe bağlı olarak elde edilen düşük biyoyararlanım sorununu ortadan kaldırmaktır. Mide ve bağırsak sisteminde bölgeye özgü ilacın salınımı, polimerin pH'taki değişiklik veya sıcaklık değişikliğe veya iyonik etkileşimine bağlı olarak çözünmüş formda ilaç içeren polimerin sulu çözeltisinin, mide sıvısıyla temas ettiğinde çözelti-jel

geçişiyle meydana gelmektedir (Singh ve ark., 2017; Padhan ve ark., 2019). Oral *in situ* ilaç taşıyıcı sistemlerinde ksiloglukan, gellan ve pektin yaygın olarak kullanılmaktadır. Teofilinin oral *in situ* taşıyıcı sistemi için gellan kullanılarak, parasetamolün ise pektin kullanılarak geliştirilen *in situ* jelleşen formasyonları üzerine yapılan çalışmalarda, sürekli ilaç salımı profillerinin beraberinde biyoyararlanımlarında da artış gözlemlendiği bildirilmiştir (Miyazaki ve ark., 1999; Wataru ve ark., 2004).

b) Nazal *İn Situ* Jel İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Proteinler, aşılar ve peptitler gibi pek çok bileşiğin dağıtımını sağlamak üzere kullanılan nazal *in situ* jel formülasyonları sinüzit, alerjik rinit, rino-sinüzit gibi hastalıkların tedavisi için geliştirilmiştir. Burun sıvılarının emilimiyle oluşumu başlayan *in situ* jel ilaçlar, etken maddenin kontrollü salımını sağlamaktadır. Nazal uygulamada jel oluşumunda kullanılan polimerler arasında polaksamer, kitosan, carbopol, pektin, gallan zamkı, ksantan zamkı, HPMC yer almaktadır. Gallan zamkı ve ksantan zamkının nazal *in situ* jel formülasyonunda polimer olarak kullanıldığı ilaç taşıyıcı sistemleri üzerinde yapılan bir çalışmada; mometazon furoatın alerjik rinit tedavisindeki piyasadaki mometazon furoatın preparatı ile *in situ* jelin antijen kaynaklı burun semptomları üzerindeki etkisi karşılaştırıldığında nazal *in situ* jelin semptomlardaki artışı, piyasadakine kıyasla daha yüksek oranda engellediği tespit edilmiştir (Singh ve ark. 2017; Mohanty ve ark., 2018).

c) Enjekte Edilebilir *İn Situ* Jel İlaç Taşıyıcı Sistemleri

İlaçların uzun süreli salınımını sağlayabilme ve hasta uyuncunu iyileştirme özelliğine sahip olan polaksamerlerden yapılan termo-geri dönüşümlü jeller, yaygın olarak enjekte edilebilir *in situ* jel formülasyonunda kullanılmaktadır. Kolorektal tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılan doksorubisinin çok sayıda yan etkisi bulunmaktadır. Yan etkilerini indirgemek üzere *in situ* jel formülasyonu hazırlanarak yapılan bir çalışmada, tümör içi enjeksiyon yöntemi ile zein ilave edilmiş doksorubisin uygulandıktan sonra uygulama yerinde jelleşen ilacın, kanda düşük konsantrasyonda bulunan doksorubisinin biyoyararlanımının artarak yan etkilerinin azaldığı gözlemlenmiştir (Kurniawansyah ve ark., 2018; Ezike ve ark., 2023).

d) Bukkal *İn Situ* Jel İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Oral mukozitin tropikal tedavisi, yaranın iyileşme sürecinin hızlandırılması, bakteriyel enfeksiyonların iyileştirilmesi ve ağrının kontrolü için bukkal *in situ* jel taşıyıcı sistemleri kullanılmaya başlanmıştır. Kemoterapi ve radyoterapi uygulanan hastlarda gelişen oral mukozit, şiddetli ağrı ve kanamaya sebep olmaktadır. Oral mukoziti önlemek amacıyla lokal anesteziklerin etkisinin zayıf olması sebebiyle sık aralıklarla ağız içinde kullanılması, mukozada felçe neden olabilmektedir. Geliştirilen bukkal *in situ* jeller, uygulama sonrasında sıcaklık ve iyon değişimi gibi uyaranlara bağlı olarak jele dönüşerek, mukoza içerisindeki ülseratif mukozalarda koruyucu bir katman haline gelmektededir. Bukkal *in situ* jel formasyonu ile ilacın sürekli salınımı sağlanarak, sık doz aralıklarının ve dolayısıyla yan etkilerinin azaltılmasına imkan verilmiştir (Fonseca-Santos ve Chorilli, 2018; Bashir ve ark., 2019).

e) Vajinal ve Rektal *İn Situ* Jel İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Rektal *in situ* jeller üzerine yapılan bir çalışmada tavşanlara uygulanan *in situ* jellerin, geleneksel fitil uygulaması ile kıyaslandığında, hedeflenen bölgede ilacın kalma süresininde uzatmasının etkisiyle biyoyararlanımın arttığı gözlenmiştir. Vajinal uygulama için yapılan bir çalışmada da klotrimazol ilaç antifungal etkinliğinin, poloksamerler ve polikarbofiller mukoadezif termosensitif jellerin bir karışımı kullanıldığında arttığı ve ilacın etki süresinin uzadığı gözlemlenmiştir (Miyazaki ve ark., 1998; Kouchak, 2016).

f) Oftalmik *İn Situ* Jel İlaç Taşıyıcı Sistemleri

Geleneksel oftalmik preparatlar olan merhem, solüsyon ve çözeltide, hasta uyuncu ve biyoyararlanım düşüktür. Bu nedenle *in situ* jel formülasyonları ile hedef bölgede terapötik etkiyi ve kornea öncesi tutulma süresini artıran nitelikte oftalmik preparatların geliştirilmesine yönelik çalışmalara yön verilmiştir. Oftalmik *in situ* jel ilaç taşıyıcı sistemleri, insülin, ksiloglukan ve aljinik asit gibi polimerler kullanılarak hazırlanan formülasyonlarında amaç gözyaşı sıvısı ve gözdeki benzer dirençli yapılar nedeniyle, istenilen terapötik etkinin elde edilememe ve düşük biyoyararlanım sorununu ortadan kaldırmaktır. Geliştirilen *in situ* jel formülasyonları karboksil metil selüloz, karbomerler, HPMC, polivinil alkol gibi viskozite arttırıcı maddeler ve pH, sıcaklık ve iyon duyarlılığı gibi uyaran sistemleriyle indüklenen polimerle hazırlandığında, göz preparatlarında istenilen gelişmiş biyoyararlanım elde edilebilmektedir (Kavitha ve Rajas, 2011; Mohanty ve ark., 2018; Kanwarve Sinha, 2019; Dhage ve ark., 2022).

g) İntraartiküler *İn Situ* Jel İlaç Taşıyıcı Sistemleri

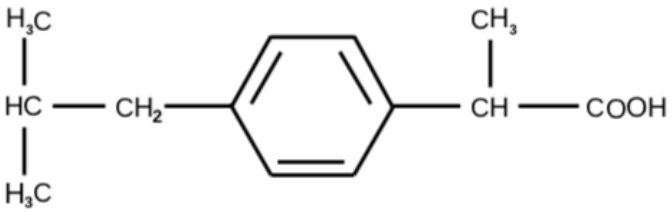
Genellikle orta ve ileri yaşlarda gözlemlenen dejeneratif bir hastalık olan osteoartrit (OA), tedavisinde asıl amaç ağrıyı azaltmak ve eklem fonksiyonunu sürdürebilir hale getirmek veya iyileştirmektir. OA tedavisinde non-steoridal antiinflamatuvar ajanlar (NSAİİ'ler), analjezikler, eklem içi enjeksiyonlar (kortikosteroidler, hyaluronik asit) tercih edilen farmakolojik tedavi yöntemlerindendir. Ancak NSAİİ'lerin OA tedavisindeki yararlı etkilerine karşın gastrointestinal, kardiyovasküler, alerji, döküntü, hepatotoksisite ve nefrotoksisite gibi yan etkilere neden olabilmektedirler. OA tedavisinde düşük dozlu tedavilerin etkisi istenen düzeyde olmadığından ağrıya karşı sık doz alımı gerektirmekte, ilacın farmakolojik etkinliği hedeflenen bölgede istenilen düzeye ulaşmamaktadır. İlacın etkisinin istenilen düzeye getirilmesi için bu durumda da sık aralıklı ve yüksek doz uygulanmasına bağlı istenmeyen yan etkiler görülmektedir. İntraartiküler *in situ* jel ilaç enjeksiyonu, ilaçların maksimum lokal etki ve minimum sistemik maruziyeti gerçekleştirmek için doğrudan eklem boşluğuna uygulanmasıyla, ağrının giderilmesinde veya azaltılmasında ilacın farmakolojik güvenliğini ve etkinliğini artırma şansı vermektedir. Bu nedenle, NSAİİ'lerin intraartiküler uygulanması, oral uygulama sınırlı lokal terapötik konsantrasyonlara ulaştığında veya belirgin sistemik yan etkiler gösterdiği durumlarda makul bir farmakolojik tedavi seçeneği sunmaktadır (Vidotto ve ark., 2013; Ünal ve ark., 2016; Bilge ve ark., 2016; Arden N., 2018; Haifei Xu ve ark., 2019).

Sıcaklığa duyarlı jeller kullanılarak geliştirilen enjekte edilebilir *in situ* jel ilaç taşıyıcı sistemleriyle geliştirilen formülasyonların intraartiküler olarak uygulandıklarında, vücut sıcaklığında jele dönüştüğünde sürekli salım matrisi gösterdikleri gözlemlenmiştir. Flurbiprofen içeren bir tsıcaklığa duyarlı jel tasarlanan br çalışmada, inflamatuvarı azalttığı ve analjezik etki süresini de uzattığı gözlemlenmiştir (Li ve ark., 2020). Diklofenak sodyum yüklü intraartiküler *in situ* jel ilaç taşıyıcı sistemi üzerine yapılan bir çalışmada da, *in situ* jel ve polimerik nanopartiküllerin kombinasyonu ile oluşturulan formülasyon ile etken maddenin eklemlerde kalmak süresinin artışını sağladığı belirtilmiştir. Aylık dozlama ile hasta uyuncunu iyileştiren ve sistemik yan etkileri ortadan kaldıran diklofenak sodyum yüklü nanopartikül taşıyan *in situ* jel ilaç taşıyıcı sisteminin artrit tedavisi için umut vaat edecek sonuçları olabileceği rapor edilmiştir (Küçüktürkmen ve ark., 2017).

2.4. İbuprofen

Steroid olmayan bir ilaç (NSAİİ) olan ibuprofenin kimyasal adı (2RS)-2[4-(2-Metilpropil)fenil]propiyonik asit olup, yaygın olarak antiinflamatuvar, analjezik ve antipiretik kullanımlara sahiptir. Propanol ve aseton gibi organik çözücülerde yüksek çözünürlüğe sahip olan ibuprofenin sudaki çözünürlüğü oldukça düşüktür. İbuprofenin molekül ağırlığı 206.3 g/mol olup, kimyasal formülü $C_{13}H_{18}O_2$ olan ibuprofenin yapısı şekilde (şekil 2.18.) gösterilmiştir (Adams ve ark., 1969; Filippa ve Gassul, 2013).

Propiyonik asitten türetilen bir ilaç olan ibuprofenin, oral olarak günde iki kere 20-30 mg/kg/doz olarak kullanıldığında pik plazma ilaç konsantrasyonu 50-100 µg/mL aralığında gözlemlenmiş olup, yan etkisi olmadan tedavide etkin bir şekilde kullanılabildiği rapor edilmiştir (Konstan ve ark., 1995; Lands ve Dauletbaev, 2010; Pressler, 2011). Baş ağrısı, romatoid artrit, patent duktus arteriozus, migren, kistik fibroz, osteoartrit, spondilit, diş ağrısı, ateş düşürme, şişliği azaltmada, yumuşak doku bozukluklarının ve ameliyat sonrası ile ilişkili hafif ila orta şiddette ağrının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Piyasada oral, oftalmik, topikal, vajinal, rektal, paranteral, intravenöz ve intramuskular dozaj formları bulunmaktadır (Sharma ve ark., 1999; Tan ve ark., 1999; Potthast, 2005; Ritschel ve Kearns, 2009; Tsetskhladze ve ark., 2023).



Şekil 2.18. İbuprofenin kimyasal yapısı

Siklooksijenaz-1 (COX-1) ve COX-2'nin seçici olmayan bir inhibitörü olan ibuprofenin yarı ömrü yaklaşık iki saat olup, yüksek membran geçişine sahip olup, suda çözünürlüğü oldukça düşüktür. İbuprofenin farmakokinetik özellikleri ayrıca ekstravasküler uygulama sonrası zirveye ulaşma süresi (tmax), 1.25 saat, görünür dağılım hacmi (Vd) 0.1 l/kg, değişime uğramadan idrardan atılan ilaç fraksiyonu (fel) 0.01, emilim fraksiyonu (f) 1.0, plazmada proteine bağlanma oranı (EPB) %99, terapötik aralığı 5-50 µg/ml, olarak bildirilmiştir. İbuprofenin emilimi çözünme hızından olumsuz etkilenmesi sebebiyle istenilen terapötik sonuca ulaşılmasını güç kılar, bu da daha sık dozların alınmasına sebep olabilmektedir. Sık doz alımı da hasta uyumunu etkilemektedir (Ritschel ve Kearns, 2009; Orlando ve ark., 2015; Ofokansi ve ark., 2016; Süto ve ark., 2016). İbuprofen karaciğerde hızla metabolize edilir ve idrarla atılmaktadır. Uygulanan son dozdan 24 saat sonra tamamen atılmaktadır. İbuprofen romatizmal hastalıklarda kullanımında eklemdeki semptomlar üzerinde kontrol etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. OA tedavisinde etkili olduğu bilinen ibuprofen, hem sinovyal sıvıda hem de plazmada doz bağımlı bir difüzyon sergilemektedir (Bushra ve Aslam, 2010; Gallelli ve ark., 2012).

COX-1 ve COX-2'nin aktivitesini inhibe eden ibuprofen, prostaglandin ve tromboksan sentezinde rol oynayan bir enzim olan siklooksijenazın seçici olmayan bir inhibitörüdür. İnflamasyon, anjiyogenez, kemik rezorpsiyonu gibi patalojik süreçlerde postaglandinler rol oynamaktadır. COX enzimleri, tromboksan ve prostaglandinlere dönüşümünde etkilidir. COX-1, böbrek kan akışının düzenlenmesi, trombosit agregrasyonunda denetleme işlevine sahiptir. COX-2 inhibisyonu iltihaplanma, ağrı, ateşe aracılık eden postaglandinleri azaltarak antiinflamatuvar, analjezik, ve antipiretik etkilere neden olurken, COX-1 inhibisyonu ise romboksan oluşumunu engelleyerek trombosit agregasyonunu ve antitrombotik etkiyi etkilemektedir (Rao ve Knaus, 2008; Bushra ve Aslam, 2010; Smith ve ark., 2011).

İbuprofenin neden olduğu yaygın yan etkiler gastrointestinal sistemde mide bulantısı ve ekşimesi, mide kanaması, ishal, kabızlık olarak belirtilmiştir. Gastrointestinal sistemde sebebi olduğu yan etkileri en aza indirgemek ve hedeflenen bölgede kontrollü salınımını sağlamak üzere, ibuprofenin oral olmayan dozaj formlarının geliştirilmesine ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir. Ayrıca burun kanaması, kalp yetmezliği ve bronkospazm gibi risk faktörlerini içeren yan etkilere de sahiptir. Az görülen yan etkileri arasında baş ağrısı, bulanık görme ödem, döküntüler, trombositopeni; nadiren de olsa görülen yan etkileri arasında da akut böbrek yetmezliği nevrotik sendrom ve interstisyel nefrit, şiddetli astımı olan hastalarda da astımı kötüleştirmesi gibi durumlar yer almaktadır (Rao ve Knaus, 2008; Bushra ve Aslam, 2010; Smith ve ark., 2011). İbuprofenin neden olduğu bu yan etkiler, sahip olduğu üstün özelliklerinin yanı sıra göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Ayrıca ibuprofenin gıda etkileşimi de tedavinin etkinliğini sağlarken oluşturabileceği zararlar açısından dezavantajları olarak görülmektedir. İbuprofenin Coca-Cola ile kullanılması durumunda gelişebilecek yan etkilere dair yapılan bir klinik araştırmada, Coca-Cola'nın ibuprofenin emilim miktarını arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca *tamarindus indica* meyvesi ile ibuprofenin birlikte

kullanımına yönelik başka bir çalışmada da *tamarindus indica* meyvesinin ibuprofenin biyoyararlanımını anlamlı bir şekilde arttırdığı tespit edilmiştir. İbuprofeni gıda alımına yönelik yapılan tüm çalışmalar doğrultusunda alınan gıda türüne bağlı olarak ibuprofenin plazma konsantrasyonu-zaman eğrilerinde etkili olduğu belirtilmiştir (Moore, 2007; Bushra ve Aslam, 2010).

3.MATERYAL VE METOT

3.1. Deneylerde Kullanılacak Formülasyonların Hazırlanması

Deneylerde kullanılacak formülasyonların hazırlanması için aşağıdaki uygulamalar gerçekleştirildi.

3.1.1. İbuprofen *İn Situ* Jel Formülasyonu Hazırlanması:

Hazırlanan *in situ* jel formülasyonları için polimer olarak, Pluronic® F 127 (Sigma Aldrich, Almanya) ve Hidroksi propil metil selüloz (HPMC) (Sigma Aldrich, Almanya), yardımcı çözücü olarak Tween 80 (Sigma Aldrich, Almanya) ve etanol (Sigma Aldrich, Almanya) çözücü olarak ise distile su kullanıldı. Formülasyonlar Pluronic® F-127'nin ısıya duyarlı jel oluşturma özelliği ve HPMC'nin mukoadhezif özelliklerinden yararlanarak oluşturuldu. Ayrıca, Tween 80 ve etanol stabilite ve çözünürlük artırıcı olarak formüle dahil edildi.

3.1.1.1. Ön Formülasyon Çalışmaları

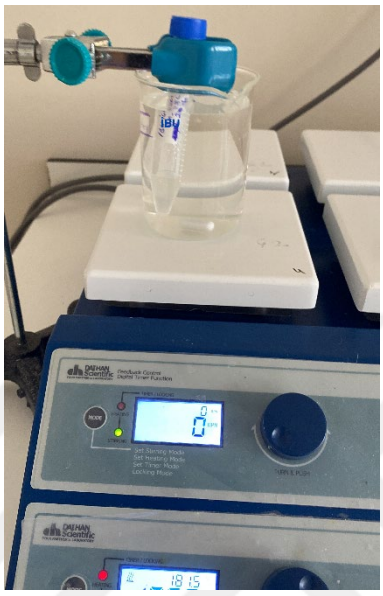
Formülasyon çalışmalarına farklı yüzdelerde polimer içeren formülasyon oranları belirlenerek başlanmıştır. Polimer yüzdeleri kaynaklarda kullanılan oranlara uygun şekilde seçildi. Etkin madde konsantrasyonu ibuprofenin izotonik konsantrasyonundan yüksek, yani hipertonik olduğu için sodyum klorür kullanımı gerekmemiştir.

Sıcaklık etkisi ile jelleşen polimerler ile çalışırken karıştırma işleminin soğuk bir ortamda yapılması gerekmektedir. Bu sebeple hazırlama sırasında sıcaklık 10°C olacak şekilde ayarlanan manyetik karıştırıcı kullanıldı. Öncelikle etkin madde içermeyen jel formülasyonları hazırlamak için, polimerler hassas terazide (Axis, Polonya) tartıldı (Şekil 3.1) ve üzerine distile su soğuk olarak (4–5 °C) eklendi. Karışım, buz banyosu üzerinde bir cam çubukla iyice karıştırıldı. Başka bir beherde tartılan HPMC distile su içerisinde çözündürüldü. Etanol ve Tween 80 ile bir karışım hazırlandı.



Şekil 3.1. Hassas terazide maddelerin tartım işlemi

HPMC ve Pluronic® F 127 çözeltileri farklı derişimlerde olacak şekilde yardımcı çözücü karışımı ile birleştirildi. Hacim istenen seviyeye ulaşana kadar soğuk su eklendi ve çözeltinin homojen olabilmesi için 24 saat boyunca manyetik karıştırıcıda (Daihan,Kore) 100 rpm hızda karıştırıldı (Şekil 3.2). Hazırlanan fomülasyonlar steril kaplarda muhafaza edildi. Ön formülasyon çalışması için hazırlanan formülasyonlar (Şekil 3.3) kodları ile birlikte Çizelge 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Ön formülasyonun manyetik karıştırıcıda karıştırılması

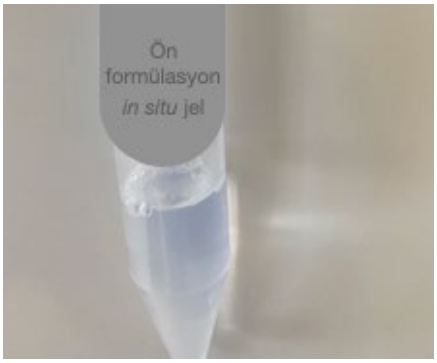


Şekil 3.3. Ön formülasyon çalışmasında hazırlanan *in situ* jel formülasyonunun görüntüsü

3.1.1.2. Formülasyonların Seçimi ve *İn Vitro* Jelasyon Çalışması

Parenteral olarak uygulanacak *in situ* jel formülasyonunun en ideali vücut sıcaklığı olan 37 °C'dir. Formülasyonda kullanılan polimer miktarına bağlı olarak formülasyonun solüsyon-jelleşme sıcaklığında değişim göstermektedir (Sun ve ark., 2009). Bu nedenle hazırlanan tüm formülasyonlarda jelleşme sıcaklığını belirlemek üzere formülasyonlar 0°C- 50°C'ye kadar Test Tüpü Eğme Yöntemi (Test Tube Tilting Method) kullanıldı ve test her bir formülasyon için 3 kez

tekrar edildi ve sonuçlar kaydedildi (Çizelge 3.1.). Test sonuçlarına göre uygun formülasyon (Şekil 3.4) belirlendi.



Şekil 3.4. Etkin maddesiz (sıvağ) *in situ* jel formülasyonunun görüntüsü

Çizelge 3.1. *İn situ* jel ön formülasyon bileşenleri

Formülasyon	Pluronic ® F 127 (gram)	HPMC (gram)	Tween 80 (gram)	Etanol (gram)	Distile Su (km:kafi miktar)	Jelleşme Sıcaklığı (°C)
F1	15	-	5	5	km 100 mL	50°C' çözelti halinde
F2	20	-	5	5	km 100 mL	50°C' çözelti halinde
F3	25	-	5	5	km 100 mL	40,8°C±0.2
F4	30	-	5	5	km 100 mL	Oda sıcaklığında jel halinde
F5	15	0.5	5	5	km 100 mL	50°C' çözelti halinde
F6	15	1	5	5	km 100 mL	46,2°C ±0,4
F7	20	0.5	5	5	km 100 mL	42,8°C ±0,4
F8	20	1	5	5	km 100 mL	38,8°C ±0,2
F9	25	0.5	5	5	km 100 mL	36,8°C±0,2
F10	25	1	5	5	km 100 mL	30,4°C ±0,2
F11	30	0.5	5	5	km 100 mL	Oda sıcaklığında jel halinde

3.1.1.3. Etkin Madde İçeren Formülasyonların Hazırlanması

Vücut sıcaklığında jelleşen polimer oranlarındaki formülasyon (Şekil 3.5), 0.25 ml (25 mg) etkin madde olan ibuprofen (Adeka İlaç, Türkiye) yüklenerek hazırlanmıştır. Etkin madde içermeyen formülasyonların hazırlama yöntemine uygun olarak, etkin madde önce yardımcı çözücüler olan Tween 80 (Sigma Aldrich, Almanya) ve etanol (Tekkim, Türkiye) 24 saat boyunca karıştırılılmış, ardından polimer çözeltileri ile bir araya getirilmiştir. Nihai karışım 24 saat boyunca 100 rpm hızda ve 10°C sıcaklık koşulunda hazırlanmıştır.



Şekil 3.5. Etkin madde (ibuprofen) içeren *in situ* jel formülasyonunun görüntüsü

3.1.2. *İn situ* Jel Formülasyonların Karakterizasyonu

Seçilen *in situ* jel formülasyon oranın da hem etkin madde içeren hem de içermeyen formülasyonlar üzerinde berraklık analizi, pH analizi, reolojik davranış, viskozite değişimi, enjektörle uygulanabilirlik çalışması yapılmıştır.

3.1.2.1. Fiziksel Görünüş ve Berraklık

Hazırlanan tüm *in situ* jel formülasyonlar fiziksel görünüşleri açısında görsel olarak incelenmiştir. Numune, şeffaf ve steril cam tüp veya behere konularak partikül varlığı ihtimaline karşın beyaz ve siyah arka plan kullanılarak jel sistemlerin berraklığı ortam ışığının yeterli olduğu bir alanda değerlendirilmiştir. Hazırlanan formülasyonda herhangi bir partikül, faz ayrışması veya topaklanma, yabancı madde ve formülasyonun istenilen renkte olup olmadığı çıplak gözle değerlendirilmiştir (Patil ve ark., 2015; Saini ve ark., 2015; Padmasri ve ark., 2020; Mahalingam ve ark., 2010).

3.1.2.2. Enjektörle Uygulanabilirlik Testi

Hazırlanan formülasyonlar, 5 ml'lik enjektörlere aktarıldı. Enjektörden başarıyla dağıtılabilen çözeltiler "uygun," dağıtılamayanlar ise "uygun değil" olarak değerlendirildi (Yannic ve ark, 2008).

3.1.2.3. pH Analizi

Etkin madde içeren *in situ* jel formülasyonların pH değeri ölçümleri hem oda sıcaklığında hem de 37°C'de pH metre ile yapılmıştır (Nirmal ve ark., 2010; Soni ve ark., 2019).

3.1.2.4. Reolojik Davranışların İncelenmesi

Etkin madde yüklenerek hazırlanan *in situ* jel formülasyonların reolojik davranışları 25°C ve 37°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta tekrarlanarak incelenmiştir. Analizler hem çözelti hem de jel formu ölçümleri için 100 rpm hızında çalışan bir Brookfield viskozimetresi kullanılarak belirlendi. Çözelti formunda oda sıcaklığında ölçümler alındıktan sonra 37 ± 1 °C sıcaklığa ayarlanmış bir su banyosu yardımıyla sıcaklık artırılarak jel formuna dönüştürüldü. Ölçümler üç kez tekrarlandı ve ortalama değer hesaplandı. Brookfield viskozimetresinde ölçümler kayma hızına karşı kayma gerilimi şeklinde reogram olarak alınmıştır. Viskozite değeri bir aralık olarak verilmiş olup reogramlar akış modeli hakkında veri sağlamaktadır (Patil ve ark., 2015; Venkatesh ve ark., 2013; Rao, 2014).

3.1.2.5. İbuprofen Klasik Formülasyonu:

Tez çalışmasında, ibuprofen *in situ* jel formülasyonu ile karşılaştırmak üzere piyasadaki standart ibuprofen preparatı (Intrafen®, 400 mg/4 ml i.v. infüzyon için çözelti içeren flakon) kullanıldı. Klasik yöntemle hazırlanan ibuprofen formülasyonu % 0.9 sodyum klorür çözeltisi ile seyreltilerek kullanıldı. İbuprofen klasik formülasyonu olarak standart ticari ibuprofen preparatı (25 mg) (Intrafen®, Gen ilaç, Türkiye) sıçanların uygun intrartiküler hacim dozuna denk gelen 25 mg olacak şekilde hazırlandı (Çepni Kütahya ve ark., 2019). 400 mg/4 ml'lik ibuprofen flakonundan, 14 adet insülin enjektörüne 0.25 ml (25 mg) olacak şekilde çekilerek hazırlandı.

3.2. Deney Hayvanları ve Barındırma Koşulları

Bu tez çalışması, Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 10.12.2020 tarihli toplantısında 09 numaralı karar ile onayı alınarak gerçekleştirilmiştir. Deneylerde Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (SABİDAM) sağlanan 63 adet erkek Wistar-albino sıçanlar (N=63, 272-358 g) kullanıldı. Hayvan deneylerinde örneklem büyüklüğünün belirlenmesi için güç analizleri kullanılmaktadır. Minimum sayıda hayvan kullanarak istatiksel olarak anlamlı sonuç alabilmek esas amaçtır. Çalışmamızda %80 güç düzeyine ulaşmak için naive grubu n=7, diğer 4 grupta 14'er adet hayvan kullanılmıştır. Tez çalışması için belirlenen hayvan sayısı, deney hayvanları araştırmalarındaki standardizasyonuna

uygun bir şekilde çalışma için kullanılacak hayvan sayısı mümkün olduğunca az sayıda olacak şekilde belirlenmiştir. Çalışmadaki her bir grup için denek sayısı "n", için toplam denek sayısı "N" ile ifade edilmektedir, ayrıca her bir alt grupta denek sayısının eşit olması varsayılmaktadır. Hayvanlar 23 ± 1 °C ve %55-65 nemde, 12 saat karanlık/aydınlık döngüsünde standart ortam koşulları altında, plastik kafeslere yerleştirildi. İstedikleri kadar kemirgen diyetiyle beslendiler ve şişelerdeki temiz çeşme suyuna serbest erişime izin verildi. Deneyler davranışsal laboratuvarı standart koşullarında ve SABİDAM yönergesinde belirlenen etik kurallara uygun olarak yapıldı. Deneylerden önce hayvanlar, ortama alışmaları için davranış laboratuvarında tutuldu. Deneylerden 2 saat önce ve deneyler sırasında yiyecek ve su kesilerek, hidrasyon oranını sabit tutulması ve ödemli yanıttaki değişkenliği en aza indirgenmesi sağlandı. Hayvanlar yalnızca bir kez kullanıldı ve deneyler tamamlandıktan sonra tüm hayvanlara ötenazi yapıldı.

3.3. Deneysel Ostaeoartrit Modeli Oluşturulması

Deneysel osteoartrit modelleri hastalığın teşhisi, OA'nın patofizyolojisini inceleme ve ilaç geliştirme çalışmalarına yol gösterme gibi olanak sağlamaktadır. Monosodyum iyodoasetatın (MIA) eklemlere enjeksiyonu kondrositlerdeki gliserol-3-fosfat dehidrogenaz aktivitesini inhibe ederek glikolizi bozarak hücre ölümüne neden olmaktadır. MIA ile sıçanların eklemlerinde geliştirilen deneysel OA modelleri, kondrosit sayısında meydana getirilen azalmanın sonucunda, eklem kıkırdağı kaybına ve sinovyal inflamasyona sebep olarak insan osteoartritindeki ağrıyla ilişkili davranışlar ve histoloji bakımdan benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Kalbhen, 1987; Guzman ve ark., 2003). Çalışmamızda da MIA enjeksiyonu uygulanarak kondrositlerin sayısında bir azalmaya neden olarak insan OA'daki değişikliklere benzer histolojik ve morfolojik eklem değişikliklerine yol açması amaçlanarak, MIA ile indüklenen bir OA sıçan modeli kullanıldı.

Çalışamızda sıçanlar üzerinde deneysel OA modeli oluşturmak amacıyla monosodyum iyodoasetatın (MIA) sıçanların diz ekleminin içerisine enjekte edilmesiyle deneysel osteoartrit oluşturuldu. MIA enjeksiyonundan 24 saat sonra deneysel OA modelinin oluşmasının ardından ilaç formülasyonları uygulandı. Ayrıca ibuprofen klasik formülasyonu (pozitif kontrol gurubu) ve ibuprofen *in situ* jel formülasyonu MIA ile OA oluşturulmuş sıçanlara uygulanarak farmakolojik olarak analjezik etkisi, morfolojik etkisi ve diz eklem bileşenlerindeki uzun dönem histopatolojik etkiler karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Bunun için ketamin-ksilazin anestezisi altında her iki diz traş edilerek dezenfekte edilen sıçanlara patellar bağı ortaya çıkarmak için diz ortasına bir kesi yapıldı. Formülasyonlar bacak diz eklemleri 90° fleksiyona getirilen sıçanlara, 26-gauge'luk enjektör kullanılarak her iki diz ligamanının medial tarafına enjekte edildi.

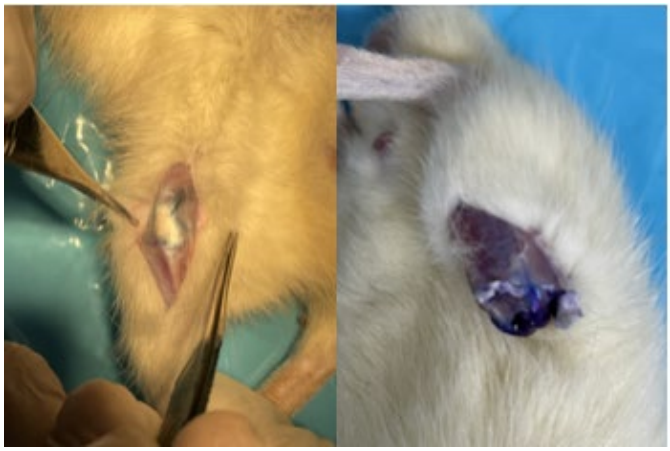
Erkek Wistar Albino sıçanlar 12 saatlik bir aydınlık/karanlık döngüsü altında beşli gruplar halinde muhafaza edildi. Deneye başlamadan önce sıçanların bir hafta boyunca ortama alışmasına izin verildi. Sıçanlar terazide (Axis, Polonya) tartılarak ağırlıkları ve kumpas ile de sağ ve sol diz eklemleri ölçülerek beşerli gruplar halinde rastgele düzenlenerek kafeslere alındı. Woong Park ve

aradaşları, sıçanlarda MIA ile deneysel OA modelini, sağ diz eklemlerine 3 mg MIA (salin içinde 30 µl) enjekte ederek oluşturmuşlardır. Enjeksiyonluk 3 mg MIA/ 30 µl, steril salin (%0.9 NaCl) içinde MIA çözeltisi, kontrol grubu (n=7) dışında diğer dört grup (n= 56 sıçan) için 26 gauge'luk 56 adet enjektör 30 µl olacak şekilde hazırlandı. Uygulamaya başlamadan önce eklem kapsulasına doğru enjekte edildiğini doğrulamak amacıyla, metilen mavisi (Merck, Almanya) ile ıskarta bir sıçana MIA enjeksiyonu (Şekil 3.6.) uygulandı (Joukal ve ark., 2016).



Şekil 3.6. Deneysel osteoartrit modeli için MIA enjeksiyonu

Sakrifiye edildikten sonra bisturi ve pens yardımıyla doku altına inerek enjeksiyon eklem kapsulasına doğru uygulanıp uygulanmadığı kontrol edildi (Şekil 3.7.). Yapılan enjeksiyon sonrası eklem kapsulasında metilen mavisinin gözlemlenmesi, uygulamanın doğruluğunu gösterdi.



Şekil 3.7. MIA enjeksiyonunun doğruluğunun metilen mavisi ile gözlemlenmesi

Enjeksiyon öncesinde sıçanlara Sevofluran %100'lük (Abbvie, İtalya) inhalasyon çözeltisi koklatılarak, 30-35 saniye hareketsiz kalmaları sağlanarak, povidon iyodür (Aquamedikal, Türkiye) ile enjeksiyon bölgesine cilt dezenfeksiyonu uygulandı. Sıçanlar anestezi altındayken diz eklemleri 45° fleksiyondayken, patella altındaki boşluk tespit edilip eklem kapsulasına MIA

enjeksiyonu intraartiküler olarak uygulandı (Şekil 3.8.). Enjeksiyon sonrası çözeltinin eşit oranda dağılımını sağlamak üzere dize masaj yapıldıktan sonra sıçanlar ait oldukları grupların kafeslerine yerleştirildi.

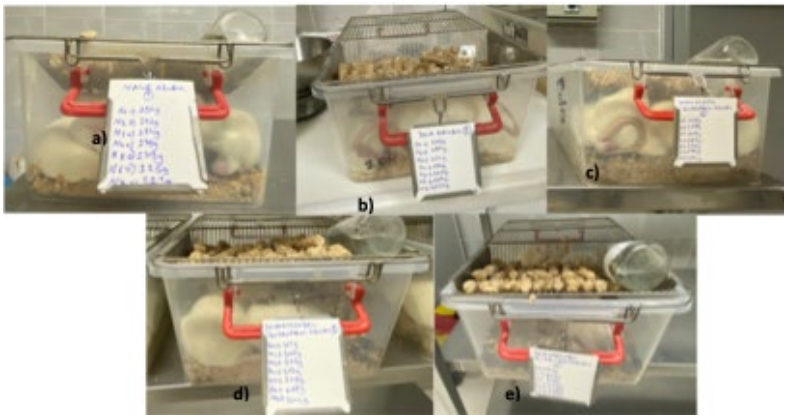


(a) (b)

Şekil 3.8. MIA enjeksiyonun anestezi altında sıçanlara intraartiküler enjeksiyonu ve sonrasında kafese yerleştirilmesi. a) Anestezi uygulaması, b) MIA enjeksiyon uygulaması

3.3.1. Deney Grupları ve Formülasyonların Uygulanması

Deneyler için kontrol grubu, MIA ile OA oluşturulmuş deneysel osteoartrit grubu (DOA+ Kontrol), deneysel osteoartrit + klasik ibuprofen formülasyonu grubu (DOA+ klasik ibuprofen formülasyonu), deneysel osteoartrit + ibuprofen *in situ* jel formülasyonu grubu (DOA+ ibuprofen *in situ* jel), deneysel osteoartrit + *in situ* jel sıvağ (DOA+*in situ* jel sıvağ) formülasyonu grupları oluşturarak aşağıda anlatılan uygulamalar yapıldı. Deney grupları (Şekil 3.9.) 63 adet sıçandan 5 grup olacak şekilde kafeslerde oluşturuldu. Çalışılan deney grupları türlerine göre daha kolay ifade edebilmek üzere grup I, grup II, grup III, grup IV ve grup V olmak üzere beş gruba sınıflandırıldı (Çizelge 3.2.).



Şekil 3.9. Deney grupları. a) Kontrol grubu, b) DOA kontrol grubu, c) DOA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu (Pozitif grup), d) DOA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu (Test Grubu), e) DOA + *in situ* jel sıvağ grubu

Çizelge 3.2. Deney gruplarının belirlenmesi

Deney Grubu	Sıçan Sayısı (n)	Grup İsmi	Sıçanların Kodları
Grup I	7	Kontrol (Naive)	N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7
Grup II	14	DOA Kontrol	O1, O2, O3, O4, O5, O6, O7, O8, O9, O10, O11, O12, O13, O14
Grup III	14	DOA+Kalsik İbuprofen Formülasyonu	İ1, İ2, İ3, İ4, İ5, İ6, İ7, İ8, İ9, İ10, İ11, İ12, İ13, İ14
Grup IV	14	DOA+ *in situ* Jel İbuprofen Formülasyonu	İH1, İH2, İH3, İH4, İH5, İH6, İH7, İH8, İH9, İH10, İH11, İH12, İH13, İH14
Grup V	14	DOA+ *in situ* Jel Sıvağ Formülasyonu	H1, H2, H3, H4, H5,H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14

*Grup I: Kontrol (Naive) grubu, Grup II: Deneysel OA kontrol grubu, Grup III: Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu, Grup IV: Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu (Test Grubu), Grup V: Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu

Grup I (Kontrol, n=7), sadece su ve yemle beslenen başka hiçbir uygulama yapılmayan ve ilaç uygulanmayan sıçanlardan oluşturuldu. Bu gruptaki sıçanların ağırlıkları, vücut sıcaklıkları ve diz eklemlerinin ölçümleri kaydedilerek kontrol grubu oluşturuldu. Sıçanlara ağrı testleri uygulandı. Grup II (DOA Kontrol, n=14) ağırlıkları, vücut sıcaklıkları ve diz eklemlerinin ölçümleri MIA ile OA indüklenmeden önce kaydedildi. Bu gruptaki sıçanlara MIA ile deneysel OA oluşturulduktan sonra başka hiçbir ilaç uygulaması yapılmadı. Grup III (DOA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu, Pozitif grup, n=14), deneysel osteoartrit yapılan sıçanlara OA tedavisinde kullanılan klasik ibuprofen formülasyonu, MIA ile deneysel OA modeli oluşturulduktan 24 saat sonra belirlenen dozda intraartiküler olarak uygulandı ve belirlenen zamanlarda diz eklem çapının ölçümü, vücut sıcaklığı ölçümü, ağrı/analjezi testleri ile histolojik incelemeler yapıldı. Grup IV (DOA+ İbuprofen *in situ* jel formülasyonu, Test Gurubu, n=14), deneysel osteoartrit yapılan sıçanlara MIA ile deneysel OA modeli oluşturulduktan 24 saat sonra ibuprofen *in situ* jel formülasyonu belirlenen dozda intraartiküler olarak uygulandı ve belirlenen zamanlarda diz eklem çapının ölçümü, vücut sıcaklığı, ağrı/analjezi testleri ile histolojik incelemeler yapıldı. Grup V (DOA+ Etken maddesiz *in situ* jel sıvağı grubu, n=14), deneysel osteoartrit oluşturulan sıçanlara MIA ile deneysel OA modeli oluşturulduktan 24 saat sonra, ibuprofen *in situ* jel formülasyonu hazırlanmasında kullanılan sıvağ, intraartiküler olarak uygulandı ve böylece sıvağın tek başına etkisi olup olmadığı belirlenen zamanlarda diz eklem çapının ölçümü, vücut sıcaklığı, ağrı/analjezi testleri (Hot Plate, Tail Flick) ile histolojik incelemeler ile tespit edildi.

Enjeksiyon uygulaması bacak diz eklemleri 45° fleksiyona getirlen sıçanlara, 26-gauge'luk enjektörler (Şekil 3.10) kullanılarak her iki diz ligamanının medial tarafına enjekte edilerek uygulandı. MIA ile deneysel OA oluşturmak üzere Grup I (Naive, n=7) dışındaki 56 sıçanın sağ diz eklemine 3 mg MIA/ 30 µl, steril salin (%0.9 NaCl) içinde MIA çözeltisi uygulandı, sol diz eklemlerine de uygulanmak üzere 56 adet insülin enjektörüne 30 µl'lik serum fizyolojik (SF) çekilerek hazırlandı. Sıçanlara osteoartrit oluşturulduktan 24 saat sonra ilaç formülasyonları (klasik ibuprofen formülasyonu, ibuprofen *in situ* jel formülasyonu, *in situ* jel sıvağ formülasyonu) sağ diz eklemlerine 25 µl olarak uygulanırken, sol diz eklemlerine de 25 µl %0.9 steril SF enjekte edildi.



Şekil 3.10. İbuprofen *in situ* jel formülasyonunun enjeksiyon uygulaması öncesi enjektördeki görüntüsü

3.3.2. İntraartiküler Enjeksiyon

Deneyler başlamadan önce beş grup olacak şekilde gruplandırılan N=63 sıçan kuyruklarından numaralandırılarak ağrılıkları ölçüldü ve çalışma grupları adlandırılarak kafeslerine yerleştirildi. Deneyin 0. gününde MIA ile deneysel osteoartrit modelinin oluşturulması, 24 saat sonra 1. gününde de çalışma gruplarına göre hazırlanan ilaç formülasyonlarının sıçanların sağ diz eklemlerine ve sol diz eklemlerine de %0.9 SF eşit hacimde intraartiküler olarak uygulandı.

0. gün; MIA ile deneysel osteoartrit oluşturulacak sıçanlar için enjeksiyonluk 3 mg MIA/ 30 µl, steril SF (%0.9 NaCl) içinde çözündürülerek elde edilen MIA çözeltisi, Grup I (Kontrol, n=7) dışında diğer dört grup (n= 56) için 26 gauge'luk 56 adet enjektör 30 µl olacak şekilde hazırlandı. Enjeksiyon öncesinde Grup I (Kontrol/Naive Grubu) dışındaki 56 sıçana Sevofluran %100'lük inhalasyon çözeltisi koklatılarak, 30-35 saniye hareketsiz kalmaları sağlandı. Sıçanların her iki diz bölgesi iki kez %10 povidiniodin ile dezenfekte edildi. Sonra her bir sıçanın sağ dizine, diz eklemleri 45° fleksiyondayken ayrı ayrı enjektörlere hazırlanmış 26 gauge'luk 56 adet enjektör 30 µl olacak şekilde MIA çözeltisi intraartiküler uygulandı. Sol diz eklemlerine de %0.9 SF eşit hacimde intraartiküler olarak uygulanması gerçekleştirildi. İşlem sonrası sıçanlar uyandırılarak ait oldukları

grubun yer aldığı kafeslere yerleştirildiler. Tüm bu işlemler sırasıyla 56 sıçana uygulandı. Sıçanların hepsi deney öncesindeki saklama koşullarında olduğu gibi su ve yiyecek ihtiyaçları karşılanmış ve her kafeste 7 sıçan olacak şekilde kafeslere alındı.

1. Gün; Grup I (Kontrol Grubu, n=7) ve Grup II (Deneysel OA kontrol grubu, n=14) hiçbir uygulama yapılmadı. Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu, n=14), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu, n=14), Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağı grubu, n=14) 42 sıçanın sağ diz eklemlerine intraartiküler olarak ilaç formülasyonları uygulandı. İlaç formülasyonlarının uygulanacağı Grup III, Grup IV ve Grup V'teki sıçanların her iki diz bölgesi iki kez %10 povidiniodin ile dezenfekte edildi. Grup III'teki (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu, n=14) 14 sıçanın sağ diz eklemine diz eklemleri 45° fleksiyondayken ayrı ayrı enjektörlere hazırlanmış 25 µl ibuprofen (25 mg) içeren klasik formülasyon grubu, 26 gauge'luk 14 adet enjektör ile intraartiküler uygulandı (Şekil 3.11.). Yine aynı 14 sıçanın sol diz eklemine de 25 µl %0.9 SF verildi (Çepni Kütahya ve ark., 2019).



Şekil 3.11. Deney gruplarına ilaç formülasyonlarının uygulanması

Grup IV'teki (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu, n=14) sıçanlara da ibuprofen içeren *in situ* jel formülasyonu uygun doz miktarı olan 25 mg olarak hesaplanarak hazırlanan 26 gauge'luk 14 adet enjektör ile 25 µl olarak sıçanların sağ diz eklemlerine ve yine aynı sıçanların sol diz eklemlerine de 25 µl %0.9 SF intraartiküler olarak enjekte edildi. Grup V'teki (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu) sıçanlara, etken maddesiz *in situ* jel sıvağ formülasyonu uygun doz miktarı olan 25 mg olarak hesaplanarak hazırlanan 26 gauge'luk 14 adet enjektör 25 µl olarak sıçanların sağ diz eklemlerine ve sol diz eklemlerine de 25 µl %0.9 SF intraartiküler olarak enjekte edildi. Sıçanların hepsi deney öncesideki saklama koşullarında olduğu gibi su ve yiyecek ihtiyaçları karşılanmış ve her kafeste yedi sıçan olacak şekilde kafeslere alınarak bekletildi (Çepni Kütahya ve ark., 2019).

3.4. Deneysel Osteoartrit Modelinde Farmakolojik Aktivite Testleri

3.4.1. Hot-Plate Testi

Termal bir uyaran kullanılarak sıçanın pençelerine uygulanan sıcaklığa karşılık olarak, sıçanın sıcak plaka yüzeyinden sıçrayarak, arka pençelerini yalayarak veya pençelerini şaklatarak, dans ederek yanıt verme süresini kayıt altına alan bir gözlem metotudur. Hot Plate testi (HP) hayvanın ağrı eşiğinin ölçümüne yönelik geliştirilen akut ağrı modelidir. İlk olarak MacDonald ve Woolfe tarafından 1944 yılında tanımlanan HP testinin (Sıcak/Soğuk Plaka Model-D537) aynı hayvanda her bir pençe için bağımsız değerlendirme yapabilme imkanının olması, ilaçların ağrı tepkisinde lokal periferik etkilerin tespitinde kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır (Woolfe and MacDonald, 1944). Ayrıca Hot Plate testinde, cihazın yüzeyinde belirli bir bölgede sıçanı sınırlandırmak üzere pleksi malzemeden yapılmış ve sıçrayarak aşamayacağı yükseklikte bir engel kullanıldı. Sıçanların 55±1 °C' deki metal yüzeye bırakıldığında sıcaklığa karşı verdiği davranışsal yanıtlar için geçen süre bir kronometre ile kaydedildi. Bu sayede yüzeye bırakılan hayvanın yüzeydeki sıcaklığa karşılık olarak davranışsal tepkiler için geçen süre (reaksiyon süresi) tespit edildi (Şekil 3.12.). Hayvanın davranışsal yanıtlardan herhangi birini göstermemesi durumunda dokuda tahribat meydana gelebileceği için işlemi sonlandırmak üzere belirli bir süre (cut-off time) kullanıldı. Cut-off time literatürde sıçanlar için 60 saniye olarak belirtilmiştir (Bannon ve Malmberg, 2007). Test esnasında herhangi bir davranışsal yanıt göstermeyen hayvan için reaksiyon süresi 60 saniye olarak kaydedildi (Patel ve Saluja, 2012; Yamamoto ve ark., 2002; Er ve ark., 2016; Hestehave ve ark., 2017).



Şekil 3.12. Hot Plate cihazı (HP) ve sıçrama reaksiyonu

İlaç formülasyonlarının uygulandığı 1. gününde, formülasyonların enjekte edilmesinden 60 dakika sonra ve uygulamayı takip eden 3., 5., ve 7. günler HP testi yapıldı (Çizelge 3.3.). İlaç formülasyonlarının uygulanmasından 60 dakika sonra yapılan testlere ait veriler çizelgede 1. gün olarak belirtildi. Grup I'deki 7 sıçana da HP testi uygulanırken, Grup II, Grup III, Grup IV ve Grup V'te bulunan her 14 sıçanın ilk 7'sine HP testi uygulandı. Elde edilen veriler Grup I (Kontrol grubu), Grup II (Deneysel OA Kontrol grubu), Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) ve Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağı grubu) ile karşılaştırıldı.

Çizelge 3.3. HP uygulanan deney grupları ve uygulama günleri

Deney Grubu	Sıçan Sayısı (n)	HP Testi Uygulanan Sıçanların Kodları	HP Testinin Uygulandığı Günler
Grup I	7	N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7	1., 3., 5. ve 7. günler
Grup II	14	O1, O2, O3, O4, O5, O6, O7	1., 3., 5. ve 7. günler
Grup III	14	İ1, İ2, İ3, İ4, İ5, İ6, İ7	1., 3., 5. ve 7. günler
Grup IV	14	İH1, İH2, İH3, İH4, İH5, İH6, İH7	1., 3., 5. ve 7. günler
Grup V	14	H1, H2, H3, H4, H5,H6, H7	1., 3., 5. ve 7. günler

*Grup I: Kontrol (Naive) grubu, Grup II: Deneysel OA kontrol grubu, Grup III: Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu, Grup IV: Deneysel OA + İbuprofen in situ jel formülasyonu (Test Grubu), Grup V: Deneysel OA + in situ jel sıvağ grubu

3.4.2. Tail Flick Testi

Tail Flick testi (TF), hayvanın kuyruk sırt yüzeyine odaklanacak radyan bir ısı kaynağına yerleştirilmesiyle yapılmaktadır. İlk olarak 1941'de tanımlanmış olan bu test, kemirgenlerde yaygın olarak nosiseptif duyarlılığın ölçülmesinde kullanılan bir testtir (D'Amour ve Smith 1941). Çalışmada sıçanlar, tail-flick testinden en az 5 dakika öncesine kadar kafeslerinde dinlenme halinde tutuldu. Tail Flick testi (Harvard apparatus MPN 52-9495) uygulanacak sıçanlar, cihaz üzerine yerleştirilerek ısı üreten ışık hüzmesi sıçanların kuyruğunun alt 1/3'üne gelecek şekilde odaklandırıldı. Sıçanın kuyruğuna uygulanan ışık huzmesi bir süre sonra hayvanı rahatsız ederek, sıçan refleks olarak kuyruğunu çekme eylemi gösterdi (Şekil 3.13.). Sıçanın kuyruğunu çekmesine kadar geçen süre (reaksiyon süresi) tespit edildi. Hayvanın davranışsal yanıt olarak kuyruğunu çekmemesi durumunda dokuda tahribat meydana gelebileceği için, işlemi sonlandırmak üzere literatürde sıçanlar için 20 saniye olarak belirtilmiş olan (cut-off time) kullanıldı (Le Bars ve ark., 2001; Karabay- Yavasoglu ve ark., 2006; Roane ve ark., 1998; Er ve ark., 2016, Wang ve ark., 2005; Balkaya, 2007). Çalışmanın deneysel osteoartritin uygulandığı günün (0. gün) ertesi günü olan 1. günü, ilaç formülasyonlarının uygulanmasının ardından 60 dakika sonra ve uygulamayı takip eden

3., 5., ve 7. günler TF uygulanacak sıçanlara (Çizelge 3.4.) TF testi yapıldı. İlaç formülasyonlarının uygulanmasından 60 dakika sonra yapılan testlere ait veriler 1. gün olarak kayıt altına alındı.



Şekil 3.13. Tail Flick testinin (TF) uygulanması

Çizelge 3.4. TF uygulanan deney grupları ve uygulama günleri

Deney Grubu	Sıçan Sayısı (n)	TF Testi Uygulanan Sıçanların Kodları	TF Testinin Uygulandığı Günler
Grup I	7	N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7	1., 3., 5. ve 7. günler
Grup II	14	O8, O9, O10, O11, O12, O13, O14	1., 3., 5. ve 7. günler
Grup III	14	İ8, İ9, İ10, İ11, İ12, İ13, İ14	1., 3., 5. ve 7. günler
Grup IV	14	İH8, İH9, İH10, İH11, İH12, İH13, İH14	1., 3., 5. ve 7. günler
Grup V	14	H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14	1., 3., 5. ve 7. günler

*Grup I: Kontrol (Naive grubu), Grup II: Deneysel OA kontrol grubu, Grup III: Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu, Grup IV: Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu (Test Grubu), Grup V: Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu

Grup I'deki 7 sıçana da TF testi uygulanırken, Grup II, Grup III, Grup IV ve Grup V' te bulunan her 14 sıçanın son 7'sine TF testi uygulandı. Elde edilen veriler Grup I (Kontrol grubu), Grup II (Deneysel OA Kontrol grubu), Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) ve Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağı grubu) ile karşılaştırıldı.

3.4.3. Diz Eklem Çaplarının Ölçümü

Çalışmada diz eklem çaplarının ölçümü yapılarak deneysel geliştirilen OA'nın ve formülasyon uygulandıktan sonra OA'nın gelişim aşamalarını zamana bağlı olarak değerlendirmek üzere dijital kumpas (Aek-Tech, Çin) ile ölçümler yapılmaktadır (Kahn ve ark., 2012). Dijital

kumpas kullanılarak sıçanların eklemeleri 40 ° fleksiyonda iken sağ ve sol diz çaplarının ölçümleri 3 kez yapılarak ortalaması alınıp milimetre (mm) birimi olarak kaydedildi. Çalışmanın başlangıcında 0. günde gruplar (Çizelge 3.5.) oluşturulurken diz çapları ölçülerek kayıt altına alındı. Böylelikle deneysel OA modeli oluşturulmadan önce diz çaplarının ölçüleri belirlenmiş oldu.

Çizelge 3.5. Çalışmanın 0., 1., 3., 5., ve 7. günlerinde sağ ve sol diz eklem çaplarının ölçüldüğü deney grupları

Deney Grubu	Grup I (n=7)	Grup II (n=14)	Grup III (n=14)	Grup IV (n=14)	Grup V (n=14)
Diz Çapı Ölçümü	+	+	+	+	+

*Grup I: Kontrol (Naive) grubu, Grup II: Deneysel OA kontrol grubu, Grup III: Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu, Grup IV: Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu (Test Grubu), Grup V: Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu

1.gün ilaç formülasyonlarının uygulanmasından 60 dakika sonra yapılan diz eklem çapı ölçümlerine (Şekil 3.14.) ait veriler 1. gün olarak kayıt altına alındı. Çalışmanın deneysel osteoartritin uygulandığı günün (0.gün) ertesi günü olan 1. günü, ilaç formülasyonlarının uygulanmasının ardından 60 dakika sonra ve uygulamayı takip eden 3., 5., ve 7. günler Grup I (Kontrol Grubu, n=7), Grup II (Deneysel OA Kontrol grubu, n=14), Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu, n=14), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu, n=14) ve Grup V'teki (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağı grubu, n=14) sıçanların diz eklem çapları dijital kumpas ile ölçülerek verileri kayıt altına alındı. Elde edilen veriler Grup I (Kontrol grubu), Grup II (Deneysel OA Kontrol grubu), Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) ve Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağı grubu) ile karşılaştırıldı (Kahn ve ark., 2012; Achaerandio-de Nova ve ark., 2021).



Şekil 3.14. Diz eklem çapının ölçümünün yapılması

3.4.4. Vücut Sıcaklığı Ölçümü

Sıçanlarda ve farelerde vücut sıcaklığını ölçmekte etkin bir yöntem olan rektal termometre (Omron, Japonya) ile küçük çaplı bir termometrenin anüsten sokulması ile gerçekleştirilmektedir. Rektal termometre ile ölçümde, kuyruğun alt kısmından rektuma incitmeden yerleştirilerek vücut sıcaklığına ait değerler elde edilmektedir (Donhoffer, 1980). Çalışma esnasında sıçanlar aynı kişi tarafından sabit bir termal sıcaklıktaki ortamda tutularak, dijital bir termometre (Şekil 3.15) kullanılarak ölçümler gerçekleştirildi (Borikar ve ark., 2009; Hassanin ve ark., 1994).



Şekil 3.15. Rektal termometre ile vücut sıcaklığı ölçümü

Vücut sıcaklığı ölçümü yapılan gruplar (Çizelge 3.6.) belirlendi. İlaç formülasyonlarının uygulanmasından 60 dakika sonra yapılan testlere ait veriler 1. gün olarak kayıt altına alındı. Sıçanlar kuyruğundan desteklenerek elle tutuldu ve vazeline batırılan termometre 4–5 cm uzunluğunda intrarektal olarak rektuma yerleştirilerek dijital termometrenin sabit değeri gösterdiği zamana kadar tutuldu (Borikar ve ark., 2009; Nguyenve ark., 2020).

Çizelge 3.6. Çalışmanın 0., 1., 3., 5., ve 7. günlerinde vücut sıcaklıklarının ölçüldüğü deney grupları

Deney Grubu	Grup I (n=7)	Grup II (n=14)	Grup III (n=14)	Grup IV (n=14)	Grup V (n=14)
Vücut Sıcaklığı Ölçümü	+	+	+	+	+

*Grup I: Kontrol (Naive) grubu, Grup II: Deneysel OA kontrol grubu, Grup III: Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu, Grup IV: Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu (Test Grubu), Grup V: Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu

Sabit değer elde edildiğinde ekranda yazan sıcaklık değerleri kaydedildi. Çalışmanın başlangıcında 0. günde gruplar oluşturulurken sıçanların vücut sıcaklıkları ölçülerek kayıt altına alındı. Böylelikle deneysel OA modeli oluşturulmadan önce vücut sıcaklıklarının ölçüleri belirlenmiş oldu. 1. gün ilaç formülasyonlarının uygulanmasından 60 dakika sonra yapılan vücut sıcaklıklığı

ölçümlerine ait veriler 1. gün olarak kayıt altına alındı. Çalışmanın deneysel osteoartritin uygulandığı günün (0. gün) ertesi günü olan 1. günü, ilaç formülasyonlarının uygulanmasının ardından 60 dakika sonra ve uygulamayı takip eden 3., 5., ve 7. günler Grup I (Kontrol Grubu, n=7), Grup II (Deneysel OA Kontrol grubu, n=14), Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu, n=14), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu, n=14) ve Grup V'teki (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağı grubu, n=14) sıçanların vücut sıcaklıkları dijital termometre ile rektal olarak ölçülerek verileri kayıt altına alındı. Elde edilen veriler ile Grup I (Kontrol grubu), Grup II (Deneysel OA Kontrol grubu), Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) ve Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağı grubu) ile karşılaştırıldı.

3.4.5. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler IBM SPSS for Windows Version 23.0 paket programında yapıldı. Sayısal değişkenler ortalama±standart sapma özetlendi. Gruplar sayısal değişkenler bakımından karşılaştırılmadan önce parametrik test varsayımları (normallik ve varyansların homojenliği) kontrol edildi. Sayısal değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro Wilks testi ile incelendi. Karşılaştırılan grupların varyanslarının homojenliği ise Levene testi ile incelendi. Ağırlık, sağ ve sol diz eklemi, hot plate, tail flack ve vücut sıcaklığı bakımından gruplar arasında ve zaman içinde farklılık olup olmadığı tekrarlı ölçümlerde varyans analizi ile incelendi. Farklılık bulunması durumunda ikili karşılaştırmalar Bonferroni testi ile yapıldı. Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak alındı.

3.5. Histopatolojik İnceleme

Deney tamamlandıktan sonra çalışmanın 8. gününde sıçanların ağırlıkları son kez ölçülerek kaydedildi ve genel anestezi ile ötenaziyi takiben her iki arka bacağa ait eklem örnekleri disekte edilerek %10 formalin içerisinde 72 saat boyunca fikse edildi. Dekalsifikasyon işlemi için örnekler, mikrotom bıçağı ile kesit alınabilir duruma gelinceye kadar % 10'luk EDTA solüsyonunda bekletildi. İşlem sonunda eklem örnekleri rutin doku takibi prosedürü uygulanarak parafin bloklara gömüldü (Çizelge 3.7.). Parafin bloklardan alınan doku kesitlerine Hemotoksilen–Eozin (H&E) ve Safranin O- Fast Green boyamaları yapıldı.

Çizelge 3.7. Parafin doku takip protokolü

İşlem	Kullanılan Madde	Süre
Dehidratasyon	% 50 Etil Alkol	30 dakika
	% 60 Etil Alkol	30 dakika
	% 70 Etil Alkol	30 dakika
	% 80 Etil Alkol	30 dakika
	% 90 Etil Alkol	1 saat
	% 95 Etil Alkol	1 saat
	% 100 Etil Alkol	1 saat
Şeffaflaştırma	Alkol-Ksilen (1:1)	30 dakika
	Ksilen	1 saat
	Ksilen	1 saat
İnfiltrasyon (60˚C Etüvde)	Ksilen-Parafin (1:1)	30 dakika
	Parafin	1 saat
	Parafin	1 saat
Bloklama	Parafin	

3.5.1. Hematoksilen-Eozin Boyama

Parafin bloklardan mikrotom (RM 2135, Leica) ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Parafin doku kesitleri, deparafinize etmek amacıyla 60˚C'lik etüvde 1 gece bekletildi ve aynı zamanda iki kez ksilenden geçirildi. Azalan etil alkol serilerinden (%95-%60) geçirilerek rehidrate edilen kesitler akarsuda yıkanarak alkolün uzaklaştırılması sağlandı. Doku kesitleri 5 dakika Hematoksilen (01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile, ardından 30 saniye Eozin (01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile boyandı. Daha sonra akarsu altında 5 dakika yıkama yapıldı (Gökdemir 2020). Dokulardaki su, % 80 ve % 95'lik etil alkol ile uzaklaştırıldı. Şeffaflaştırma amacıyla ksilende bekletilen doku örnekleri entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı (Çizelge 3.8.).

Çizelge 3.8. Hematoksilen-Eozin boyama protokolü

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60ºC Etüvde	1 gece
Deparafinizasyon	Ksilen	30 dakika
	Ksilen	30 dakika
Rehidratasyon	% 95 Etil Alkol	2 dakika
	% 80 Etil Alkol	2 dakika
	% 70 Etil Alkol	2 dakika
	% 60 Etil Alkol	2 dakika
Yıkama	Akarsu	5 dakika
Boyama	Hematoksilen	5 dakika
Yıkama	Akarsu	5 dakika
Diferansiyasyon	Asit-Alkol	1-2 saniye
Yıkama	Akarsu	5 dakika
Boyama	Eozin	20 saniye
Yıkama	Akarsu	5 dakika
Dehidratasyon	% 80 Etil Alkol	1 dakika
	% 95 Etil Alkol	1 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen	1 saat
	Ksilen	1 saat
Kapama	Entellan	

3.5.2. Safranin O- Fast Green Boyaması

Alınan 5 µm'lik kesitler deparafinizasyon için 1 gece 60˚C'lik etüvde bekletildi ve ardından iki değişim ksilenden geçirildi. Rehidratasyon amacıyla azalan etil alkol serilerinden (%95-%60) geçirilerek akarsuda yıkandı. Hematoksilen (01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile hücre çekirdek boyaması yapıldı. Daha sonra sırasıyla 5'er dakika Fast Green ve Safranin O boyamaları gerçekleştirildi (Tao ve ark., 2017). Dehidratasyon (% 80 ve % 95'lik etil

alkol) ve ksilen ile şeffaflaştırma işlemlerinden sonra entellan ile doku örnekleri kapatıldı (Çizelge 3.9.).

Çizelge 3.9. Safranin O – Fast Green boyama protokolü

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60ºC Etüvde	1 gece
Deparafinizasyon	Ksilen	30 dakika
	Ksilen	30 dakika
Rehidratasyon	% 95 Etil Alkol	2 dakika
	% 80 Etil Alkol	2 dakika
	% 70 Etil Alkol	2 dakika
	% 60 Etil Alkol	2 dakika
Yıkama	Akarsu	5 dakika
Boyama	Hematoksilen	5 dakika
Yıkama	Akarsu	5 dakika
Boyama	Fast Green (% 0,05‘lik)	5 dakika
Dedifferensiasyon	Asetik Asit (% 1‘lik)	10-15 saniye
Boyama	Safranin O (% 0,1‘lik)	5 dakika
Dehidratasyon	% 80 Etil Alkol	1 dakika
	% 95 Etil Alkol-1	1 dakika
	% 95 Etil Alkol-2	1 dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen	5 dakika
	Ksilen	5 dakika
Kapama	Entellan	

3.5.3. Histopatolojik Değerlendirme

Hematoksilen-Eozin ve Safranin O-Fast Green FCF ile boyanan doku örnekleri kamera ataçmanlı (SC50, Olympus, Germany) ışık mikroskobu (BX43, Olympus, Japan) altında incelenerek fotoğrafları çekildi. ImageJ Software program kullanılarak aşağıda verilen kriterlere göre değerlendirilerek veriler elde edildi (Çizelge 3.10.).

Çizelge 3.10. Uluslararası Osteoartrit Derneği (OARSI)'nin kriterlerine göre osteoartrit histopatolojisinin değerlendirilmesi (Pritzker ve ark., 2006)

Grade	Histopatolojik veri
Grade 0	Kırkırdak doku bütünlüğü ve yüzeyi bozulmamış, sağlıklı.
Grade 1	Kırkırdak doku bütünlüğü bozulmamış, ancak hücre ölümü var.
Grade 2	Kıkırdak yüzeyi bozulmuş.
Grade 3	Kıkırdak dokuda dikey çatlaklar var.
Grade 4	Kıkırdak doku yüzeyinde aşınma var.
Grade 5	Kıkırdak doku kaybı var.
Grade 6	Eklem yüzerinde osteofit oluşumu ile birlikte deformasyon var.

Aynı zamanda sinovit (Çizelge 3.11.) ve fibrozis histopatolojisi (Çizelge 3.12.), osteofit boyutu (µm), kıkırdak genişliği (µm), kıkırdak uzunluğu (µm), ve kondrosit hücre sayısı parametreleri (Yüce, 2019) kullanılarak her bir gruba ait veriler kaydedildi.

Çizelge 3.11. Sinovit histopatolojisinin değerlendirilmesi

Grade	**Histopatolojik veri**
Grade 0	Normal
Grade 1	Hücre sayısında artış var
Grade 2	Sinoviyal membran kalınlığı düşük
Grade 3	Sinoviyal membran kalınlığı yüksek

Çizelge 3.12. Fibrozis histopatolojisinin değerlendirilmesi

Grade	**Histopatolojik veri**
Grade 0	Fibrotik lezyon yok
Grade 1	Fibrotik lezyon oluşumu var
Grade 2	Fibrotik lezyonlar artmış
Grade 3	Fibrotik lezyonlar dokunun büyük çoğunluğuna yayılmış

3.5.4. İstatistiksel Analiz

Veriler GraphPad software (San Diego, CA, USA) programı ile istatistiksel olarak ortalama ± SD değerleri olarak ifade edilmiş ve ANOVA testinin tekrarlanan ölçümleri kullanılarak analiz

edilmiştir. Ortalama değerler arasındaki farklılıkları belirlemek için Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edilmiştir (Ozbey ve Aydemir 2023).

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. *İn Situ* Jel Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar

4.1.1.1. Formülasyonların Seçimi

Formülasyonlar 0°C'den 50°C'ye kadar Test Tüpü Eğme Yöntemi (test tube tilting method) ile test edilmiş ve vücut sıcaklığı olan 37°C'de jelleşebilen polimer oranlarına sahip formülasyon seçilmiştir. Etkin madde içeren formülasyon içerikleri % olarak Çizelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Etkin madde içeren *in situ* jel formülasyon içeriği (%)

Formülasyon	**Pluronic® F 127**	**HPMC**	**İbuprofen**	**Tween 80**	**Etanol**	**Distile Su**
F9 (İn Situ Jel İbuprofen)	25	5	10	5	5	km 100 mL

Formülasyondaki km: kafi miktar

4.1.2. *in situ* Jel Formülasyonların Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

4.1.2.1. Fiziksel Görünüş ve Berraklık

Ön formülasyon çalışması yapılan tüm polimer oranlarında formülasyonlar, taze hazırlandıkları esnada oda sıcaklığında fiziksel görünüşleri açısında görsel olarak incelenmiş, saydam, homojen ve tekdüze bir görünüme sahip oldukları kaydedilmiştir. Beyaz ve siyah renkte arka plan uygulaması (Şekil 4.1.) ile bakıldığında herhangi bir partikül veya çözünmeyen maddeye rastlanmamıştır. Etkin madde içeren F9 kodlu formülasyon fiziksel görünüş ve berraklık açısından uygun bulunmuştur.



Şekil 4.1. Arka plan uygulaması ile fiziksel görünüş ve berraklık değerlendirilmesi

4.1.2.2. Enjektörle Uygulanabilirlik Testi

Enjektörle uygulanabilirlik testi ön formülasyon çalışmasındaki tüm polimer oranları için yapılmıştır. 5 mL'lik enjektöre aktarılıp iğne ile boşaltılan formülasyonlardan % 30 Pluronic® F 127 ve HPMC içeren (% 0.5 ve % 1) kodlarda enjekte edilemediği tespit edilmiştir. Diğer tüm formülasyon oranları için kolaylıkla iğneden akabilen ve jelin uygulamasını kolaylaştıran formülasyonlar görülmüştür. Etkin madde içeren F9 Kodlu formülasyon enjektörle uygulanabilirlik açısından uygun bulunmuştur.

4.1.2.3. pH Analizi

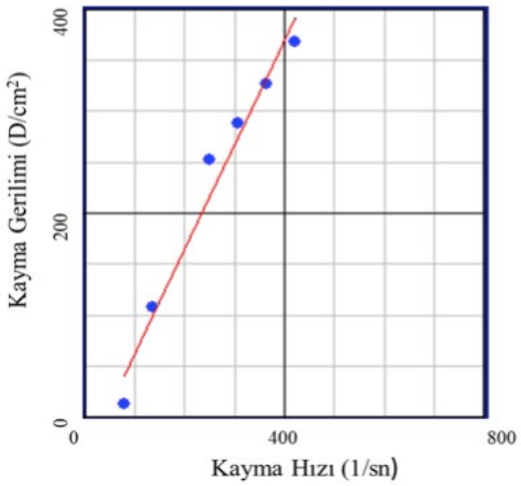
Etkin madde içeren *in situ* jel formülasyonların pH değeri ölçümleri hem oda sıcaklığında hem de 37°C'de yapılmıştır. pH sonuçları üç analiz tekrarı ile yapılıp ortalama değer ve standart sapmalar Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. pH Analiz Sonuçları

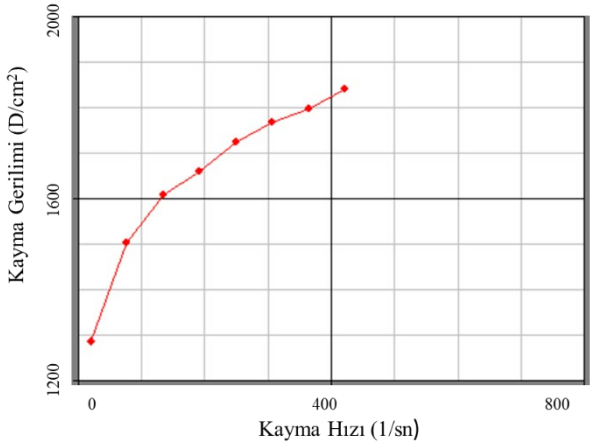
Formülasyon Türü	**pH (25°C)**	**pH (37°C)**
Boş Formülasyon	7.26±0.02	7.32±0.01
Etkin maddeli Formülasyon (F9)	7.68±0.01	7.80±0.03

4.1.2.4. Viskozite ve Reolojik Davranışların İncelenmesi

Hazırlanan etkin madde içeren formülasyonların reolojik davranışları incelenmiştir. Ölçümler 25°C (Şekil 4.2.) ve 37°C (Şekil 4.3.) olmak üzere iki farklı sıcaklıkta tekrarlanmıştır. Kayma hızına karşı kayma geriliminde yapılan akış özellikleri incelemesinde oda sıcaklığında çözelti halinde bulunan formülasyon doğrusal bir akış gösterirken, 37°C'de jel formunda iken doğrusal olmayan bir akış özelliği göstermiştir. Ayrıca aynı kayma hızı sonuçlarında jel formunda kayma gerilimi on kat artmıştır.



Şekil 4.2. Formülasyonların 25°C de yapılan ölçüme ait reogram



Şekil 4.3. Formülasyonların 37°C de yapılan ölçüme ait reogram

4.1.3. Farmakolojik Aktivite Testleri

4.1.3.1. Hot-Plate Testinde Antinosiseptif Etki

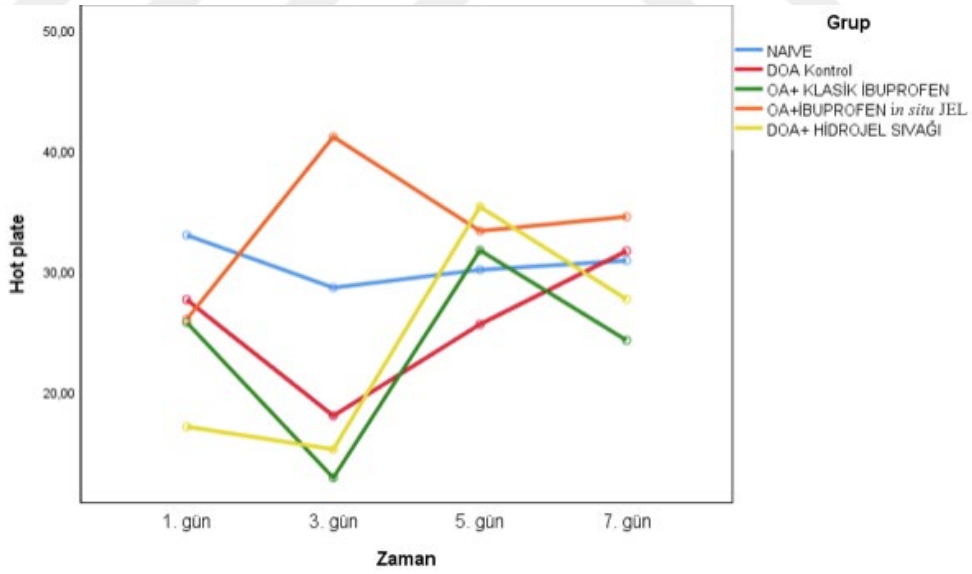
Grup I (Kontrol/Naive grubu), Grup II (Deneysel OA kontrol grubu), Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) ve Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu) için formülasyonların uygulanmasından önce ve uygulanmasından sonra 1. gün (formülasyonların uygulamasından 1 saat sonra), 2. gün, 3. gün, 5. gün ve 7. gün için HP sonuçları alındı. Sonuçlar Çizelge 4.3. ve Şekil 4.4'te hayvanın HP reaksiyonu zamanı (saniye) olarak gösterilmektedir. HP ölçümüne karşı zaman (gün) olarak gösterilmektedir.

Çizelge 4.3. Kontrol ve formülasyon gruplarının uygulama öncesi ve sonrası HP reaksiyon zamanları (sn)

Deney Grubu	**1.gün**	**3.gün**	**5.gün**	**7.gün**	**Grup içi p**
Grup I	32,94±13,19	28,59±5,67^{BC}	30,07±10,44	30,83±8,22	0,849
Grup II	27,59±7,22^{ab}	17,96±3,86^{aAB}	25,54±9,16^{ab}	31,63±12,22^{b}	0,050
Grup III	25,7±13,52^{ab}	12,81±4,62^{aA}	31,69±9,16^{b}	24,21±6,26^{ab}	0,001
Grup IV	25,96±14,27^{a}	41,1±16,03^{bC}	33,29±7,3^{ab}	34,47±7,17^{ab}	0,022
Grup V	17,06±5,39^{a}	15,17±5,61^{aAB}	35,3±4,31^{b}	27,63±5,05^{ab}	0,001
Gruplar arası p	0,159	<0,001	0,267	0,192	

**Veriler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. P < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen zamanlar arasında fark vardır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen gruplar arasında fark vardır. p < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.*

Elde edilen verilere göre HP ölçümü bakımından gruplar arasında 3. günde farklılık oluşmuştur. Grup I'in (Kontrol/Naive grubu), HP ölçümü zaman içinde değişmemiştir. Grup II'nin (Deneysel OA Kontrol grubu), HP ölçümüne göre zamanla anlamlı bir değişim göstermiştir (p=0.005). Grup II'nin 3. gün ile diğer günler arasındaki farkı belirgin olup, 3. günkü değeri (17,96±3,86) düşükken 7. gün (31,63±12,22) yüksek çıkmıştır. Grup III'ün (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu) HP ölçümü zaman içinde anlamlı bir değişiklik göstermiştir (p=0.001.) En yüksek değeri 1. günde çıkmıştır. Grup IV'de (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) anlamlı bir değişim gözlemlenmiştir (p=0.022). 3.gün diğer günlere kıyasla çok daha yüksek bir değerdedir. Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu) ise özellikle 5. gün belirgin bir artış göstermiştir. Grup III ve Grup IV, 1. gün değerleri benzer olup önemli bir fark yoktur. 3.gün Grup IV belirgin bir şekilde çok yüksek bir değere (41,1±16,03) ulaşırken, Grup III çok düşük bir değere (12,81±4,62) gerilemiştir. 5. ve 7. günler Grup IV'ün değeri 3. güne kıyasla düşük olmasına rağmen, 5. ve 7. günlerdeki seviyesini korumuştur. 7. Günde Grup IV'ün antinosiseptif etkisi daha güçlü ve stabil kalırken, Grup III'ün antinosiseptif etkisi gerileme göstermiştir. Bu sonuçlar ibuprofen içeren *in situ* jel formülasyonunun HP testinde antinosiseptif etkisinin, klasik ibuprofen formülasyonuna göre daha uzun süreli ve yüksek etkide olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.4. Kontrol ve formülasyon gruplarının sıçanlarda uygulama öncesi ve sonrası HP reaksiyon zamanları (saniye)

4.1.3.2. Tail Flick Testinde Antinosiseptif Etki

Grup I (Kontrol/Naive grubu), Grup II (Deneysel OA kontrol grubu), Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) ve Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu) için formülasyonların

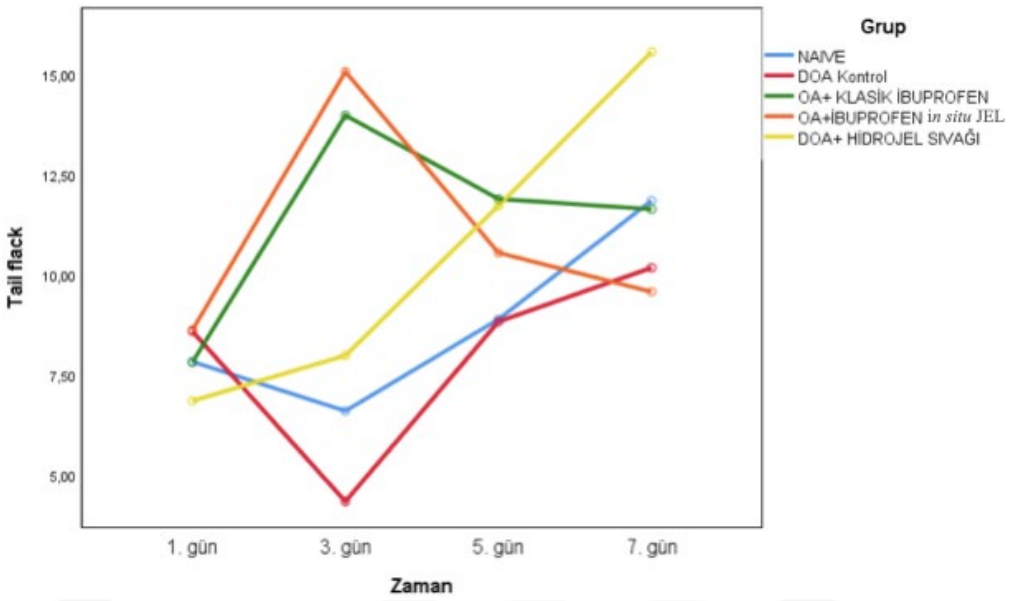
uygulanmasından önce ve uygulanmasından sonraki 1. gün (formülasyonların uygulamasından 1 saat sonra), 2. gün, 3. gün, 5. gün ve 7. gün için TF sonuçları alındı. Sonuçlar Çizelge 4.4 ve Şekil 4.5'te hayvanın TF reaksiyonu süresi (saniye) olarak gösterilmektedir. TF ölçümüne karşı zaman (gün) olarak gösterilmektedir.

Çizelge 4.4. Kontrol ve formülasyon gruplarının uygulama öncesi ve sonrası TF reaksiyon zamanları (sn)

Deney Grubu	1.gün	3.gün	5.gün	7.gün	Grup içi p
Grup I	7,83±3,07	$6,60±2,86^{AB}$	8,89±3,89	11,84±5,52	0,395
Grup II	8,59±2,08	$4,34±1,67^{A}$	8,83±5,19	10,17±4,09	0,248
Grup III	$7,81±1,95^{a}$	$13,97±7,67^{bAB}$	$11,89±4,29^{ab}$	$11,63±3,92^{ab}$	0,020
Grup IV	$8,61±3,14^{a}$	$15,06±9,86^{bB}$	$10,54±4,77^{ab}$	$9,57±3,20^{ab}$	0,040
Grup V	$6,85±1,99^{a}$	$7,98±3,00^{abAB}$	$11,72±6,31^{ab}$	$15,55±7,80^{b}$	0,024
Gruplar arası p	0,716	0,008	0,655	0,279	

Veriler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. P < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen zamanlar arasında fark vardır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen gruplar arasında fark vardır. p < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Grup I (Kontrol/Naive grubu) ve Grup II (Deneysel OA Kontrol grubu) zaman içinde anlamlı bir değişim göstermemiştir. Grup III'te (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu) zaman içerisinde anlamlı bir değişim gözlenmiş (p=0.020), 1. ve 3. günlerde belirgin bir artış olmuştur. Ancak sonraki günlerde bu artış stabil kalmıştır. Grup IV'te (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) anlamlı bir değişim gözlenmiş olup (p=0.040), en yüksek artış 3. gün olmuştur. 5. ve 7. günlerde bu artış, 3. güne kıyasla az miktarda azalmıştır. Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu) zaman içinde anlamlı bir artış göstermiştir (p=0.024). 5. ve 7. günlerdeki artış, 1. ve 3. günlerdekine göre daha çok artmıştır. Elde edilen verilere göre TF ölçümü bakımından gruplar arasında 3. günde farklılık vardır. Grup III ve Grup IV arasında 3. günde anlamlı bir fark bulunmaktadır (p=0.008). İbuprofen yüklü *in situ* jel formülasyonu, ibuprofen yüklü klasik formülasyona göre daha yüksek bir antinosiseptif etki göstermiştir. İbuprofen yüklü *in situ* jel formülasyonu ve ibuprofen yüklü klasik formülasyonu, 7. günde benzer seviyelere gelmiştir. Her iki formülasyonun antinosiseptif etkisi açısından net bir üstünlük görülmemiştir.



Şekil 4.5. Kontrol ve formülasyon gruplarının sıçanlarda uygulama öncesi ve sonrası TF reaksiyon zamanları (saniye)

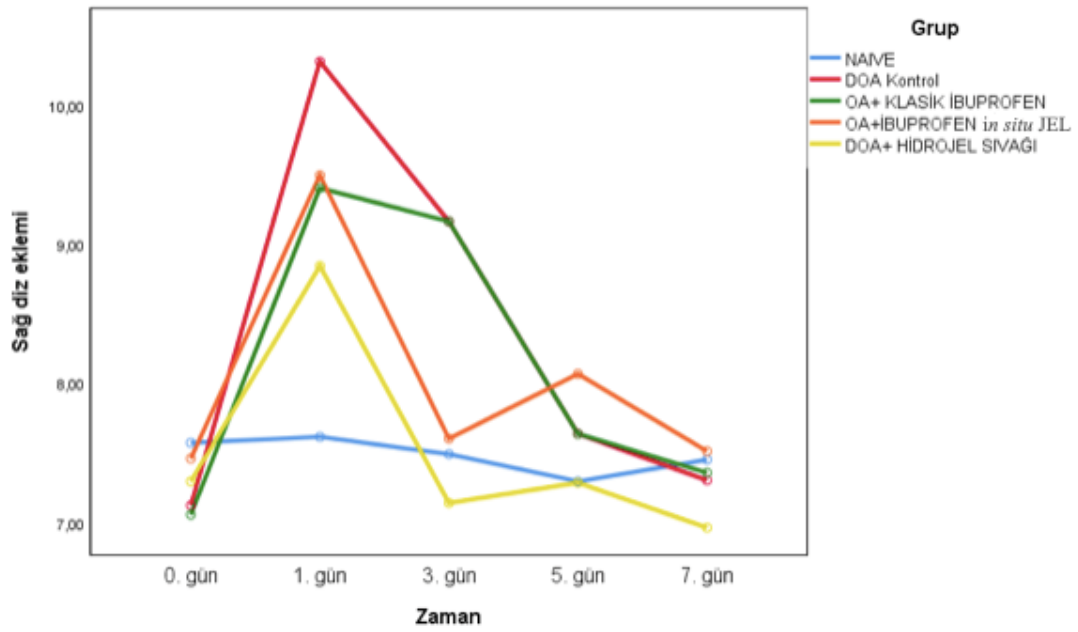
4.1.3.3. Diz Eklem Çapları Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

Grup I (Kontrol/Naive grubu), Grup II (Deneysel OA kontrol grubu), Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) ve Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu) için sağ diz eklemlerine deneysel osteoartrit modeli (DOA) oluşturmadan önce 0.gün, DOA uygulamadan 60 dk sonrası ilaç formülasyonların uygulanması olan 1. gün ve 2. gün, 3. gün, 5. gün, 7. gün için sağ ve sol diz eklem sonuçları ölçülerek (mm) kaydedildi. Sonuçlar Çizelge 4.5 ve Şekil 4.6.'te hayvanın sağ diz eklem çaplarının ölçümüne karşı zaman (gün) olarak gösterilmektedir.

Çizelge 4.5. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların ve ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında sağ diz eklem çaplarının ölçümleri (mm)

Deney Grubu	**0.gün**	**1.gün**	**3.gün**	**5.gün**	**7.gün**	**Grup içi p**
Grup I	7,57±0,36^{C}	7,62±0,16^{A}	7,49±0,30^{A}	7,30±0,13	7,45±0,18	0,860
Grup II	7,12±0,09^{aB}	10,31±0,82^{cB}	9,16±0,52^{bB}	7,64±0,27^{a}	7,31±0,29^{a}	<0,001
Grup III	7,06±0,05^{aA}	9,40±0,77^{bAB}	9,16±0,52^{bB}	7,64±0,27^{a}	7,36±0,69^{a}	<0,001
Grup IV	7,46±0,24^{aC}	9,50±0,72^{cAB}	7,60±0,23^{abA}	8,07±0,45^{b}	7,51±0,28^{a}	<0,001
Grup V	7,30±0,39^{aBC}	8,84±2,72^{bAB}	7,14±2,11^{aA}	7,29±2,33^{a}	6,96±2,08^{a}	<0,001
Gruplar arası p	<0,001	0,003	<0,001	0,422	0,703	

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ve P < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen zamanlar arasında fark vardır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen gruplar arasında fark vardır. p < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 4.6. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların, ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında sağ diz eklem çaplarının ölçümleri (mm)

Grup I'in (Kontrol/Naive grubu) sağ diz eklem ölçümü zaman içinde değişmemiştir. Grup I dışında deneysel osteoartrit uygulanan gruplarda sağ diz eklem ölçümü bakımından gruplar arasında 0. gün, 1. gün ve 3. günde farklılık bulunmaktadır. Bu, osteoartrit ilerlemesine bağlı inflamasyonun bir sonucu olarak gerçekleşmiştir. Grup II'de (Deneysel OA kontrol grubu) zaman içerisinde anlamlı

değişiklikler gözlemlenmiştir (p<0.001). Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu) ve Grup IV'te (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) sağ diz eklemindeki değişiklikler anlamlıdır (p<0.001). 0. günden 1. güne kadar artış (7.06→9.40) gözlemlenirken, daha sonra azalma yaşanmıştır. Grup IV'ün 0. günden 1. güne kadar artış (7.30→8.48) gözlemlenirken, 3. günden sonra değerler azalmış ve 7. gün de azalış devam etmektedir. Grup V'te (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu) 0. günden 1. güne kadar bir artış gözlemlenmiş, 3. günden sonra değerler azalmış ve 7. gün de azalış devam etmektedir. 5. günde ve 7. günde günde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Grup III'teki sağ diz eklem ölçümüne bağlı olarak 3. günde azalış gözlemlenirken, Grup IV'teki *in situ* jel ibuprofenin 1. günde hızlı bir analjezik etki gösterdiği tespit edilmiştir. İbuprofen yüklü klasik formülasyon ile ibuprofen yüklü *in situ* jelin analjezik etkisi 3.günden sonra da devam etmiş ve 7. günde birbirine yakın değerler göstermiştir.

Sol diz eklemi için sonuçlar Çizelge 4.6 ve Şekil 4.7'te hayvanın diz eklem çaplarının ölçümüne karşı zaman (gün) olarak gösterilmektedir.

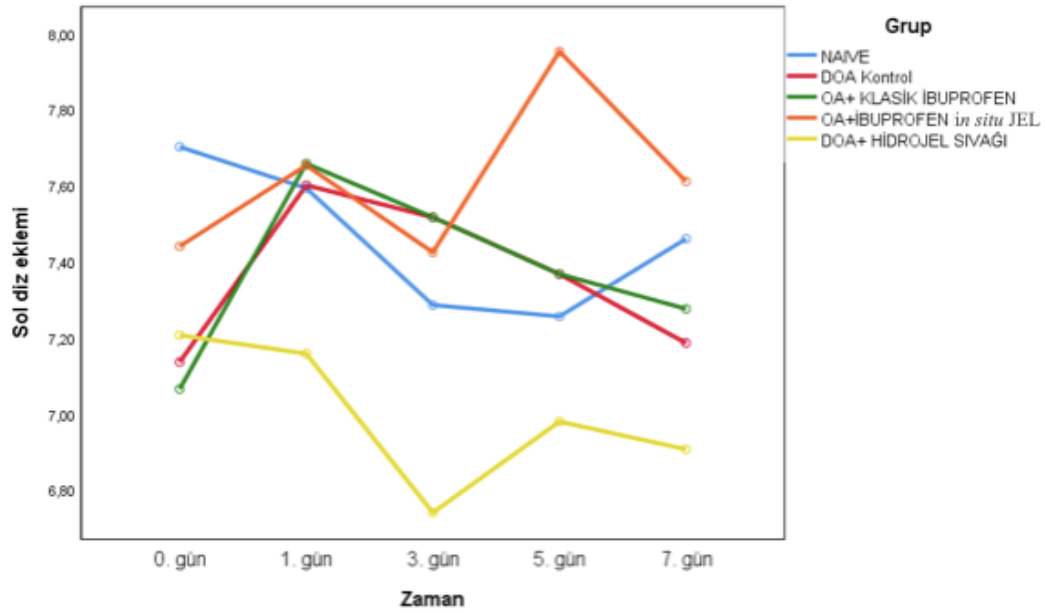
Çizelge 4.6. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların, ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında sol diz eklem çaplarının ölçümleri (mm)

Deney Grubu	**0.gün**	**1.gün**	**3.gün**	**5.gün**	**7.gün**	**Grup içi p**
Grup I	7,70±0,71^{B}	7,59±0,24	7,29±0,13	7,26±0,16	7,46±0,24	0,072
Grup II	7,14±0,12^{aAB}	7,60±0,20^{b}	7,52±0,38^{b}	7,37±0,28^{ab}	7,19±0,27^{a}	0,001
Grup III	7,07±0,06^{aA}	7,66±0,20^{b}	7,52±0,38^{b}	7,37±0,28^{a}	7,28±0,29^{a}	0,002
Grup IV	7,44±0,27^{aB}	7,65±0,36^{b}	7,42±0,25^{a}	7,95±0,42^{c}	7,61±0,41^{a}	<0,001
Grup V	7,21±0,28^{bAB}	7,16±2,08^{b}	6,74±1,95^{a}	6,98±2,04^{a}	6,91±2,00^{a}	0,001
Gruplar arası p	<0,001	0,662	0,189	0,158	0,427	

Veriler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. P < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen zamanlar arasında fark vardır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen gruplar arasında fark vardır. p < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Elde edilen verilere göre Grup I'in (Kontrol/Naive grubu) sol diz eklem ölçümleri incelendiğinde, 0., 1., 3., 5., ve 7. günler itibariyle ise, gruplar arasında sol diz eklem ölçümleri bakımından fark bulunmamıştır. Grup II'de (Deneysel OA kontrol grubu) 0. gün ile 1. gün ve 3. gün arasında anlamlı bir artış bulunmaktadır (p=0.001). Grup II'de 5. gün ve 7. günlerde düşüş başlayarak 0. gün seviyesine inmiştir. Grup III'te (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu) de aynı şekilde 0. gün ile 1. gün ve 3. gün arasında anlamlı bir artış bulunurken, 5. gün ve 7. günlerde düşüş başlayarak 0. gün seviyesine inmiştir. Grup IV'te (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel

formülasyonu) 1. günde artış olmuş, en yüksek artışı 5. günde gerçekleşmiştir (7,95±0,42, p<0.001). Grup IV'te 7. günde ise sol diz eklem ölçümleri tekrar 0. gün seviyelerine düşmüştür. İbuprofen yüklü *in situ* jel formülasyonunun, ibuprofen yüklü klasik formülasyona kıyasla daha uzun süren bir etki sağlamıştır. Grup V'in (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu) ise başlangıç günlerine kıyasla önemli bir azalma olmuştur. Bu durum, Grup V'de parametrenin zamanla düştüğünü ve 3. gün itibarıyla stabil bir hale geldiğini göstermektedir.



Şekil 4.7. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların, ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında sol diz eklem çaplarının ölçümleri (mm)

4.1.3.4. Vücut Sıcaklığı Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

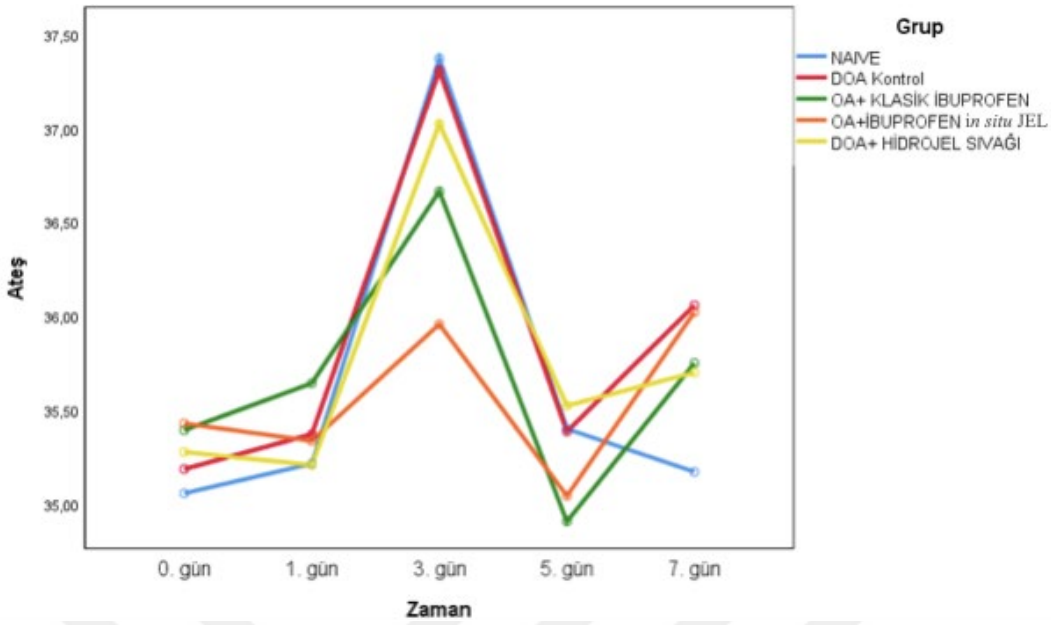
Grup I (Kontrol/Naive grubu), Grup II (Deneysel OA kontrol grubu), Grup III (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu), Grup IV (Deneysel OA + İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) ve Grup V (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu) için formülasyonların uygulanmasından önce ve uygulanmasından sonraki 1. gün, 2. gün, 3. gün, 5. gün ve 7. gün için dijital rektal termometre ile vücut sıcaklığı ölçümleri (°C) kaydedildi. Sonuçlar Çizelge 4.7. ve Şekil 4.8.'te hayvanın vücut sıcaklığı ölçümü zamanı (gün) olarak gösterilmektedir.

Çizelge 4.7. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların, ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında vücut sıcaklığı ölçümleri (°C)

Deney Grubu	0.gün	1.gün	3.gün	5.gün	7.gün	Grup içi p
Grup I	35,06±0,62^{a}	35,21±0,25^{a}	37,37±0,52^{bC}	35,40±1,05^{a}	35,17±0,48^{aA}	<0,001
Grup II	35,19±0,72^{a}	35,37±0,49^{a}	37,31±0,37^{cC}	35,39±0,62^{ab}	36,06±0,67^{bB}	<0,001
Grup III	35,39±0,57^{ab}	35,64±0,71^{b}	36,66±0,37^{cB}	34,91±0,48^{a}	35,75±0,51^{bAB}	<0,001
Grup IV	35,43±0,86^{ab}	35,34±0,69^{a}	35,96±0,38^{bA}	35,04±0,57^{a}	36,02±0,60^{bB}	<0,001
Grup V	35,28±0,53^{a}	35,21±0,71^{a}	37,02±0,59^{bBC}	35,52±0,64^{a}	35,70±0,63^{aAB}	<0,001
Gruplar arası p	0,727	0,411	<0,001	0,083	0,018	

Veriler, ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. P < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen zamanlar arasında fark vardır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen gruplar arasında fark vardır. p < 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Elde edilen sonuçlara göre Grup I'de (Naive) vücut sıcaklığı ölçümünde stabilize gözlemlenirken, diğer deney gruplarında özellikle 3. günde belirgin bir artış elde edildi. Grup I dışındaki diğer gruplarda 3. günde inflamasyona bağlı vücut sıcaklığı değeri yükseldi. Grup II'de (Deneysel OA kontrol grubu) 3. günde vücut sıcaklığı ölçümü anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p<0.001$). Grup II'de 7. günde, 0. gün ve 1.güne göre anlamlı bir artış kaydedilmiştir. Grup III'te (Deneysel OA + Klasik ibuprofen formülasyonu grubu) vücut sıcaklığı ölçümü 3. günde anlamlı bir şekilde artmış ancak 5. gün itibariyle düşüş göstermiştir ve 7. günde ise 5. güne kıyasla tekrar artış gözlemlenmiştir ($p<0.001$). Grup IV'te (Deneysel OA+ İbuprofen *in situ* jel formülasyonu) vücut sıcaklığı ölçümü 3. günde anlamlı bir şekilde artmış ancak 5. gün itibariyle düşüş göstermiştir. Grup V'te (Deneysel OA + *in situ* jel sıvağ grubu) ise 3. günde anlamlı bir şekilde artmış, 7. günde ise 3. güne kıyasla düşüş gerçekleşmiştir. Vücut sıcaklığı ölçülürken ortamın nemi ve sıcaklığı sıçanların terleme ve vücut ısı mekanizmalarını etkilediği için sıçanların vücut sıcaklığında artışa sebep olabilmektedir. Olası bu durumda vücut sıcaklıkları arışı ile 3. günde tüm gruplarda daha yüksek bir diğer ölçülmüş olup, bu duruma rağmen ibuprofen *in situ* jel formülasyonu grubunda vücut sıcaklığı ibuprofene bağlı daha düşük olduğu düşünülmektedir. İbuprofenin klasik formülasyonunda 5. günde antipiretik etki gözlemlenirken, ibuprofenin *in situ* jel formülasyonunda 1. günde ve 5. günde antipiretik etki gözlemlenmiştir. Bu da ibuprofen içeren *in situ* jel formülasyonun klasik ibuprofen formülasyonuna göre daha kontrollü, hızlı ve etkili bir şekilde antipiretik etki gösterdiğini işaret etmektedir.

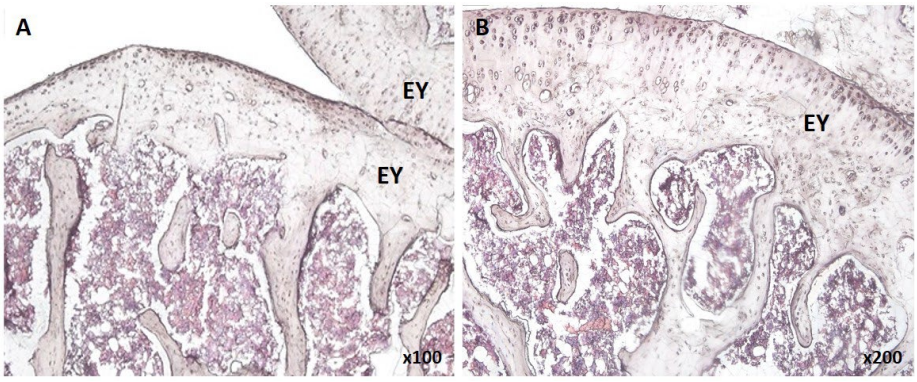


Şekil 4.8. Kontrol ve deneysel osteoartritli grupların, ilaç formülasyonları uygulanan grupların önce ve sonrasında vücut sıcaklığı ölçümleri (°C)

4.1.4. Histopatolojik Bulgular

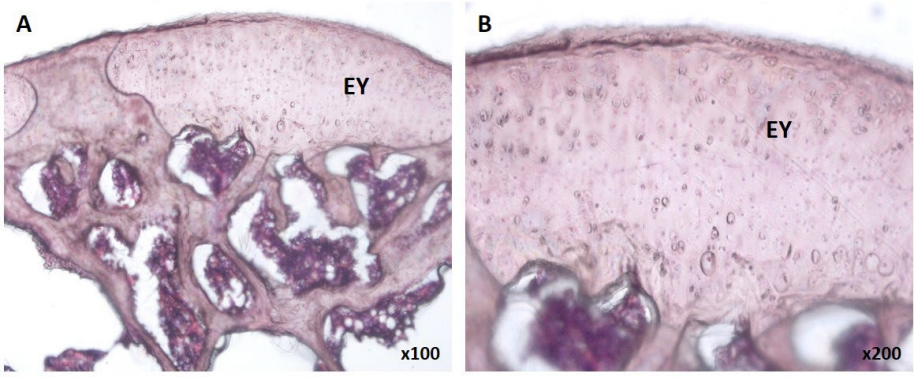
4.1.4.1.Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları

Tüm gruplara ait eklem örnekleri genel histolojik görünümü belirlemek amacıyla Hematoksilen-Eozin yöntemiyle boyandı. Kontrol grubuna ait örneklerde, eklem yüzeyini oluşturan hiyalin kıkırdak doku bütünlüğünün korunduğu görüldü. Eklem kıkırdağına ait yüzeysel, orta (geçiş), derin ve kalsifiye kıkırdak tabakaları belirgin şekilde ayırt edildi. Kondrositler, yüzeysel tabakada oval veya yassı şeklinde iken orta tabakada yuvarlak şekilde idi. Kondrosit sayısının yüzeysel tabakadan kalsifiye tabakaya doğru gidildikçe azaldığı, bu durumun eklem kıkırdağının normal sağlıklı yapısını şekillendirdiği izlendi. Kalsifiye tabakanın hemen altında ise subkondral kemik dokusu yer almakta idi (Şekil 4.9.).

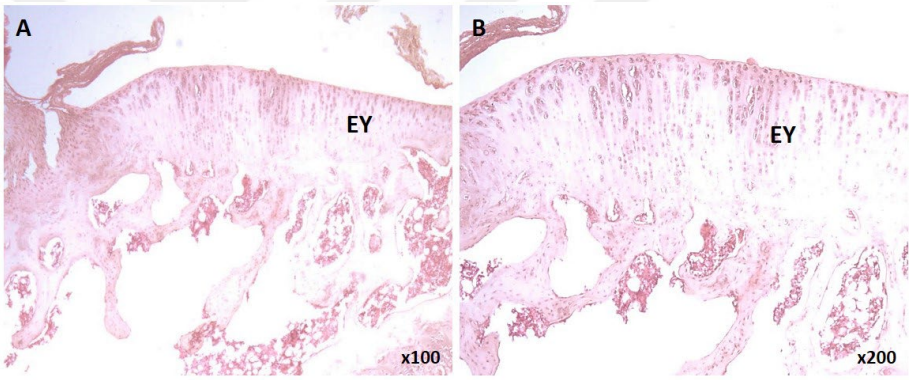


Şekil 4.9. Grup I (Kontrol/Naive Grubu) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)

Deneysel osteoartrit gruplarında eklem yüzeysel tabakada incelme, kondrosit sayısında azalma ve dejenerasyon ile birlikte kıkırdak doku nekrozları saptandı. Ayrıca, orta ve derin tabakalardaki kondrosit morfolojisinin bozulduğu görüldü (Şekil 4.10. ve Şekil 4.11.).

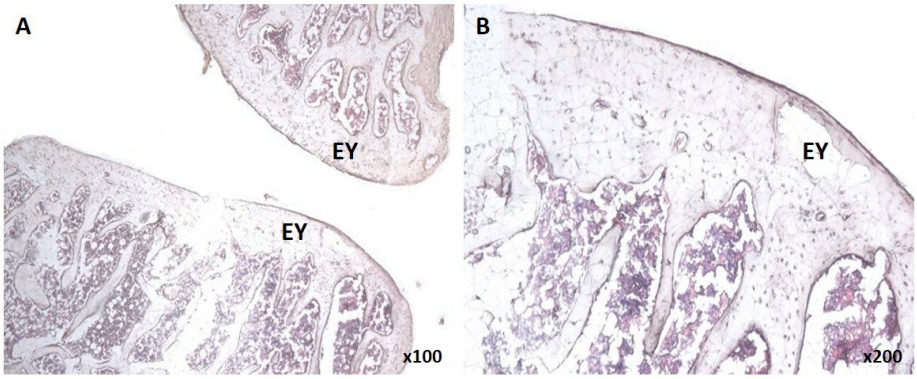


Şekil 4.10. Grup II (Deneysel OA Kontrol Grubu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)

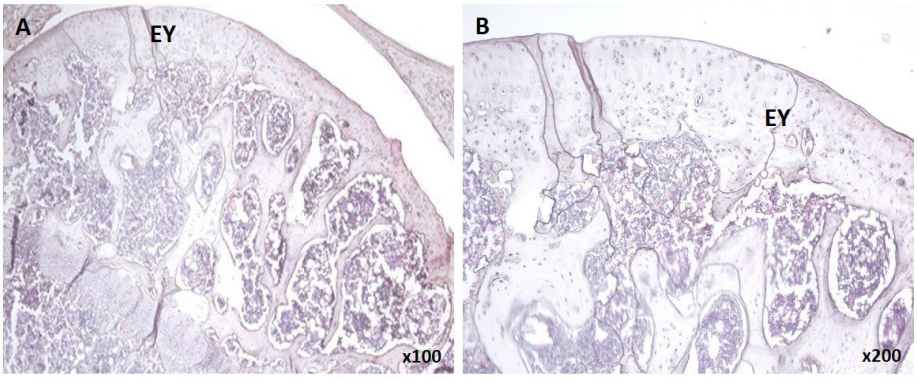


Şekil 4.11. Grup II (Deneysel OA Kontrol Grubu-2) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)

Deneysel osteoartrit oluşturulduktan sonra Klasik İbuprofen uygulanan gruplarda, eklem yüzeyinde iyileşmenin başladığı, eklem yüzeysel tabakadaki incelmenin osteoartrit grubuna göre artmış olduğu ve dolayısıyla kondrosit sayısının kontrol grubuna yaklaştığı izlendi. Aynı zamanda kıkırdak doku nekrozlarının da azaldığı saptandı (Şekil 4.12. ve Şekil 4.13.).

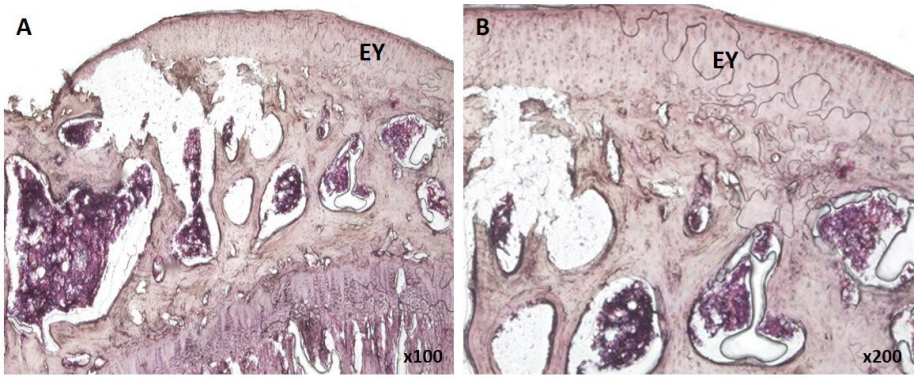


Şekil 4.12. Grup III (Deneysel OA + Klasik İbuprofen formülsyonu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)



Şekil 4.13. Grup III (Deneysel OA + Klasik İbuprofen Formülasyonu Grubu-2) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)

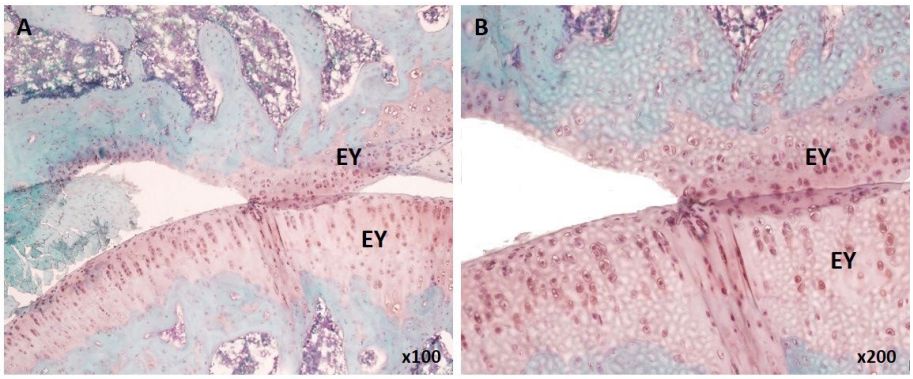
Deneysel osteoartrit sonrasında ibuprofen yüklü *in situ* jel formülasyonu uygulanan gruplarda, eklem yüzeyindeki iyileşmenin yüksek oranda arttığı, kıkırdak doku nekrozlarının belirgin şekilde azaldığı görüldü. Kıkırdak doku iyileşmesi, klasik ibuprofen formülasyonu uygulanan gruplara göre daha fazla idi (Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. Grup IV (Deneysel OA + in situ jel İbuprofen Grubu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Hematoksilen-Eozin boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)

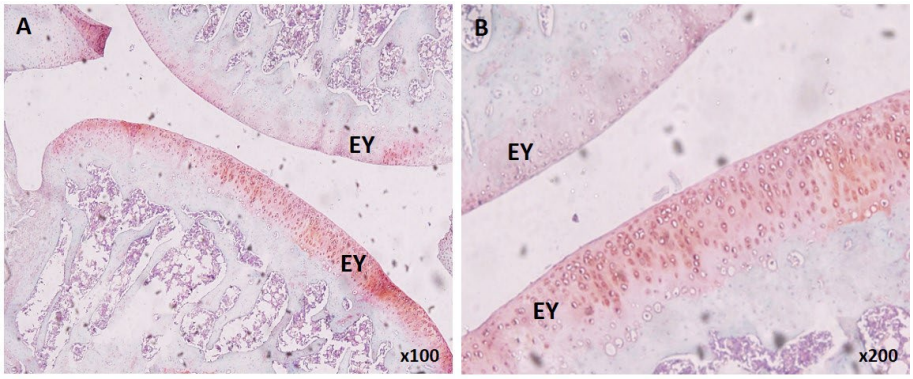
4.1.4.2. Safranin O-Fast Green Boyama Bulguları

Deney sonrasında eklem örneklerinden alınan kesitler, kıkırdak ve kemik matriks yapısını, dağılımını ve DOA sonrası oluşan değişimleri belirlemek amacıyla Safranin O-Fast Green FCF ile boyandı. Kontrol grubu incelendiğinde genel histolojik yapısını koruduğu ve kıkırdak matriks yoğunluğunun normal düzeyde olduğu saptandı. Yüzeysel bölgede Safranin O boyanma yoğunluğu az olması normal olarak kabul edilmektedir. Orta bölgede hücreler rastgele yerleşim gösterirken, derin bölgede hücreler ard arda sıralar şeklinde bulunmaktadır. Eklem yüzeyini oluşturan tüm tabakalar ayırt edilmekte, subkondral kemik dokusundaki matriks yoğunluğunun homojen olduğu görüldü (Şekil 4.15.)

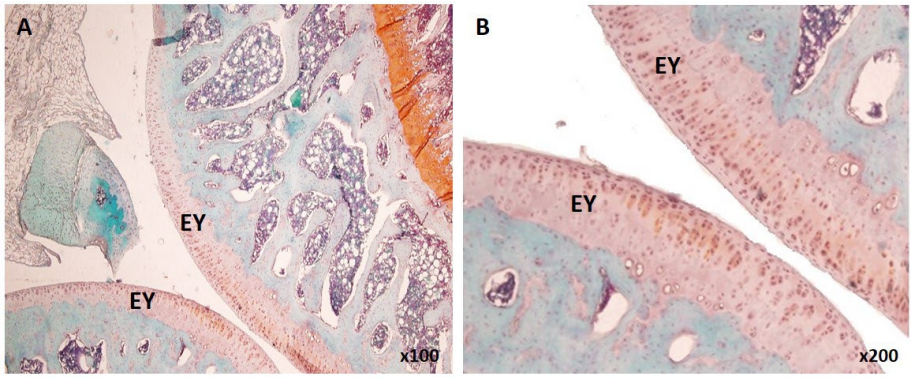


Şekil 4.15. Grup I (Kontrol Grubu) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)

Deneysel osteoartrit oluşturulan iki grupta da matriks yoğunluğunun azaldığı ve dağılımının bozulduğu görüldü. Aynı zamanda yüzeysel tabakada incelme, dejenerasyon ve nekroz varlığı dikkat çekti (Şekil 4.16 ve Şekil 4.17).

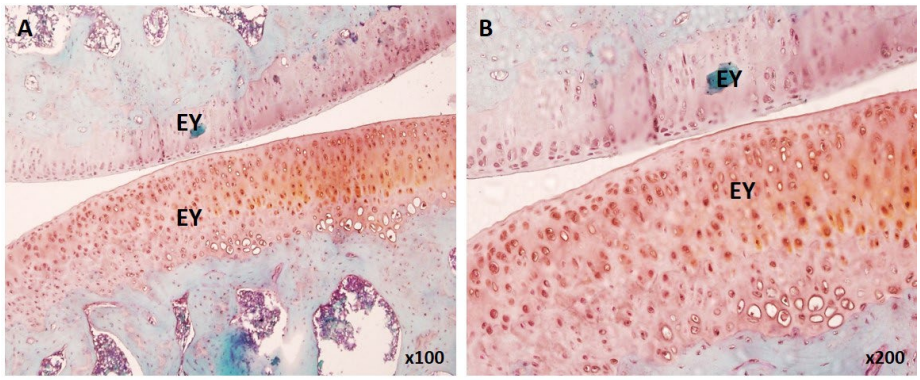


Şekil 4.16. Grup II (Deneysel OA Kontrol Grubu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)

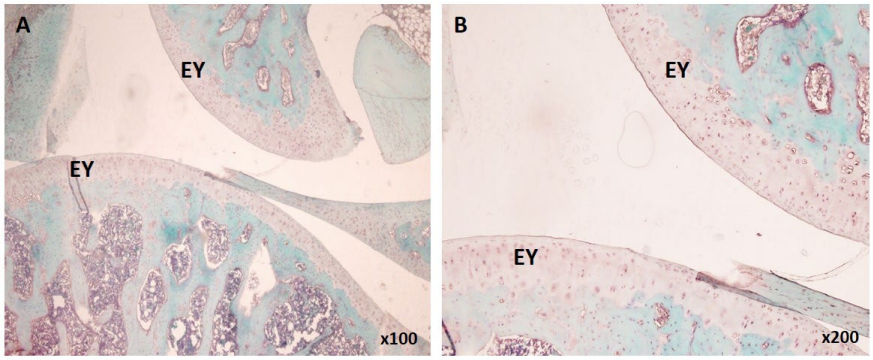


Şekil 4.17. Grup II (Deneysel OA Kontrol Grubu-2) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)

Klasik İbuprofen formülasyonu uygulanan gruplarda, kıkırdak matriks yoğunluğunda artış başladığı ve matriksin Deneysel OA kontrol gruplarına göre daha fazla homojen dağılım gösterdiği tespit edildi. Yüzeysel tabakadaki kalınlaşma artarken nekrozların azaldığı görüldü (Şekil 4.18. ve Şekil 4.19.).

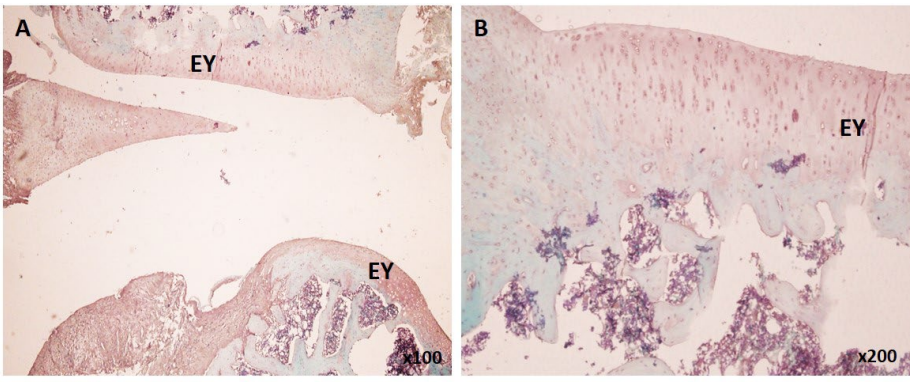


Şekil 4.18. Grup III (Deneysel OA + Klasik İbuprofen Formülasyonu Grubu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)



Şekil 4.19. Grup III (Deneysel OA + Klasik İbuprofen Formülasyonu Grubu-2) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B).

İn situ jel İbuprofen uygulanan gruplarda, kıkırdak ve kemik matriks yoğunluğunda artış ile birlikte homojen dağılımın iyileştiği saptandı. Aynı zamanda kıkırdak doku nekrozlarında da azalma saptandı (Şekil 4.20.).



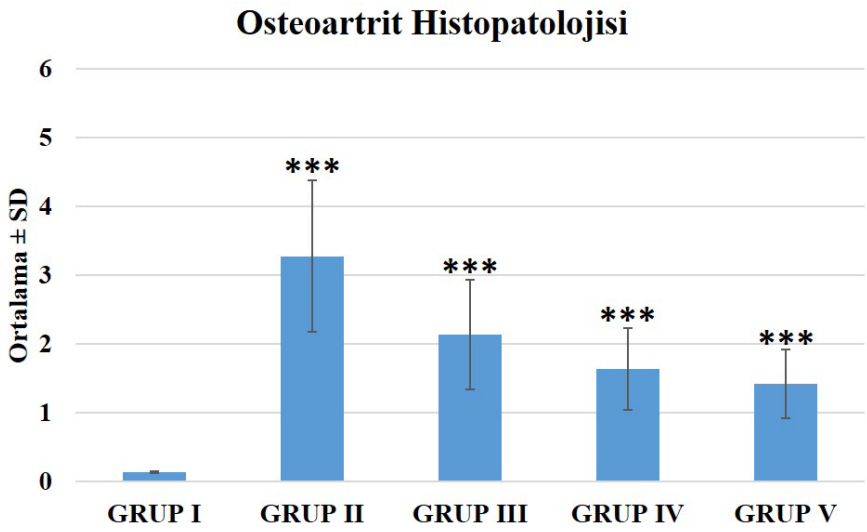
Şekil 4.20. Grup IV (Deneysel OA + *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu Grubu-1) erkek sıçanların eklem bölgesine ait histolojik görüntüler, Safranin O-Fast Green boyama. EY: Eklem yüzeyi. Büyütmeler: x100 (A), x200 (B)

4.1.4.3. Histopatolojik Değerlendirme Bulguları

Hematoksilen-Eozin ve Safranin O-Fast Green FCF ile boyanan doku örnekleri osteoartrit histopatolojisi, sinovit ve fibrozis histopatolojisi (Çizelge 4.8.), osteofit boyutu (µm), kıkırdak genişliği (µm), kıkırdak uzunluğu (mm) ve kondrosit hücre sayısı parametrelerine ait veriler istatistiksel olarak analiz edilerek gruplar arasındaki farklar ortaya konuldu. Uluslararası Osteoartrit Derneği (OARSI)'nin kriterlerine göre osteoartrit histopatolojisi incelendiğinde MIA ile oluşturulan deneysel osteoartrit modelinin oluşturulduğu saptandı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, OA grubu sıçanlarda kıkırdak doku bütünlüğünün bozulduğu, kıkırdak yüzeyinin bozulduğu, dokuda dikey çatlaklar ve aşınma varlığı görüldü. OARSI skorlamasına göre tespit edilen en yüksek skorlar 4 (%43,0) ve 5 (%7,0)'tir (Çizelge 4.8.). İlaç uygulanan Grup III, IV ve V'de osteoartritin gerilediği belirlendi (Şekil 4.21.). Grup IV ve V'te osteoartrit skorları en düşük olup, *in situ* jel ibuprofen ve sıvağ formülasyonlarının osteoartritin önlenmesinde etkin oldukları saptandı.

Çizelge 4.8. Uluslararası Osteoartrit Derneği (OARSI)'nin kriterlerine göre osteoartrit histopatoljisinin denek sayılarının gruplardaki dağılımı

Gruplar / OARSI Skoru	Grup I Kontrol n, %	Grup II OA Kontrol n, %	Grup III OA+Klasik İbuprofen n, %	Grup IV OA+Hidrojel İbuprofen n, %	Grup V OA+Hidrojel Sıvağ n, %
Skor 0	6 (%86,0)	0	0	1 (%7,0)	3 (%21,5)
Skor 1	1 (%14,0)	1 (%7,0)	3 (%21,5)	4 (%29,0)	3 (%21,5)
Skor 2	0	2 (%14,0)	7 (%50,0)	8 (%57,0)	7 (%50,0)
Skor 3	0	4 (%29,0)	3 (%21,5)	1 (%7,0)	1 (%7,0)
Skor 4	0	6 (%43,0)	1 (%7,0)	0	0
Skor 5	0	1 (%7,0)	0	0	0
Skor 6	0	0	0	0	0
Toplam Skor	1	46	30	23	20



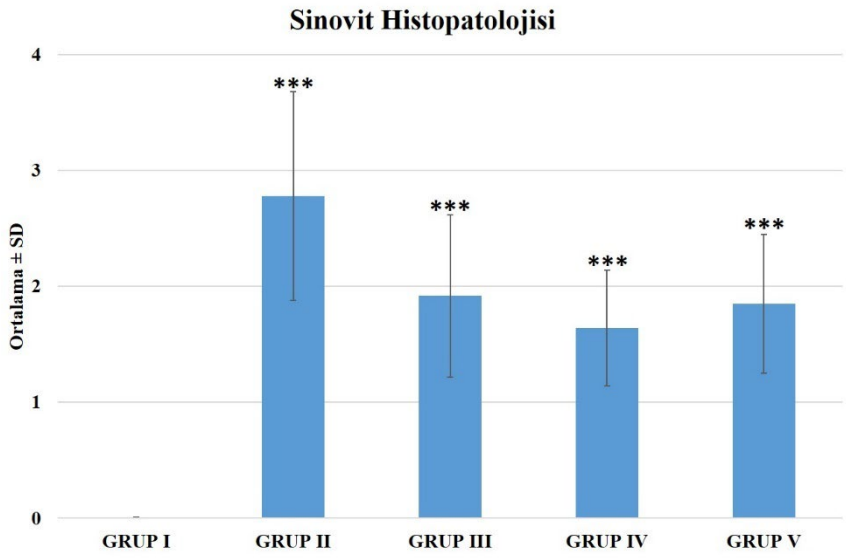
Şekil 4.21. Uluslararası Osteoartrit Derneği (OARSI)'nin kriterlerine göre osteoartrit histopatolojisinin kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), Deneysel OA+Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), Deneysel OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve Deneysel OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında karşılaştırılması. ***p<0,001

Diz bölgesinde eklem boşluklarını çevreleyen sinovyum veya sinoviyal membran, bağ dokusunda olup sinoviyal sıvının üretiminden sorumludur. Sinovit ise, sinoviyal membranda meydana gelen enflamasyondur. Bu enflamasyon esnasında sinoviyal membrana çok sayıda mononükleer hücre yani enflamatuvar yanıtta rol oynayan B ve T lenfositler, monositler ve makrofajların infiltrasyonu söz konusudur (Mathiessen ve Conaghan, 2017).

Çalışmamızda, OA grubunda sinovit histopatolojisi incelendiğinde hücre infiltrasyonu ile sinoviyal membran kalınlığının arttığı ve en yüksek skorun 3 olduğu belirlendi (%85,70). Grup III, IV ve V'te sinovit belirtilerinde ve sinovit görülen denek sayısında azalma saptandı (Çizelge 4.9. ve Şekil 4.22.).

Çizelge 4.9. Sinovit histopatolojisi değerlendirilmesinde denek sayılarının gruplardaki dağılımı

Gruplar / **Sinovit Skoru**	**Grup I** Kontrol n, %	**Grup II** OA Kontrol n, %	**Grup III** OA+Klasik İbuprofen n, %	**Grup IV** OA+Hidrojel İbuprofen n, %	**Grup V** OA+Hidrojel Sıvağ n, %
Skor 0	7 (%100,0)	0	0	0	0
Skor 1	0	1 (%7,15)	4 (%28,57)	6 (%42,85)	4 (%28,57)
Skor 2	0	1 (%7,15)	7 (%50,0)	7 (%50,0)	8 (%57,15)
Skor 3	0	12 (%85,70)	3 (%21,43)	1 (%7,15)	2 (%14,28)
Toplam Skor	**0**	**39**	**27**	**23**	**26**

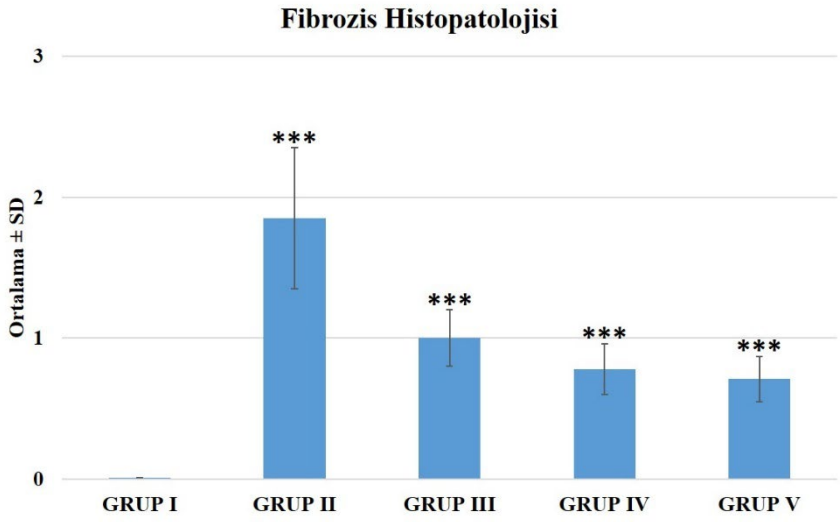


Şekil 4.22. Sinovit histopatolojisinin kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), Deneysel OA+Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), Deneysel OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve Deneysel OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında karşılaştırılması. ***p<0,001

OA patolojisinde eklem yüzeyinde görülen fibrozis, ekstrasellüler matriks moleküllerinin aşırı sentezlenerek birikmesi ve fibroblast benzeri kondrosit sayısında artış ile karakterizedir (Rim ve Ju 2020). Kontrol grubunda fibrozis bulgularına rastlamazken, OA grubunda fibrotik lezyonlardaki artış, osteoartrite eşlik etmiştir. İlaç uygulanmasıyla fibrozis gerilemiştir. Grup III, IV ve V'te, OA grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma mevcuttur, ancak bu üç grup arasındaki fark anlamlı değildir (Çizelge 4.10. ve Şekil 4.23.).

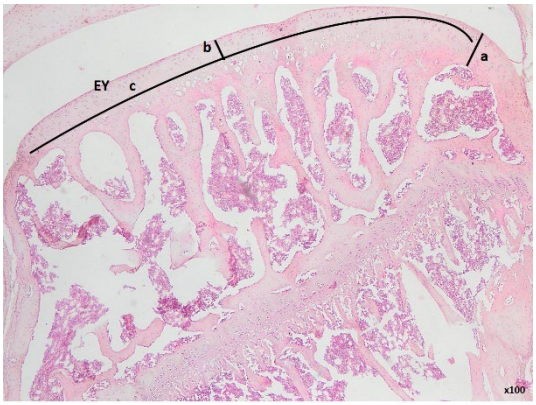
Çizelge 4.10. Fibrozis histopatolojisinin denek sayılarının gruplardaki dağılımı.

Gruplar / Fibrozis Skoru	Grup I Kontrol n, %	Grup II OA Kontrol n, %	Grup III OA+Klasik İbuprofen n, %	Grup IV OA+Hidrojel İbuprofen n, %	Grup V OA+Hidrojel Sıvağ n, %
Skor 0	7 (%100,0)	0	3 (%21,43)	5 (%35,72)	5 (%35,72)
Skor 1	0	2 (%14,28)	8 (%57,14)	7 (%50,00)	8 (%57,14)
Skor 2	0	12 (%85,72)	3 (%21,43)	2 (%14,28)	1 (%7,14)
Skor 3	0	0	0	0	0
Toplam Skor	**0**	**26**	**14**	**11**	**10**



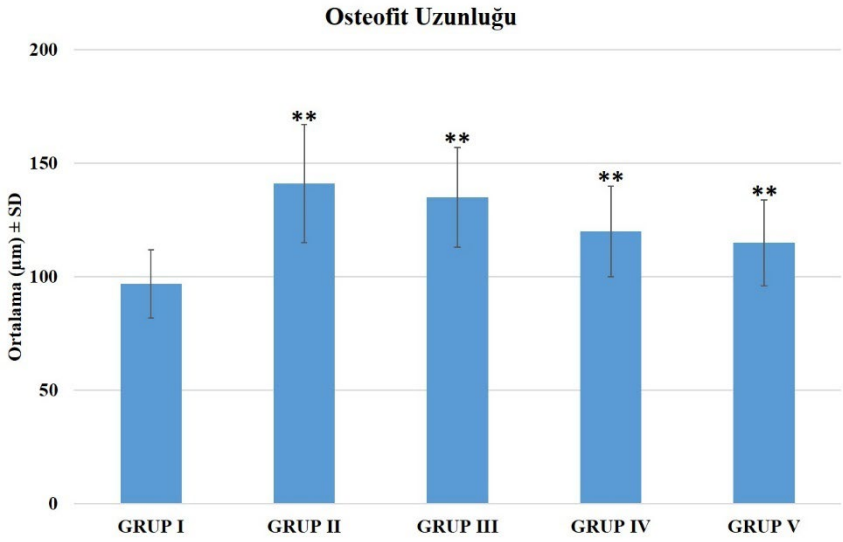
Şekil 4.23. Fibrozis histopatolojisinin kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), OA+ Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında karşılaştırılması. ***p<0,001

Aynı zamanda, tüm gruplardan alınan doku örneklerinde, osteofit uzunluğu (µm), kıkırdak genişliği (µm), kıkırdak uzunluğu (mm) (Şekil 4.24.). gösterilen yönlerde, görüntü analiz programı ImageJ Software programı kullanılarak ölçüldü (Şekil 4.25.). Ölçüm yapılan bölgelerde aynı zamanda kondrosit hücreleri sayıldı. Bu parametrelere ait veriler istatistiksel olarak analiz edilerek gruplar arasındaki farkları belirten grafikler oluşturuldu.



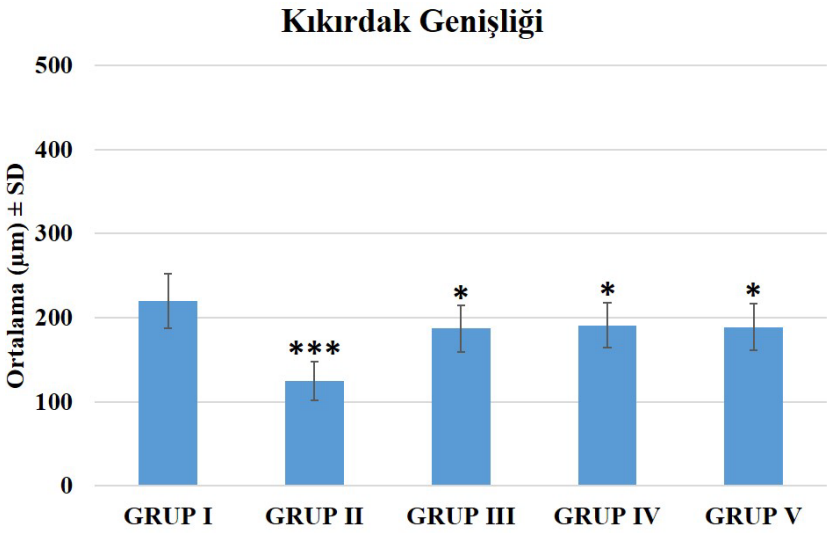
Şekil 4.24. Eklem yüzeyinde osteofit uzunluğu (a), kıkırdak genişliği (b) ve kıkırdak uzunluğunun ölçüm bölgeleri, Büyütme: x100

Eklem yüzeylerinin periferinde oluşan osteofit uzunlukları karşılaştırıldığında kontrol grubunda ortalaması 97,1 ± 15,02 µm iken, bu uzunluk OA grubunda 141,4 ± 26,3 µm'ye yükselmiştir (**p<0,01). Osteofit uzunluğu, Grup III'te 135,05 ± 22,5 µm, Grup IV'te 120,6 ± 20,3 µm ve Grup V'te 115,7 ± 19,5 µm olarak ölçülmüştür.



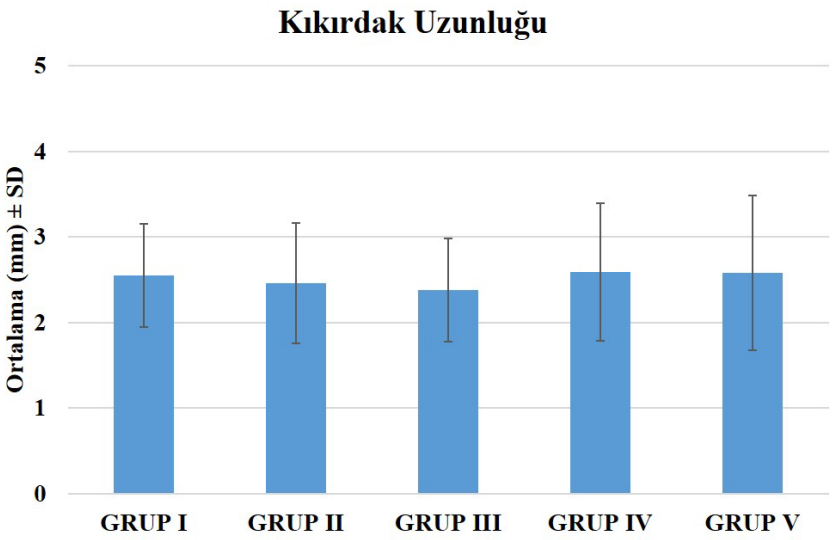
Şekil 4.25. Kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), Deneysel OA+ Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında osteofit uzunluklarının karşılaştırılması. **p<0,01

Kıkırdak genişliği, kontrol grubunda 220,6 ± 32,5 µm iken, OA grubunda hasara bağlı olarak azalmış olup 125,8 ± 23,4 µm olarak ölçülmüştür. Üç faklı formülasyonda ilaç uygulamaları arasında anlamlı bir fark yoktur, ancak OA grubuna göre kıkırdak genişliği istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır (Şekil 4.26.).



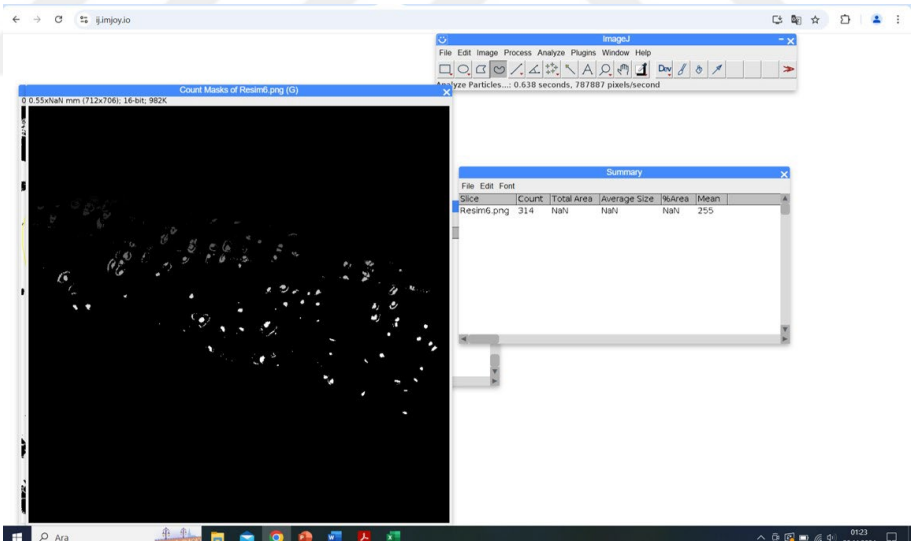
Şekil 4.26. Kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), OA+Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında eklem yüzeyindeki kıkırdak genişliklerinin karşılaştırılması. ***p<0,001; *p<0,5

Eklem yüzeyinde bulunan kıkırdak uzunlukları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir yoktur (Şekil 4.27.).



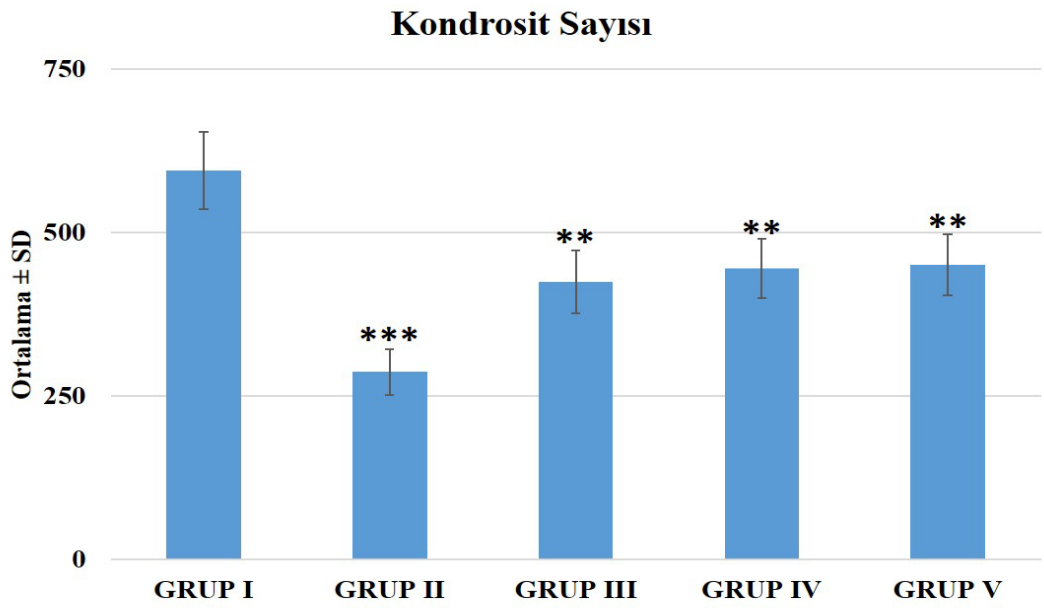
Şekil 4.27. Kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), Deneysel OA+ Deneysel Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında eklem yüzeyindeki kıkırdak uzunluklarının karşılaştırılması

Kondrosit hücre sayısı, ImageJ Software programında eklem yüzeyindeki kıkırdak alanının sınırları çizilerek, alan içerisinde kalan hücreler sayılarak belirlendi (Şekil 4.28.).



Şekil 4.28. Eklem yüzeyinde kıkırdak dokusunda kondrosit hücre sayımının ImageJ programında belirlenmesi

Kontrol grubunda kondrosit sayısı ortalama 595,6 ± 59,3, OA grubunda osteoartritin vermis olduğu hasar sonucu kondrosit sayısı 287,5 ± 35,0'e düşmüştür. Grup V'te *in situ* jel sıvağ formülasyonunun etkisiyle hücre sayısı 451,2 ± 47,4, Grup IV'te *in situ* jel ibuprofen uygulanması ile 445,1 ± 45,0 ve Grup III'te klasik ibuprofen etkisiyle 425,2 ± 48,1'e yükseldiği saptandı (Şekil 4.29.).



Şekil 4.29. Kontrol (Grup I), Deneysel OA (Grup II), Deneysel OA+Klasik İbuprofen Formülasyonu (Grup III), Deneysel OA+ *in situ* jel İbuprofen Formülasyonu (Grup IV) ve Deneysel OA+ *in situ* jel Sıvağ Formülasyonu (Grup V) gruplarında eklem yüzeyindeki kıkırdak dokusundaki kondrosit sayılarının karşılaştırılması. ***p<0,001; **p<0,01

4.2. Tartışma

Son yıllarda hasta uyuncunu arttırması, düşük yan etkileri, uygulama kolaylığı, doz aralıklarının uzaması gibi avantajlı yönleri nedeniyle kontrollü ilaç sistemleri üzerinde yapılan çalışmalarda, *in situ* jelleşen sistemler üzerinde yapılan çalışmalar artış göstermektedir. Uyaran sisteme bağlı olarak pH, sıcaklık, iyon, ultrason, ultraviyole ışıma gibi çeşitli faktörler ile geliştirilebilen *in situ* jel sistemleri vajinal, rektal, oküler ve enjekte edilebilir ilaç dozaj formlarının geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Enjekte edilebilir *in situ* jeller istenilen terapötik etkiyi elde etmesi, uygulanma kolaylığı, istenmeyen yan etkileri bertaraf etmesi, ilk geçiş metabolizmasına uğramaması ve lokalize ilaç dağıtımı sağlaması bakımından üstün özelliklere sahiptir (Dhalkar ve ark., 2019; Ahmad ve ark., 2022).

İn situ jel dağıtım sistemi esas alınarak intraartiküler olarak geliştirilen formülasyonların etkileri ile ilgili yapılan çok sayıda çalışmayı göz önünde bulundurarak, biz de NSAİİ'ler ile geliştirilebilecek intraartiküler olarak uygulanacak enjekte edilebilir *in situ* jel formülasyonu üzerinde çalışması düşünülmüştür. Klasik ibuprofenin formülasyonu ile geliştirilen ibuprofen içeren *in situ* jel formülasyonunun diz eklem kapsulasına intraartiküler enjeksiyonu sonrasında, uygulama yerindeki etkilerini karşılaştırmak üzere deneysel osteoartrit modeli oluşturulan sıçanlar üzerinde *in vivo* bir çalışma yapmayı planlanmıştır.

Çalışmamızda deneysel osteoartrit modeli oluşturulan sıçanlara, geliştirilen ibuprofen içeren *in situ* jel formülasyonu intraartiküler olarak diz eklem boşluğuna uygulanmış, ibuprofenin klasik

formülasyonunun intraartiküler olarak diz eklem boşluğuna uygulanması ile birlikte farmakolojik aktivite ve histopatolojik etkileri karşılaştırarak araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada geliştirilen *in situ* jel formülasyon için polimer olarak, Pluronic® F 127 ve Hidroksi propil metil selüloz (HPMC), yardımcı çözücü olarak Tween 80 ve etanol, çözücü olarak ise distile su kullanılmıştır. Polietilen glikol-polipropilen glikol-polietilen glikol triblok kopolimerleri, ticari olarak Pluronic® adıyla bilinen, farmasötik formülasyonlarda sıklıkla kullanılan non-iyonik polimerdir. Bu polimerler amfifilik bir karaktere sahip olup, hidrofobik yüzeyler ile biyolojik membranlarla etkileşime girebilme yeteneğine sahip yüzey etkin madde gibi davranabilmektedir. Sulu çözeltilerde özellikle zayıf çözünürlüğe sahip etkin maddelerin çözünürlüğünü iyileştirebilmektedir. Pluronic polimerler, oküler, topikal veya enjeksiyonluk ilaç taşıyıcı sistemler gibi pek çok farklı amaçla kullanılmaktadır. Farklı konsantrasyonlarda kullanıldıklarında sıcaklığa bağlı olarak çözelti formundan jel formuna geçebilmeleri en önemli özellikleridir. Böylelikle uygulama bölgesinde jelleşen "*in situ* jelleşen sistemler" hazırlanabilmektedir (Khattab ve ark., 2019; Gang ve ark., 2024).

Khateb ve ark. yapmış oldukları çalışmada Pluronic® F 127 ve Pluronic® F 68 karışımları kullanılmış, termal geçiş ve jelasyon özellikleri incelenmiştir. %20 Pluronic® F 127 çözeltileri fizyolojik koşullarda şeffaf jel oluştururken, Pluronic F 68 ve karışımları yalnızca daha yüksek sıcaklıklarda jel oluşturmuştur, bu da onları termal duyarlı sistemler için uygunsuz kılmıştır. Her iki çözeltinin de mukozal dokular için tahriş edici olmadığı ve oküler ilaç taşıma için uygun jel formunda formülasyonlar hazırlandığı belirlenmiştir (Khateb ve ark, 2016).

Başka bir çalışmada, Latanoprost'un kontrollü salımıyla göz içi basıncını (IOP) yönetmek için sıcaklığa duyarlı *in situ* jelleşen bir topikal göz formülasyonu geliştirmesi amaçlanmıştır. Optimum formülasyon göz yüzey sıcaklığına uygun sıcaklıkta jelleştiği için 34.3 °C'de jelleşen %18 Pluronic® F 127 ve %1 HPMC içeriğine sahip oran olarak belirlenmiştir. Jelleşme özelliğinin ilaç ile oküler dokular arasındaki temas süresini artırarak hızlı drenajı önlemede ve transkorneal geçişi iyileştirmede katkısı olduğu belirtilmiştir (Khattab ve ark., 2019).

Ön formülasyon çalışmaları esnasında hazırlanan farklı polimer konsantrasyonundaki formülasyonlar Test Tüpü Eğme Yöntemi'ne göre her formülasyon üç kere ölçülmek suretiyle jelleşme sıcaklıkları kaydedilmiştir. Bu değerlere uygun olarak vücut sıcaklığı olan 37°C'de jelleşebilen formülasyon oranı karakterizasyon çalışmaları için seçilmiş ve etkin maddeli formülasyonlar hazırlanmıştır. Etkin madde ilavesinden sonra jelleşme sıcaklığında herhangi bir değişim olmamıştır. Çalışmamızda Pluronic® F 127'nin farklı konsantrasyonları kullanılmış ve vücut sıcaklığında jelleşme sağlayan optimum konsantrasyonun %25 Pluronic® F 127 ve HPMC %1 içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Yardımcı çözücü olarak Tween 80 ve etanol, etkin madde çözünürlüğünü iyileştirici etkisi olması sebebiyle kullanılmıştır. Romatoid artrit tedavisinde kullanılmak üzere Metotreksat yüklü *in situ* jelleşen sistemin geliştirildiği bir çalışmanın sonuçları, bu çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir. Çalışmada sıcaklığa bağlı yerinde

jelleşebilen, biyobozunur ve enjekte edilebilir yeni bir formülasyon geliştirmek için Pluronic® F 127 kullanılmaktadır. Oda sıcaklığında sıvı dozaj şekli gibi davranan sistem, uygulama sonrası jelleşme özelliği göstermiştir. Çalışmada formülasyonun eklem dokusu ile biyo-uyumlu ve toksik olmayan bir yapıya sahip olduğu belirtilmiştir. Bu sistem, uzun süreli salımı için doz, dozlama sıklığı, yan etkiler ve tedavi maliyetini azaltarak hasta uyumunu artırabilecek yenilikçi bir ilaç taşıma sistemi olarak geliştirilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar gibi, uygun bir enjekte edilebilir ilaç taşıyıcı sistem olabileceği ortaya konulmuştur (Venkatesh ve ark., 2020).

Jel sistemlerde de birçok sistemde olduğu gibi fizikokimyasal özellikler incelenirken ilk bakılması gereken fiziksel görünüş ve berraklıktır. Çalışmaların çoğunda görsel olarak formülasyonda parçacık olup olmadığı, siyah ve beyaz arka planda ışık altında incelenmektedir (Rohaľová ve ark., 2024). Partikül veya çözünmeyen madde varlığı ihtimaline karşın beyaz ve siyah arka plan kullanılarak jel sistemlerin berraklığı değerlendirilmiştir. Hazırlandıkları günden itibaren herhangi bir değişiklik gözlenmeyen formülasyonlar saydam ve tekdüze görünümünü korumuştur.

Eklem içine enjeksiyon yöntemi ile kullanılacak formülasyonlar, enjektörle uygulanabilirlik testi ile *in vitro* olarak değerlendirilmektedir. Bu doğrultuda 5 mL'lik enjektöre aktarılıp iğne ile boşaltılan formülasyonlardan %30 Pluronic® F 127 ve HPMC içeren (%0.5 ve %1) kodlarda enjekte edilemediği tespit edilmiştir. Diğer tüm formülasyon oranları için kolaylıkla iğneden akabilen ve jelin uygulamasını kolaylaştıran formülasyonlar görülmüştür. Enjektörle uygulanabilirlik, jelin vücuda bir şırınga ve iğne yardımıyla uygulanması sırasında klinik açıdan önem arz etmektedir. Yapılan çalışmalar, viskozite arttıkça enjektörle uygulanabilirlik süresinin de arttığını göstermektedir. Polimer oranındaki artışa bağlı olarak viskozitedeki artış enjekte edilebilirliği azaltmaktadır (Venkatesh ve ark., 2013).

İn situ jel sistemler için viskozite ve jelleşme kapasitesi olmazsa olmaz iki temel koşuldur. Uygun viskoziteye ve jelleşmeye sahip bir formülasyon ile hem kolay uygulama sağlanıp hem de uygulama sonrası hedef bölgede uzun süreli lokalizasyon elde edilebilmektedir (Gang ve ark., 2024; Qutub ve ark., 2024).

Sıcaklığa duyarlı polimerler çözelti formundan jel formuna sıcaklık artışı ile geçmektedir. Jelleşme sürecinde öncelikle düşük sıcaklıklarda polimer, düşük viskoziteli ve newtonian davranış gösteren misel sıvısı olarak bulunmaktadır. Sıcaklık arttıkça bu misel yapılar ağlara dönüşmekte ve viskozitede keskin bir yükselme görülmektedir. Bu geçiş, konsantrasyona bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Jelleşme gerçekleştikten sonra çözelti, kararlı bir jel matrisi oluşturmakta ve reolojik ölçümlerde kayma hızının kayma gerilimine bağlı değişimi ile akış davranışı psödoplastik modele uygun davranmaktadır (Qutub ve ark., 2024).

Pluronic® F 127 ile *in situ* jel geliştirilen bir çalışmada, 20 ve 37 °C'de viskozite ölçümleri yapılmış olup ölçümlerden 37 °C'de belirlenen eğride jelleşmeye bağlı olarak viskozitede artış gözlenmiştir. Eğrilere göre, numuneler yüksek sıcaklıklarda psödoplastik bir davranış sergilemiş; kayma hızı arttıkça viskozite azalmıştır. 20 °C'de ise viskozite kayma hızıyla çok az değiştiğinden,

numuneler Newtonian bir sıvıya benzer bir davranış göstermiştir (Rohal'ová ve ark., 2024). Çalışmamızda jel formülasyonlarında reolojik davranışlar 25°C ve 37°C olmak üzere iki sıcaklıkta incelenmiştir. Kayma hızına karşı kayma gerilimleri ölçüldüğünde, aynı hıza karşılık 25°C'de kayma gerilimi 0-400 D/cm^2 ölçülürken, 37°C'de 1200-2000 D/cm^2 ölçülmüştür. 25°C'de formülasyonlar sıvı halde çözeltiye benzer şekilde kayma hızı ile kayma gerilimi doğru orantılı değişime uğramakta ve Newton akış göstermektedir. Vücut sıcaklığı seviyesinde yapılan ölçümde kayma hızına bağlı kayma gerilimde bir azalma oluşması psödoplastik akış özelliğini göstermektedir.

Küçüktürkmen ve ark (2017), diklofenak sodyum yüklü hidrojel formülasyonu geliştirmek üzere *in vitro* çalışmalar yapmıştır. Diklofenak sodyumun eklem içinde lokal olarak ilacın salımını daha uzun sürede elde etmek üzere hidrojel formülasyonu geliştirerek, diklofenak sodyumun klasik formülasyonu ile eklem içinde lokal olarak uygulanmasıyla karşılaştırmalı sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar diklofenak sodyum yüklü hidrojel sisteminin intraartiküler uygulamasının 30 güne uzatılmış *in vitro* salım sağladığını göstermiştir. Benzer şekilde, çalışmamızda ibuprofen yüklü *in situ* jel formülasyonunun, hem hızlı başlangıç etkisi hem de uzun süreli analjezik etkinliği ile klasik formülasyona göre üstünlük sağladığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, çalışmamızda 7. güne kadar etkili olan ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun süresi, Küçüktürkmen ve ark (2017)'nın 30 gün süren *in vitro* salım süresinden daha kısa olmasına rağmen, nörolojik ağrı yanıtlarını baskılama açısından etkili olmuştur.

Park ve ark (2014), MIA ile indüklenmiş OA modeli uygulanan sıçanlarda NSAİİ olan piroksikamın intraartiküler enjeksiyonu sonrasında, MIA enjeksiyonuyla indüklenen diz eklemlerindeki şişkinliği incelenmiştir. MIA enjeksiyonunda bir gün sonra piroksikam çözeltisinin intraartiküler ve intramusküler enjeksiyonları ile tedavi edilen diz eklem çaplarının ölçümleri iki gün süreyle yapılmıştır. İntraartiküler enjeksiyon sonrasında %63, intramusküler enjeksiyon sonrasında ise %46 oranında diz eklem çaplarında azalma gözlemlenmiştir. İntraartiküler olarak piroksikamın sistemik biyoyararlanımın intramüsküler piroksikama kıyasla daha düşük olması ve eklemden hızla kaybolmasına rağmen dokuda daha yüksek bir piroksikam konsantrasyonu sağladığı belirtilmiştir. Çalışmamızda da diz eklem ölçümüne bağlı olarak klasik ibuprofen formülasyonunda 3. günde şişliğin azaldığı gözlemlenirken, ibuprofenin *in situ* jel formülasyonunun, 1. günden itibaren hızlı bir etki gösterdiği maksimum konsantrasyona ulaştıktan sonra ilerleyen günlerde şişlikteki düşüş etkisi 7. güne kadar devam etmiştir. Etkin madde olmayan *in situ* jel formülasyon grubunda da 3. günden sonra değerler azalmış ve 7. gün de azalış devam etmektedir. Bu da ibuprofeninin *in situ* jel formülasyonu ile intraartiküler uygulanması sonrası, ibuprofenin klasik formülasyona göre daha uzun süreli etki sağladığını göstermiştir.

Deneysel ağrı modellerinde, ağrı yanıtını ölçmek üzere hayvana uygulanan termal, mekanik ve elektriksel uyarılar içeren noniseptif testler uygulanmaktadır. Çalışmamızda oluşturduğumuz deneysel osteoartrit modelindeki hayvanlarda termal uyarı ile ağrı (nosisepsiyon) oluşturulmuştur. Osteoartritin en yaygın semptomlarından biri olan ağrının, ibuprofen *in situ* jel formülasyon ile klasik

ibuprofen formülasyonun diz eklem boşluğuna intraartiküler uygulanmasıyla, formülasyonların antinosiseptif etkilerini kıyaslamak üzere literatürde sıklıkla kullanılan Hot Plate (HP) ve Tail Flick (TF) ağrı test modellerini kullanmıştır. İbuprofen *in situ* jel formülasyonu ile klasik ibuprofen formülasyonun antinosiseptif etkilerini bilimsel olarak kıyaslamak üzere, uygun *in vivo* deney modellerini kullanarak preklinik incelemeler gerçekleştirilmiştir. Antinosiseptif etkisini karşılaştırmayı amaçladığımız formülasyonların uygulanmasından sonra termal uyarana karşın hayvanın verdiği yanıtın saniye cinsinden zamanın uzaması beklenilmektedir. HP testleri, özellikle sıçanlarda olmak üzere hayvan modellerinde çeşitli formülasyonların antinosiseptif (ağrı kesici) etkilerini değerlendirmek için klinik öncesi çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem, araştırmacıların ısıtılmış bir yüzeye yerleştirilen hayvanın, ağrı tepkisine kadar geçen süreyi ölçmelerine olanak tanımaktadır (Minett ve ark., 2013). TF testinde ise hayvanın kuyruğuna lamba ile belirli bir noktaya uygulanan ısının etkisiyle hayvanın kuyruğunu ısıyı yüksek seviyede hissettiğinde çekmesine kadar geçen süre değerlendirilmektedir. Kuyruğu çekmek süresinin uygulanan analjezik etkinliğine bağlı uzaması beklenmektedir (Tjolsen ve ark., 1989).

Saher ve ark (2022), antiinflamatuvar ve analjezik etki gösterdiği bilenen bitkilerin kombinasyonuyla (poliherbal etanol özüt) ilaç formülasyonu geliştirerek, formülasyonun en iyi terapötik etkisini gösterecek ilaç taşıyıcı sistemini bulmak ve diğer yöntemlerle kıyaslamak üzere Saher ve ark (2022) bir çalışma yapılmıştır. Geliştirilen poliherbal özütün hidrojel formülasyonunun analjezik ve antiinflamatuvar etkinliği HP ve TF testleriyle değerlendirilmiştir. Poliherbal özütün formülasyonlarının antinosiseptif etki gösterdiğini, ancak hidrojel formülasyonlarının topikal uygulanmasının geliştirilmiş ilaç iletimi avantajıyla daha yüksek analjezik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Saher ve ark (2022) çalışmalarında vurgulanan hidrojel formülasyonlarının daha iyi bir ilaç iletimi sağladığına dair bulgular, çalışmamızda da benzer şekilde doğrulanmıştır. Çalışmamızdaki HP testi sonuçlarına göre intraartiküler uygulama sonrası ibuprofenin *in situ* jel formülasyonunun termal uyaranla oluşturulan deneysel ağrıyı (nosisepsiyonu) HP testinde azaltmış, yani antinosiseptif etki göstermiştir. İbuprofenin *in situ* jel formülasyonunun, klasik ibuprofen formülasyona göre antinosiseptif etkisi daha uzun süreli ve yüksek kalmıştır. İbuprofenin *in situ* jel formülasyonunun, ibuprofenin klasik formülasyona göre daha güçlü bir antinosiseptif etki göstermesi, yavaş salınım etkisinin bir göstergesi olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Bu sonuçlar, hidrojel ve *in situ* jel formülasyonlarının tedavi sürekliliği sağlama ve etkinliği artırma konusunda ilaç taşıyıcı sistemler ile hazırlanan formülasyonların, klasik formülasyonlara kıyasla üstünlüklerini desteklemektedir.

Arai ve ark (2022), diklofenak ve hiyalüronat kombinasyonunun diz osteoartriti modelinde analjezik etkinliğini ve artritik değişimleri inceledikleri çalışmada intraartiküler enjeksiyonların osteoartrit tedavisindeki etkinliğini değerlendirirken, analjezik etkilerin süresi ve şiddeti ile ilgili farklı formülasyonların karşılaştırılması üzerine önemli bulgular sunmuştur. Çalışmamızın Hot Plate (HP) sonuçlarına göre, ibuprofen *in situ* jel formülasyonu ile elde edilen yüksek ve istikrarlı

antinosiseptif etki, Arai ve ark (2022) hiyalüronat ve diklofenak kombinasyonunun uzun süreli etkilerini ortaya koyan bulgularına benzer bir şekilde, ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun klasik ibuprofen formülasyonuna göre daha uzun süreli analjezik etkiler sağladığını göstermektedir. Yine çalışmamızdaki Tail Flick (TF) sonuçlarına göre, ibuprofen *in situ* jel formülasyonu kıyasla, klasik formülasyonun etkisinin zamanla azaldığı, ancak ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun 3. gün sonrasında bile yüksek antinosiseptif etkisini koruduğunu göstermektedir. Arai ve ark (2022)' ın çalışmasında da analjezik etkinin zamanla değişmesi ve ilaçların etkinliğinin farklı günlerde gözlemlenmesi çalışmamızdaki bulgularımızla tutarlılık göstermektedir.

Borikar ve ark (2009) *bauhinia racemosa Lam.* gövde kabuğunun alkollü özütünün antipiretik aktivitesini araştırmak üzere sıçanlarda rektal sıcaklığı dijital termometre ile kaydedilmişlerdir. Ekstraktın sıcaklığı düşürme gücü, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, ekstrakt, doza bağlı bir şekilde belirgin antipiretik aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Benzer şekilde, çalışmamızda ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun klasik ibuprofen formülasyonuna kıyasla daha hızlı, kontrollü ve etkili bir antipiretik etki gösterdiği görülmüştür. İbuprofen *in situ* jel formülasyonu, 1. günden itibaren anlamlı bir antipiretik etkinlik sağlamış ve bu etki 7. güne kadar devam etmektedir. Bu araştırmalar, *in situ* jel formülasyonlarının daha uzun süreli ve etkili bir biyoyararlanım sağladığını göstermektedir.

Karan ve ark (1999), NSAİİ bir ilaç olan tenoksikamın sıçanlarda deneysel ağrı eşliğinde etkisini ölçmek üzere Tail Flick testi kullanmıştır. Nazogastrik gavaj ile 3 mg/kg tenoksikam, 1 cc serum fizyolojik ile süspande halinde verilen tenoksikam sıçanların ısıya dayanma süreleri, kontrol grubundaki sıçanların süresine kıyasla daha uzun olduğu ve istatiksel açıdan aralarındaki farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda TF testinde elde edilen bulgulara göre, ibuprofen *in situ* jel formülasyon ve ibuprofen klasik formülasyon arasında 3. günde anlamlı bir fark bulunmaktadır. İbuprofen *in situ* jel formülasyonu, klasik ibuprofen formülasyonuna kıyasla sıçanlarda ağrıyı algılama süresini uzattığı sonucuna varılmıştır.

Miao ve ark., Pluronic F 127 (%20 ve %22) ve ksantan gam (%0.2- %0.6 w/v) konsantrasyonlarını değiştirerek enjeksiyonla uygulanabilen metotreksat içeren *in situ* jel formülasyonu geliştirmişlerdir. Çalışmada formülasyon sıçanlara eklem içi enjekte edilerek gerçekleştirilmiş olup, plazmadaki metotreksat konsantrasyonu, eklem içi enjekte edilen *in situ* jel ilaç salınımını göstermek için bir gösterge olarak kullanılmıştır. Metotreksatın *in situ* jel ile eklem içi uygulanması ile serbest metotreksat ile enjeksiyon yapılan sıçanlardaki maksimum plazma konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Serbest metotreksat ile enjeksiyon yapılan sıçanlardaki maksimum plazma konsantrasyonları, metotreksat *in situ* jel ile enjekte edilen gruplara kıyasla üç kat daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, *in situ* jelin eklem içi ilaç uygulaması yoluyla artrit hastalıklarının tedavisi için kontrollü ilaç salınımı sağlayabilecek etkili bir strateji olabileceğini göstermektedir. Özellikle *in situ* jellerin metotreksatın salınımında etkili olduğu çalışmalar, *in situ* jelin osteoartrit tedavisinde potansiyel bir taşıyıcı sistem olabileceğini desteklemektedir.

Achaerandio-de Nova ve ark (2021) çalışmasında, *staphylococcus aureus'un* intraartiküler enjeksiyonu ile sıçanlarda diz septik artriti modeli oluşturarak, enfeksiyonun şiddetini ve tedaviye yanıtı değerlendirmek için diz eklem çapı ölçümleri yapılmıştır. Çalışmamızda, monosodyum iyodoasetat (MIA) ile deneysel osteoartrit modeli oluşturulmuş ve analjezik etkinin değerlendirilmesinde hot plate ve tail flick testleri kullanılmıştır. Diz eklem çapı ölçümleri de analjezik etkinliğin dolaylı bir göstergesi olarak alınmıştır. Achaerandio-de Nova ve ark (2021)'ın çalışmasında olduğu gibi diz eklem çapı ölçümleri, eklemdeki inflamasyon ve ödemin bir göstergesi olarak kullanılmıştır. Çalışmamızda da benzer olarak diz eklem çapı ölçümleri, ilaç formülasyonlarının etkinliğinin değerlendirilmesinde önemli bir parametre olarak yer almıştır. Elde edilen sonuçlara göre, osteoartrit tedavisinde kullanılan ilaçların inflamasyonu, ödemi azalttığını ve diz eklem çapını iyileştirdiğini göstermektedir. Bu veriler, tedavi yöntemlerinin etkinliğini değerlendirmede diz eklem çapı ölçümünün güvenilir bir parametre olduğunu ortaya koymaktadır.

Storozhylova ve ark (2021), antiinflamatuvar ilaçların eklem içi uygulanması için uyarlanmış yeni bir *in situ* oluşturan hidrojelin geliştirilmesine yönelik yaptıkları çalışmada deneysel akut diz eklemi iltihabı (sinovit) modeli oluşturmuşlardır. Galectin-3 içeren nanaokapsül yüklü iki farklı hidrojel formülasyonunun intraartiküler uygulaması yapılmıştır. Çalışmadaki sıçanların diz çapları (mm), tedaviden önce ve karragenan enjeksiyonundan 2, 4, 6 ve 24 saat sonra dijital kumpas ile ölçülmüştür. 200 μg/kg dozunda Gal-3i NC'ler, karragenan kontrolüne kıyasla 4 saatte iltihabı yaklaşık 3.3 kat azaltmıştır. Elde edilen sonuçlara göre sıçanlara karragenan enjeksiyonu şişen diz eklemleri, *in situ* bir hidrojele yüklenen ve intraartiküler olarak uygulanan NC'ler içinde kapsüllenmiş Gal-3 inhibitörü tarafından diz eklemlerindeki şişlik önemli ölçüde azalmıştır. Çalışmamızda diz eklem çaplarında elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda klasik ibuprofen formasyonuna kıyasla, özellikle ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun 1. günde gözlemlenen hızlı analjezik etkinin, hyaluronik asit içeren in situ jellerin de erken dönemde güçlü bir etki gösterdiğine dair bulgularla benzer olduğu düşünülmektedir. Bu da ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun analjezik etkinliğini artıracak potansiyeli olduğunu ve uzun süreli etkiler sağlayabilecek etkide bir formülasyon olduğunu destekler niteliktedir.

Adães ve ark. (2014) gerçekleştirdikleri çalışmada, ratlarda osteoartrit (OA) modelini kullanarak diz eklemine kollajenaz enjeksiyonuyla OA indüklenmiş ve bu modelde ağrı yanıtları ile ilişkili çeşitli ölçümler yapılmıştır. Sıçanların enjeksiyon uygulanan diz eklemlerinde gelişen ödemleri, diz eklem çapları ölçümü yapılarak değerlendirildiği çalışmada elde edilen bulgular, OA'nın inflamatuvar süreçlerini ve eklem deformasyonlarını simüle ederek, eklemdeki anatomik değişikliklerin ve inflamasyonun önemli bir belirleyici faktör olduğu tedaviye yönelik potansiyel yaklaşımlar üzerinde önemli bilgiler sunmaktadır. Çalışmamızda da deneysel osteoartrit uygulanan gruplarda sağ diz eklem ölçümlerindeki değişiklikler izlenmiş ve elde edilen bulgular, Adães ve ark (2014)'ın çalışmasında elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. Bulgular kıyaslandığında OA'nın ilerlemesi ile birlikte eklemdeki inflamasyonun ve ağrının belirginleştiği görülmektedir.

Klasik ibuprofen formülasyonu daha geç bir analjezik etki gösterirken, İbuprofen *in situ jel* formülasyonun 1. günde hızlı analjezik etki gözlemlenmiş ve bu etki daha uzun süre devam etmiştir.

Literatürde birçok farklı osteoartrit sıçan modeli oluşturulduktan sonra, NSAİİ'ler de dahil olmak üzere farklı ilaç gruplarının farklı dozaj şekilleriyle farklı zaman aralıklarında uygulandığı terapötik yaklaşımlar bulunmaktadır. Çalışmamızda MIA enjeksiyonun uygulandığı günü 0. gün olarak kabul ederek, 24 saat sonra anestezi eşliğinde ilaç formülasyonlarımızı sıçanlara tek doz uygulanmıştır. Literatürde intrartiküler enjeksiyon ile hyaluronik asit, kortikosteroid gibi pek çok farklı ilaç grubunun karşılaştırılmalı olarak uygulandığı çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda elde edilen bulgular, OA grubunda kontrol grubuna kıyasla kıkırdak yüzey bütünlüğünde ciddi bozulmalar, dokuda dikey çatlaklar ve aşınma varlığını açıkça ortaya koymaktadır. Bu durum, literatürde MIA enjeksiyonunun kıkırdak dokusunda neden olduğu yapısal bozukluklara ilişkin önceki çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir. Uluslararası Osteoartrit Derneği (OARSI) skorlamasında yüksek skorların gözlemlenmesi, hastalığın ciddi progresyonuna işaret etmektedir. İlaç uygulanan gruplarda Grup III (Deneysel Osteoartrit+ Klasik İbuprofen Formülasyonu), Grup IV (Deneysel Osteoartrit+ İbuprofen *in situ* jel Formülasyonu) ve Grup V (Deneysel Osteoartrit+ *in situ* Jel Sıvağ Formülasyonu), osteoartrit ilerlemesinin gerilediği ve özellikle Grup IV ve V'te hastalık skorlarının belirgin şekilde düştüğü saptanmıştır. *in situ* jel ibuprofen formülasyonunun, klasik ibuprofen formülasyona kıyasla daha düşük skorlarla sonuçlanması, kontrollü salınım mekanizmasında sağlanan yüksek etkinlik ile OA'nın ilerlemesini durdurma ve doku hasarını sınırlama açısından umut verici olduğu destekler niteliktedir (Koland ve ark., 2022).

Frizziero ve ark (1998), diz osteoartriti olan hastalara beş haftalık bir süre boyunca haftalık olarak 20 mg/2 ml hyaluronik asit (HA) enjeksiyonu uygulamışlardır. Altı ay sonra yapılan mikroartroskopik değerlendirmede, sinovyal inflamasyonda anlamlı bir azalma ve kıkırdak yüzeyinde iyileşme gözlenmiştir. Çalışmamızda klasik ibuprofen formülasyonu grubu, İbuprofen *in situ* jel formülasyonugrubu ve *in situ* jel sıvağ formülasyon gruplarına ait osteoartrit skorlarının düştüğü ve tedavi edilen gruplarda osteoartritin gerilediği gözlemleri, Frizziero ve ark (1998) kıkırdak iyileşmesine dair bulguları ile paralellik göstermektedir. Klasik ibuprofen formülasyonuna kıyasla, İbuprofen *in situ* jel formülasyonu ve *in situ* jel sıvağ formülasyonu ile en düşük osteoartrit skorlarının elde edilmesi, *in situ* jel ibuprofen ve *in situ* jel sıvağ formülasyonlarının osteoartritin önlenmesindeki etkinliğini göstermektedir.

Kim ve ark (2015) çalışmalarında MIA ile indüklenmiş OA modeli uygulanan sıçanlarda intraartiküler uygulanan bupivakainin hidrojelden yavaş salınımına analjezik etkisi incelenmiştir. Bupivakain içeren sıcaklık duyarlı hidrojel ile bupivakain içeren sıcaklık duyarlı hidrojel MIA enjeksiyonundan 14 gün sonra intraartiküler olarak uygulandıktan sonra, bupivakain içeren sıcaklık duyarlı hidrojelin tek dozda uygulanmasıyla 3 güne yakın bir süre analjezik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada, bupivakain içeren sıcaklığa duyarlı jel formülasyonlarının, osteoartrit ağrısını tedavi etmek için etkili olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde, çalışmamızda ibuprofen *in situ* jel

formülasyonunun da, klasik ibuprofen formülasyonlarına kıyasla daha uzun süreli ve yüksek analjezik etki sağladığı gözlemlenmiştir. Her iki çalışmada da, intraartiküler enjeksiyonların ağrı tedavisindeki etkinliği vurgulanmış ve sıcaklığa duyarlı sistemlerin, ilaçların salımını kontrol ederek ağrı yönetimini sürdürülebilir hale getirdiği gösterilmiştir. Bu bulgular, sıcaklığa duyarlı jel formülasyonlarının, osteoartrit gibi kronik ağrılarda etkili bir analjezik tedavi alternatifi sunduğunu ortaya koymaktadır.

Li ve ark (2020) ise yaptıkları çalışmada kolajenaz II ile indüklenen sıçan diz OA modelinde geleneksel sodyum hiyaluronat formülasyonu ile flurbiprofen içeren sıcaklığa duyarlı jel formülasyonunun 72 saatlik aralıklarla 7 kez intraartiküler enjeksiyonuyla ortaya çıkan terapötik etkilerini karşılaştırmışlardır. Flurbiprofen sıcaklığa duyarlı jelin intraartiküler uygulamasının analjezik süreyi etkili bir şekilde uzattığı, inflamatuvar yanıtı da azalttığı sonucu elde edilmiştir. Geleneksel flurbiprofen grubun ağrı skorlarının flurbiprofen sıcaklığa duyarlı jel grubunun ağrı skorlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Bu da sıcaklığa duyarlı jelin flurbiprofenin sürekli salınımını intraartiküler boşlukta sağlayarak antiinflamatuvar ve analjezik etkilerini sürekli olarak göstermesine katkı sunması ile açıklanabilmektedir. Çalışmamızda intraartiküler ibuprofen *in situ* jel formülasyonu, ağrı yönetimi konusunda etkili olmasının yanı sıra, daha uzun süreli analjezik etki sağlamıştır. Özellikle Hot Plate ve Tail Flick testlerinde, ibuprofenin salınımını kontrol eden *in situ* jel formülasyonunun klasik ibuprofen formülasyonlarına göre daha uzun süreli etki gösterdiği ve tedavi sürecinde ağrıların daha etkili bir şekilde yönetildiği görülmüştür. Çalışmamızda elde edilen sürekli salım yapan formülasyonların, sıvı ilaçların hızla yok olmasını engellediğini ve analjeziklerin intraartiküler tedaviye olan etkisini arttırdığına dair bulgular, Li ve ark (2020)'nın çalışmasındaki sonuçlarla uyumludur. Li ve ark (2020)'nın bulgularına benzer şekilde çalışmamızdaki bulgular, *in situ* jel ilaç taşıyıcı sistemlerinin osteoartrit tedavisinde daha etkin ve uzun süreli tedavi sunabileceğini göstermektedir.

Mok ve ark (2018), quercetinin düşük biyoyararlanımını iyileştirmek üzere quercetini sıcaklığa duyarlı hidrojele yükleyerek OA sıçan modelinde geliştirdikleri intraartiküler formülasyonun etkisinin, klasik formülasyonla etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda Osteoartrit Araştırma Derneği Uluslararası skoru, quercetin hidrojel verilen sıçanların skorunun, kontrol grubundan önemli ölçüde düşük olarak çıkmıştır. Çalışmamızda de benzer şekilde ibuprofen yüklü *in situ* jelin osteoartrit skorları düşük olup, ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun osteoartritin tedavisinde etkin olduğu sonucu ortaya çıkmıştır.

Gomes ve ark (2020), MIA ile indüklenen sıçanların diz eklemlerindeki deneysel OA modelinde intraartiküler olarak farklı dozlarda uygulanan deksmedetomidinin analjezik ve antiinflamatuvar etkilerini değerlendirmiştir. MIA ile oluşturulan deneysel osteoartrit modeli sonrasında sinovyal membranda anlamlı şekilde değişiklik meydana gelmiştir. Deksamedetomidin uygulamasından sonra OA sıçanlarında ağrı davranışında bir iyileşme sağlarken, sinovyal zarda antiinflamatuvar bir etki göstermemiştir. Çalışmamızda sinovit patolojisi incelendiğinde ibuprofen

in situ jelin sinovit belirtilerinde ve sinovit görülen denek sayısında azalma meydana getirdiği tespit edilmiştir. Bu durum eklem boşluğuna uygulanan ilaçların terapötik etkisini geliştirmek üzere farklı türdeki ilaç taşıyıcı sistemlerinin intraartiküler uygulama için formülasyon çalışmalarının yapılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda gerçekleştirilen histopataolojik incelemeye göre deneysel osteoartrit sonrasında ibuprofen yüklü *in situ* jel formülasyonu uygulanan gruplarda, eklem yüzeyindeki iyileşmenin, klasik ibuprofen formülasyonu uygulanan gruplara göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, bu tez çalışmasında hazırlanan yeni intraartükler *in situ* jel formülasyonun osteoartrit tedavisinde daha az doz aralığı ile hedeflenen bölgede daha uzun salımlı bir ilaç dağıtım sistemi olarak kullanılabileceğini ve bu sayede biyoyararlanımını arttırarak, NSAİİ'lerin kullanımında yan etkilerin en aza indirginmesine olanak sağlayabileceğini göstermektedir.

Yukarıda ifade edilen diğer analjezik özellikteki ilaçların klasik formülasyon veya ilaç taşıyıcı sistemlerle geliştirilen formülasyonlar ile birlikte uygulandığı dozaj formlarına bakıldığında, OA üzerindeki etkisi bakımından ibuprofenin *in situ* jel formülasyonunun intraartiküler olarak uygulanması hem biyoyararlanım hem de uzatılmış salım bakımından önemlidir. İbuprofenin piyasada enjekte edilebilen *in situ* jel formülasyonu ile geliştirilmiş parenteral bir formu mevcutta bulunmamaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında enjekte edilebilen ibuprofenin *in situ* jel formülasyonunun hazırlanması amaçlanmıştır.

Tez çalışmamızda yapılan *in vitro* ve *in vivo* deneylere ait bulgular sonrasında elde edilen analizlerle intraartiküler uygulanan ibuprofenin *in situ* jel formülasyonunun, yine intraartiküler uygulanan klasik formülasyona kıyasla analjezik etkiyi daha kısa sürede ve daha uzun bir ilaç salımı profili ile göstermektedir. Dolayısıyla elde edilecek verilerle enjekte edilebilir dozaj formunda ibuprofenin *in situ* jel formülasyonunun üzerinde daha detaylı yapılacak deneysel ve klinik çalışmalar ile kullanımına yönelik etkiler ortaya çıkarılabilecektir.

5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İbuprofen içeren *in situ* jel formülasyonun hazırlanıp karakterizasyonunun yapıldığı bu çalışmada, *in vivo* analjezik etkinliği klasik ibuprofen içeren formülasyona karşı test edildi ve histopatolojik incelemeler gerçekleştirildi.

Kıyaslanan formülasyonlar etkin madde miktarı bakımından aynı olacak şekilde ayarlamıştır. *İn situ* jel ilaç taşıyıcı sistemler üstünlüklerinden faydalanarak osteoartritte kullanılmak üzere, klasik çözeltilere göre uzatılmış salım sağlayan bir formülasyon geliştirilmiştir. Ön formülasyon çalışmalarında vücut sıcaklığında jelleşme gösteren bir polimer konsantrasyonu seçilmiş ve karakterizasyon çalışmaları bu optimum formülasyon üzerinden devam etmiştir. Karakterizasyon için berraklık testi, pH analizi, enjeksiyon yapılabilirlik testi ve reolojik ölçümler yapılmıştır. Formülasyonun intraartiküler uygulama için uygun olduğu sonuçlarına varılmıştır. Çalışmada analjezik etkinliği belirlemek için *in vivo* Hot Plate Testi ve Tail Flick Testi kullanılmıştır. Ayrıca vücut sıcaklığı ve diz çapı ölçümleriyle sonuçlar desteklenmiştir.

Buna göre osteoartit tedavisinde ibuprofenin *in situ* jel formülasyonunun klasik ibuprofen formülasyonuna kıyasla analjezik etkisinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara dayanarak, hazırladığımız yeni formülasyonun etkilerinin daha ileri çalışmalarla daha ayrıntılı olarak incelenmeye değer olduğu bulunmuştur. Elde edilen bulgulara göre intraartiküler dozaj şeklinde hazırlanan ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun analjezik ilaç geliştirme çalışmaları için iyi bir aday olduğu söylenebilir.

Histopatolojik çalışmaları için Hematoksilen-Eozin Boyama ve Saffarin O- Fast Green Boyama yöntemleri kullanılarak diz eklemlerinin genel histoloji görünümleri belirlendi. İbuprofen *in situ* jel formülasyonunun intraartiküler uygulamasının histopatolojik incelemelerinde elde edilen sonuçlara göre kıkırdak dejenerasyonunda azalma ve sinovitte gerileme tespit edilmiştir. Farmakolojik aktivite testlerine göre de intraartiküler uygulanan ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun, klasik ibuprofen formülasyonuna kıyasla analjezik etkide üstünlüğü gözlemlenmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, ibuprofen *in situ* jel formülasyonların intraartiküler uygulama ile osteoartritte ağrı ve enflamasyonun tedavisinde kullanımının hasta uyuncu ve terapötik etkinlik açısından umut vaat edici olduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmamız kronik bir hastalık olan osteoartritin tedavisinde *in situ* jel ilaç taşıyıcı sistemi ile geliştirilen formülasyonların klinik uygulanabilirlik için etkili ve güvenli olduğuna dair umut vaat etmektedir. Çalışmanın sonraki aşalarında formülasyonun daha da geliştirilmesi, farklı karakterizasyon ve *in vitro* salım çalışmalarının yapılması düşünülmektedir. Ayrıca *in vivo* analjezik etki çalışmaları antiinflamatuar etkinlikle doğrulanabilmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda intraartiküler dozaj formundaki ibuprofen *in situ* jel formülasyonunun kullanımının daha uzun etkilerini ve daha farklı dozlardaki etkilerinin incelenebileceği çalışmalar yapılabilir.

KAYNAKLAR

Abdiche, Y. N., Malashock, D. S., Pons J., 2009. Probing the Binding Mechanism and Affinity of Tanezumab, A Recombinant Humanized Anti- NGF Monoclonal Antibody, Using A Repertoire of Biosensors. Protein Sci., 17: 1326-1335.

Abhishek, A., Doherty, M., 2013. Diagnosis and clinical presentation of osteoarthritis. Rheumatic diseases clinics of North America, 39(1): 45-66.

Achaerandio-de Nova, A., Gómez-Juárez Sango, M., Escudero-Jiménez, Á., Losa-Palacios, S., Berenguer-Romero, M. D., & Gerónimo-Pardo, M., 2021. Development of An Experimental Model of Septic Knee Arthritis in Rats Through Intraarticular Inoculation of Staphylococcus aureus. Laboratory animals, 55(3): 270-280.

Adams, S. S., McCullough, K. F., Nicholson, J.S., 1969. The Pharmacological Properties of Ibuprofen, An Anti-inflammatory, Analgesic and Antipyretic Agent. Arch Int Pharmacodyn Ther., 178(1): 115-29.

Adepu, S., Ramakrishna, S., 2021. Controlled Drug Delivery Systems: Current Status and Future Directions. Molecules, 26(19): 5905.

Adães, S., Mendonça, M., Santos, T. N., Castro-Lopes, J. M., Ferreira-Gomes, J., Neto, F. L., 2014. Intra-articular injection of collagenase in the knee of rats as an alternative model to study nociception associated with osteoarthritis. *Arthritis research & therapy*, *16*(1): R10.

Agarwal, K. I., Mehta, N., Namdev, A., Gupt,a A. K., 2011. In-situ Gel Formation for Ocular Drug Delivery System An Overview. Asian J Biomed Pharm Sci., 1:1-7.

Ahmad, H., Chohan, T., Mudassir, J., Mehta, P., Yousef, B., Zaman, A., Ali, A., Qutachi, O., Chang, M., Fatouros, D., Arshad, S., Ahmad, Z., 2022. Evaluation of Sustained-release In-situ Injectable Gels, Containing Naproxen Sodium, Using i*n vitro*, In Silico and i*n vivo* Analysis. International Journal of Pharmaceutics, 616. 121512. 10.1016/j.ijpharm.2022.121512.

Akdis, M., Burgler, S., Crameri, R., Eiwegger, T., Fujita, H., Gomez, E., Klunker, S., Meyer, N., O'Mahony, L., Palomares, O., 2011. Interleukins, From 1 to 37, and Interferon-γ: Receptors, Functions, and Roles in Diseases. J. Allergy Clin. Immunol. 127: 701–721.

Akhter, M., Khanum, H., 2021, Etiology and Risk Factors for Developing Knee Osteoarthritis. Biomed J Sci & Tech Re., 34(3).

Al Khateb, K., Ozhmukhametova, E. K., Mussin, M. N., Seilkhanov, S. K., Rakhypbekov, T. K., Lau, W. M., Khutoryanskiy, V. V., 2016. In situ gelling systems based on Pluronic F127/Pluronic F68 formulations for ocular drug delivery. International Journal of Pharmaceutics, 502(1-2), 70-79.

Alhamo, M. Aly, H. Weheida, 2019. Knee Osteoarthritis Evidence Based Guidelines Management. ASNJ., 21(2).

Allen, A. A., Caldwell, G. L., Fu, F. H., 1995. Anatomy and Biomechanics of the Meniscus. Operative Techniques in Orthopaedics, 5:1, pp 2-9.

Allen, K. D., Adams S. B., Setton L. A., 2009. Evaluating Intra-articular Drug Delivery for the Treatment of Osteoarthritis in a Rat model, Tissue Engineering Part B, Reviews, 16(1):81-92.

Allen, K. D., Golightly, Y. M., 2015. State of The Evidence. Curr Opin Rheumatol, 27(3):276-83.

Altman, R. D., 2010. Early Management of Osteoarthritis. Am J Manag Care., 16: S41-7.

Altman, R. D., 2011. Osteoarthritis in the elderly population. Geriatric Rheumatology: A Comprehensive Approach. New York, NY: Springer Science+Business Media, LLC, 187-196.

Altman, R., Asch, E., Bloch, D., Bole, G., Borenstein, D., Brandt, K., Christy, W., Cooke, T. D., Greenwald, R., Hochberg, M., 1986. Development of Criteria for The Classification and Reporting of Osteoarthritis. Classification of Osteoarthritis of The Knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. Arthritis Rheum. 29: 1039-1049.

Anderson, B. J., 2008. Paracetamol (Acetaminophen): Mechanisms of Action. Pediatric Anesthesia,18: 915-21.

Andresen, T. L., Thompson, D. H., Kaasgaard, T., 2010. Enzyme-Triggered Nanomedicine: Drug Release Strategies in Cancer Therapy (Invited Review) Mol. Membr. Biol., 27: 353-363.

Anshul, S., and Renu, S., 2015. A review On Levofloxacin In Situ Gel Formulation. Asian J Pharm Clin Res., 8: 37-41.

Anonim 1: 2024. https://www.teb.org.tr/versions_latest/767/19-aral%C4%B1k-t%C3%BCm-liste [Son erişim tarihi: 10.05.2024].

Achaerandio-de Nova, A., Gómez-Juárez Sango, M., Escudero-Jiménez, Á., Losa-Palacios, S., Berenguer-Romero, M. D., & Gerónimo-Pardo, M., 2021. Development of an experimental model of septic knee arthritis in rats through intra-articular inoculation of *Staphylococcus aureus*. *Laboratory animals*, *55*(3), 270–280.

Arden, N., Blanco, F. J., Bruyére, O., Cooper, C. Guermazi, A., Hayashi, D., Hunter, D., Javaid, K. M., Rannou, F., Reginster,J., Roemer, F.W., 2018. Atlas of Osteoarthritis. Springer Healthcare Ltd, London, 110s.

Arden, N., Nevitt, M. C., 2006. Osteoarthritis: Epidemiology. Best Pract Res Clin Rheumatol., 20: 3-25.

Ayesha, M., Muhammad, T., Shaukat, A., Iram, L., Aamir, A., Muhammad, S., 2022. Inflammatory Process and Role of Cytokines in Inflammation: An Overview. Punjab University Journal of Zoology. 36(2): 235-250.

Ayral, X., Dougados M., Listrat,V., Bonvarlet, J. P., Simonnet, J., Amor, B., 1996. Arthoscopic Evaluation of Chondropathy in Osteoarthritis of the Knee. J Rheumatol., 23(4):698-706.

Balkaya, H., 2007. Ratlarda Termal Ağrı Modelinde İntratekal Ropivakainin Analjezik Etkilerine İntratekal Midazolamin Etkisi. Yükseklisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir, 75s.

Bannon, A.W., Malmberg, A.B., 2007. Models of Nociception: Hot-plate, Tail-flick, and Formalin Tests in rodents. Curr Protoc Neurosci., 8:9.

Bannwarth, B., 2004. Gastrointestinal Safety of Paracetamol: is There any Cause for Concern? Expert Opin Drug Saf., 3: 269-72.

Bashir, R., Majeed, A., Ali, T., Farooq, S., Khan, N. A., 2019. Floating Oral In-Situ Gel: A Review. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 9(2) :442-448.

Bazigha, A. R., Eman, A., Sahar, F., Heyam, A., Saeed, K., 2010. Development and Evaluation of Ibuprofen Transdermal Gel Formulations. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 9: 355-363.

Benito, M. J., Veale, D. J., FitzGerald, O., Van Den Berg, W. B., Bresnihan, B., 2005. Synovial Tissue Inflammation in Early and Late Osteoarthritis. Ann Rheum Dis. 64(9): 1263-7.

Bennike, T., Ayturk, U., Haslauer C. M., Froehlich, J. W., Proffen, B. L., Barnaby, O., Birkelund S., Murray M. M., Warman, M, L., Stensballe, A., Steen H., 2014. A Normative Study of the Synovial Fluid Proteome from Healthy Porcine Knee Joints. J. Proteome Res., 13(10): 4377-4387.

Berenbaum, F., Eymard, F. Houard, X., 2013. Osteoarthritis, Inflammation and Obesity. Curr. Opin. Rheumatol., 25:114–118.

Berger, R.A., Rubash H. E., Seel, M. J., Thompon, W. H., Crossett, L. S.,1993. Determining the rotational alignment of the femoral component in total knee arthroplasty using the epicondylar axis. Clin Orthop.Relat Res., (286): 40-7.

Berruto, M., Murgo, A., Ferrua, P., Uboldi, F., Tradati, D., Pasqualotto, S., Marelli ,B. 2016. Synovitis of the knee. In: *Arthroscopy*. Berlin, Heidelberg, Springer, 373–386s.

Bhosale, A. M., Richardson, J. B., 2008. British Medical Bulletin, 87(1):77–95.

Bhowmik, D., Gopinath, H., Kumar, B. P., Duraivel, S., Kumar. K. P. S., 2012. Controlled Release Drug Delivery Systems. Pharma Innovation, 1(10):24-32.

Bijlsma, J. W. J., Berenbaum, F., Lafeber, F.P.J.G. 2011. Osteoarthritis: An Update with Relevance for Clinical Practice. Lancet, 377: 2115-2126.

Bilge, A., Ulusoy, R. G., Üstebay, S., Öztürk, Ö. (2018). Osteoartrit. Kafkas Journal of Medical Sciences, 8(1), 133-142.

Bindu S., Mazumder S., Bandyopadhyay, U., 2020. Antiinflammatory Drugs (NSAIDS) and Organ Damage: A Current Perspective. Biochem Pharmacol., 180 (2020) 114147.

Blaney Davidson, E. N., Van der Kraan, P. M., Van den Berg, W. B., 2007. TGF-β and Osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage, 15: 597–604.

Blom, A. B., Van Den Berg, W. B., 2007. The Synovium and Its Role in Osteoarthritis. In: Bronner, F., Farach-Carson, M.C. (eds) Bone and Osteoarthritis. Topics in Bone Biology, vol 4. Springer, London.

Bookman, A. A., Williams, K. S., Shainhouse, J. Z., 2004. Effect of a Topical Diclofenac Solution for Relieving Symptoms of Primary Osteoarthritis of The Knee: A Randomized Controlled Trial. CMAJ., 171: 333–8.

Boppana, S. H., Kutikuppala, L. V. S., Sharma, S., C, M., Rangari, G., Misra, A. K., Kandi, V., Mishra, S., Singh, P. K., Rabaan, A. A., Mohapatra, R. K., Kudrat-E-Zahan, M., 2024. Current Approaches in Smart Nano-inspired Drug Delivery: A Narrative Review. Health Science Reports, 7(4):e2065. https://doi.org/10.1002/hsr2.2065.

Borikar, V.I., Jangde, C.R , Philip, P., Rekhe, D.S., Atole., S.K., 2009. Study of Antipyretic Activity of Bauhinia Racemosa Lam in Rats. Veterinary World, 2(6): 217-218.

Brannan S. R., Jerrard D.A., 2006. Synovial Fluid Analysis. J. Emerg Med., 30(3):331-9.

Brismee, J. M., Paige, R. L., Chyu, M. C., 2007. Group and Home- based Tai Chi in Elderly Subjects with Knee Osteoarthritis: A Randomized Controlled Trial. Clin. Rehabil., 21(2): 99-111.

Bruyère, O., Cooper, C., Pelletier, J. P., Maheu, E., Rannou, F., Branco, J., Luisa Brandi, M., Kanis, J. A., Altman, R. D., Hochberg, M.C., Martel-Pelletier J., Reginster J. Y., 2016. A Consensus Statement on the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) Algorithm for the Management of Knee Osteoarthritis-From Evidence-Based Medicine to the Real-Life Setting. Semin. Arthritis Rheum., 45(4): S3–S11.

Bushra, R., Aslam, N., 2010. An Overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen. Oman Med J.,25(3): 155-1661.

Cameron, M. L., Fu, F. H., Paessler, H. H., Schneider, M., Evans, C. H. 1994. Synovial Fluid 25 Cytokine Concentrations as Possible Prognostic Indicators in The ACL-deficient Knee. Knee Surg Sports Traumatol. Arthrosc. 2(1): 38–44.

Çepni Kütahya E., Oç, B., Ugurluoglu, C., Duman, I., Arun, O., 2019. The Effects of Intra-articular Injection of Ibuprofen on Knee Joint Cartilage and Synovium in rats. Acta Orthop Traumatol Turc., 53(4):292-296.

Chamundeeswari, M., Jeslin, J., Verma, M.L., 2019. Nanocarriers for Drug Delivery Applications. Environ. Chem. Lett., 17: 849-865.

Chang, G., Li, C., Lu, W., & Ding, J., 2010. N-Boc-Histidine-Capped PLGA-PEG-PLGA as a Smart Polymer for Drug Delivery Sensitive to Tumor Extracellular pH. Macromolecular Bioscience, 10(10): 1248-1256.

Chauhan, S.B., 2024. Current Status of Smart Nanoparticles in Drug Delivery. In: Bhardwaj, A.K., Srivastav, A.L., Rai, S. (eds) Biogenic Wastes-Enabled Nanomaterial Synthesis. Springer, Cham.

Chen, D., Shen, J., Zhao, W., Wang, T., Han, L., Hamilton, J. L., Im HJ. 2017. Osteoarthritis: Toward A Comprehensive Understanding of Pathological Mechanism. Bone Res. 17(5): 16044.

Chen, H., Chang, X., Du, D., LI, J., Xu, H., Yang, X., 2006. Microemulsion-based Hydrogel Formulation of Ibuprofen for Topical Delivery Int J Pharm., 315(1-2): 52-8.

Chen, H., Zeng, X., Tham, H.P., Phua, S.Z.F., Cheng, W., Zeng ,W., Shi, H., Mei, L., Zhao, Y., 2019. NIR-Light-Activated Combination Therapy with a Precise Ratio of Photosensitizer and Prodrug Using a Host-Guest Strategy. Angew. Chem., 131: 7723-7728.

Chen, T., Weng, W., Liu, Y., Aspera-Werz, R. H., Nüssler, A. K., Xu, J., 2021. Update on Novel Non-Operative Treatment for Osteoarthritis: Current Status and Future Trends. Front Pharmacol., 12: 755230.

Chhabra, A., Elliott, C. C., Miller, M. D., 2001. Normal Anatomy and Biomechanics of The Knee. Sports Medicine and Arthros-copy Review, 9(3): 166–177.

Chou, R., McDonagh, M., Nakamoto E., 2011. Analgesics for osteoarthritis: an update of the 2006 comparative effectiveness review, Agency Fo Healthc. Res. Qual.Comparative Effectiveness Reviews, No. 38.

Cokelaere, S. M., Plomp, S. G. M., de Boef, E., de Leeuw, M., Bool, S., Van de Lest, C. H. A.,Van Weeren, P. R., Korthagen, N. M., 2018. Sustained Intra-articular Release of Celecoxib in An Equine Repeated LPS Synovitis model. Eur. J. Pharm. Biopharm, 128: 327-336.

Collins ,D. H., 1939. The pathology of Osteoarthritis. Br J Rheumatol., 1: 248-262.

Collins, D. H., 1949. Osteoarthritis. The Pathology of Articular and Spinal Disease. Edward Arnold & Co, London.

D'Amour, F., Smith D., 1941. A Method for Determining Loss of Pain Sensation. J Pharmacol Exp Ther., 72: 74-79.

Davies, L. C., Blain, E. J., Gilbert, S. J., Caterson, B., Duance, V. C., 2008. The Potential of IGF-1 and TGFbeta1 for Promoting 'Adult' Articular Cartilage Repair: An i*n vitro* Study. Tissue Eng Part A., 14: 1251-1261.

Day, C. M., Barclay, T. G., Song, Y., & Garg, S., 2018. Swelling-controlled Drug Delivery Systems. In Swelling-controlled Drug Delivery Systems. Royal Society of Chemistry, 10.1039/9781788013536-00232.

Das, T., Prakash, V. M., Math, P. K. T., 2019. Injectable In Situ Gel of Methotrexate for Rheumatoid Arthritis: Development, i*n vitro* and *in vivo* Evaluation. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 9. 40-48.

Denk, F., Bennett D. L., McMahon, S. B., 2017. Nerve Growth Factor and Pain Mechanisms. Annu Rev Neurosci., 40: 307-325.

Derry, S., Conaghan, P., Da Silva, J. A., Wiffen, P. J., Moore, R. A., 2016. Topical NSAIDs for Chronic Musculoskeletal Pain in Adults. Cochrane Database Syst Rev., 22: 4(4).

Devasani, S. R., Dev, A., Rathod, S., 2016. Deshmukh G. An Overview of In Situ Gelling Systems. Pharmaceut Biolog Evaluat., 3(1): 60-9.

Dhage, A., Mulla, Z., Kulkarni, A., Borge, A., Ghosalkar, M., 2022. In-Situ Gel-New Formulation Trend. International Journal of Scientific Research in Science and Technolog, 665-675.

Di Laura, Frattura, G., Filardo, G., Giunchi, D., Fusco, A., Zaffagnini, S., Candrian, C., 2018. Risk of Falls in Patients with Knee Osteoarthritis Undergoing Total Knee Arthroplasty: A Systematic Review and Best Evidence Synthesis. J Orthop., 5(3): 903-908.

Dickson, M. C., Martin, J. S., Cousins, F. M., Kulkarni, A. B., Karlsson, S., Akhurst, R. J., 1995. Defective Haematopoiesis and Vasculogenesis in Transforming Growth Factor-beta 1 Knock Out Mice. Development, 121: 1845-1854.

Dieppe P., 2008. Osteoarthritis. A. Clinical features In: Klippel, J. H., Stone, J. H., Crofford, L. J., White, P. H., Primer on the Rheumatic Diseases. New York, NY: Springer Helathcare, Tarporley, 224-228.

Dimitroulas, T., Duarte, R. V., Behura, A., Kitas, G. D., Raphael, J. H., 2014. Neuropathic pain in osteoarthritis: a review of pathophysiological mechanisms and implications for treatment. Seminars in arthritis and rheumatism, 44(2): 145–154.

Dobson, G.P., Letson H. L., Grant A., McEwen P., Hazratwala, K., Wilkinson, M., Morris, J. L., 2018. Defining the Osteoarthritis Patient: Back to The Future. Osteoarthritis and Cartilage, *26*(8): 1003–1007.

Eckhoff, D. G., 2005. Functional Anatomy of the Knee. In: Bellemans, J., Ries, M.D., Victor, J.M. (eds) Total Knee Arthroplasty. Springer, Berlin, Heidelberg.https://doi.org/10.1007/3-540-27658-0_3

Engh, G. A., 2003. The difficult knee: severe varus and valgus. Clin Orthopaedics and Related Research, .416: 58-63.

Enohumah, K. O**.,** Imarengiaye, C. O., 2008. Pain in Osteoartjritis: A Review of Literature. SAJAA, 14(3): 29-33.

Er, B.M., Kocamanoglu, I.S., Bozkurt, A., Bilge, S., Cetinoglu, E.C., 2016. Evaluation of Postoperative Anti-nociceptive Efficacy of Intrathecal Dexketoprofen in Rats. Balkan Med J., 33: 245-51.

Eriksen, P., Bartels, E. M., Altman, R. D., 2014. Risk of Bias and Brand Explain the Observed Inconsistency in Trials on Glucosamine for Symptomatic Relief of Osteoarthritis: A Meta-analysis of Placebo-controlled Trials. Arthritis Care Res (Hoboken), 66(12): 1844-1855.

Ettinger, W. H., Burns, R., Messier, S. P., 1997. A Randomized Trial Comparing Aerobic Exercise and Resistance Exercise to a Health Education Program On Physical Disability in Older People with Knee Osteoarthritis: The Fitness and Arthritis in Seniors Trial (FAST). JAMA.,227(1): 25–31.

Ezike, T. C., Okpala, U. S., Onoja, U. L., Nwike, C. P., Ezeako, E. C., Okpara, O. J., Okoroafor, C. C., Eze, S. C., Kalu, O. L., Odoh, E. C., Nwadike, U. G., Ogbodo, J. O., Umeh, B. U., Ossai, E. C., Nwanguma, B. C., 2023. Advances in Drug Delivery Systems, Challenges and Future Directions. Heliyon. 24;9(6): e17488.

Farinelli, L., Riccio, M., Gigante, A., De Francesco, F., 2024. Pain Management Strategies in Osteoarthritis. Biomedicines, 12(4): 805.

Filippa, M., Gasull, E., 2013. Ibuprofen Solubility in Pure Organic Solvents and Aqueous Mixtures of Cosolvents: Interactions and Thermodynamic Parameters Relating to the Solvation Process. Fluid Phase Equilibria., 354. 185-190.

Firoz, F., Tafika, Y., Asser, Y., Thaer, R. M., Sammour, R. M. F., 2024. Thermo-activated in situ rectal gel preparation for Ibuprofen using eutectic mixture. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 200: 106843.

Flandry, F., Hommel, G., 2011. Normal Anatomy and Biomechanics of the Knee Sports .Med Arthrosc, 19:82–92.

Fonseca-Santos, B., Chorilli, M., 2018. An Overview of Polymeric Dosage Forms in Buccal Drug Delivery: State of Art, Design of Formulations and Their *in vivo* Performance Evaluation. Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl., 86: 129-43.

Fox, A. JS., Bedi, A., Rodeo, S. A., 2009. The Basic Science of Articular Cartilage: Structure, Composition, and Function. Sports Health, 1(6):461-8.

Fox, B. A., Stephens, M. M., 2007. Glucosamine Hydrochloride For the Teatment of Osteoarthritis Symptoms. Clinical Interventions in Aging., 2(4): 599-604.

Francomano, C. A., Liberfarb, R. M., Hirose, T., Maumenee, I.H., Streeten, E. A., Meyers, D. A., Pyeritz, R. E., 1987. The Stickler syndrome: evidence for close linkage to the structural gene for type II collagen, Genomics, 1: 293-296.

Frizziero, L., Govoni, E., Bacchini, P., 1998. Intra-articular hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis of the knee: clinical and morphological study. Clinical and experimental rheumatology, 16(4): 441–449.

Fu, W., Hettinghouse, A., Chen, Y., Hu, W., Ding, X., Chen, M., Ding, Y., Mundra, J., Song, W., Liu, R., Yi, Y. S., Attur, M., Samuels, J., Strauss, E., Leucht, P., Schwarzkopf, R., Liu, C. J., 2021. 14-3-3 Epsilon is an Intracellular component of TNFR2 Receptor Complex and Its Activation Protects Against Osteoarthritis. Ann. Rheum. Dis., 80, 1615-1627.

Fu, Z., Liu, P., Yang, D., Wang, F., Yuan, L., Lin, Z., Jiang, J., 2012. Interleukin-18-induced inflammatory responses in synoviocytes and chondrocytes from osteoarthritic patients. International Journal of Molecular Medicine, 30, 805-810. https://doi.org/10.3892/ijmm.2012.1073

Gallelli, L., Galasso, O., Urzino, A., Saccà, S., Falcone, D., Palleria, C., Longo, P., Corigliano, A., Terracciano, R., Savino, R., Gasparini, G., Sarro, G., Southworth, S., 2012. Characteristics and Clinical Implications of the Pharmacokinetic Profile of Ibuprofen in Patients with Knee Osteoarthritis. Clinical drug investigation, 32(12): 827–833.

Ganji, F., Vasheghani-Farahani, E., 2009. Hydrogels in Controlled Drug-delivery Systems. Iran Polym J., 18(1): 64-83.

Garfinkel, M. S, Schumacher, H. R., Husain, A., 1994. Evaluation of a Yoga Based Regimen for Treatment of Osteoarthritis of The Hands. J Rheumatol., 21(12): 2341-3.

Garg, A., Agrawal, R., Chauhan, C. S., Deshmukh, R., 2024. In-situ gel: a smart carrier for drug delivery. International Journal of Pharmaceutics, 123819.

Garstang, S.V., Stitik, T. P., 2006. Osteoarthritis: epidemiology, risk factors, and pathophysiology. Am J Phys Med Rehabil. 2006;85(11 Suppl):S2-11; quiz S12-14.

Glasson, S. S., 2007. *in vivo* Osteoarthritis Target Validation Utilizing Genetically-Modified Mice. Curr. Drug Targets. 8(2): 367–376.

Gobezie, R., Koho, A., Krastins, B., Sarracino, D. A., Thornhişş, T. S., Chase, M., Millet, P. J., Lee, D. M., 2007. High Abundance Synovial Fluid Proteome: Distinct Profiles in Health and Osteoarthritis. Arthritis Res. Ther., 9(2): R36.

Goldring, M., 1970. Cytokines, Growth Factors, and Bone-Derived Factors in Cartilage. Revista Medica de Chile, 124(2): 248-257.

Goldring, M.B., 2012. Articular Cartilage Degradation in Osteoarthritis. HSS J. 8(1):7–9.

Goldring, S. R., Goldring, M. B., 2016. Changes in the Osteochondral Unit During Osteoarthritis: Structure, Function and Cartilage-Bone Crosstalk. Nature reviews. Rheumatology, 12(11): 632-44.

Gomes, L.M. R., Czeczko, N. G., Araújo, R. L. T. M., Cartagenes M. S. S., Barbosa, N. J. O, Garcia, J. B. S., 2021. Effect of Intra-articular Dexmedetomidine on Experimental Osteoarthritis in Rats. PLos One, 16(1): e0245194. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245194

Gökdemir, C. E., 2020. Deneysel Osteoartrit Modelinde UCMA'nın Anti-Osteoartritik Etkisinin Hyaluronik Asit ve Kortikosteroidler ile Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, 91 s.

Grässel S, Muschter D., 2020. Recent advances in the treatment of osteoarthritis. F1000Res. 4(9):325. doi: 10.12688/f1000research.22115.1. doi: 10.12688/f1000research.22115.1

Gratieri, T., 2010. A Poloxamer/chitosan In-situ Forming Gel with Prolonged Retention Time for Ocular Delivery. Eur J Pharm Biopharm, 75: 186-93.

Gray, H. 1918. Anatomy of the Human Body, 20th ed. Lea & Febiger Philadelphia. 1364s.

Grimaud, E., Heymann, D., Redini, F., 2002. Recent Advances in TGF-β: Effects on Chondrocyte Metabolism. Potential Therapeutic Roles of TGF-β: in Cartilage Disorders. Cytokine Growth Factor Rev., 13: 241-257.

Guedes V., Castro J. P., Brito I., 2018. Topical Capsaicin for Pain in Osteoarthritis: A Literature Review. Reumatol Clin (Engl Ed)., 14(1): 40-45.

Guo, J. H., Skinner, G. W., Harcum, W. W., Barnum, P. E., 1998. Pharmaceutical applications of naturally occurring water-soluble polymers. Pharm Sci & Technol Today, 1: 254-61.

Gupta, B. P., Thakur, N., Jain, N. P., Banweer, J., Jain, S., 2010. Osmotically Controlled Drug Delivery System with Associated Drugs. J. Pharm. Pharm. Sci., 13: 571-588.

Guzman, R. E., Evans, M. G., Bove, S., Morenko, B., Kilgore, K., 2003. Mono-iodoacetate-induced Histologic Changes in Subchondral Bone and Articular Cartilage of Rat Femorotibial Joints: An Animal Model of Osteoarthritis. Toxicol Pathol. 31: 619–624.

Hardenia, A., Maheshwari, N., Hardenia, S.S., Dwivedi, S.K., Maheshwari, R., Tekade, R.K., 2019. Scientific Rationale for Designing Controlled Drug Delivery Systems. In Basic Fundamentals of Drug Delivery, 1-28.

Hassanin, S.H., Khali, F.A., Abd-Elaziz, A.M.Z., El-Sobhy, H.E., 1994. Changes in Some Physiological Parameters of Albino Rats at Different Ambient Temperature Asian-Australas J Anim Sci., 7(4): 471-474.

Herrero-Beaumont, G., Ivorra, J. A., Del Carmen Trabado, M., 2007. Glucosamine Sulfate in The Treatment of Knee Osteoarthritis Symptoms: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Study Using Acetaminophen As A Side Comparator. Arthritis Rheum, 56(2): 555-567.

Hestehave, S., Munro, G., Pedersen, T.B., Abelson, K.S.P., 2017. Antinociceptive Efects of Voluntarily Ingested Buprenorphine in the Hot-plate Test in Laboratory Rats. Laboratory Animals, 51(3): 264-272.

Heyneman, C. A., Lawless-Liday, C., 2000. Wall GC. Oral Versus Topical NSAIDs in Rheumatic Diseases: A comparison. Drugs., 60(3): 555-74.

Hinton, R., Moody, R. L., Davis, A. W., Thomas, S. F., 2002. Osteoarthritis: Diagnosis and Therapeutic Considerations. American Family Physician, 65(5): 841:848.

Hirschmann, M. T., Müller W., 2015. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc., 23(19):2780-8.

Hirtler, L., Lübbers, A., Rath, C., 2019. Vascular Coverage of The Anterior Knee Region An Anatomical Atudy. Journal of Anatomy, 235(2): 289-298.

Ho, Y. J., Lu, J. W., Ho, L. J., Lai, J. H., Huang, H. S., Lee, C. C., Lin, T. Y., Lien, S. B., Lin, L. C., Chen, LW., Gong, Z., Shen, M. C., Liu, F. C., 2019. Anti-inflammatory and Anti-osteoarthritis Effects of Cm-02 and Ck-02. Biochem Biophys Res Commun., 517: 155–163.

Holderbaum, D., Haqqi, T. M., 1999. Moskowitz RW: Genetics and Osteoarthritis: Exposing The Iceberg. Arthritis Rheum., 42(3): 397-405.

Hsu, H., Siwiec, R. M., 2022. Knee Osteoarthritis. [Updated 2022 Sep 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; PMID: 29493951. [Son erişim tarihi: 01.04.2023].

Hunter, D. J., Guermazi, A., Roemer, F., Zhang, Y., Neogi, T., 2013. Structural Correlates of Pain in Joints With Osteoarthritis. Osteoarthritis and Cartilage, 21(9): 1170-1178.

Hunter, D. J., March, L., Chew, M., 2020. Osteoarthritis in 2020 and Beyond: A Lancet Commission. The Lancet, 396: 1711-1712.

Huskisson, E., 2008. Glucosamine and Chondroitin for Osteoarthritis. The Journal of international Medical Research, 36(6): 1161-79.

Ingman, A. M., Ghosh, P., Taylor, T. K. F., 1974. Variation of Collagenous and Non-Collagenousproteins of Human Knee Joint Menisci with Age and Degeneration. Gerontologia, 20:212-233.

Inman, R. D., Haroon, N., Kim, T. H., 2012. NSAIDs and Radiographic Progression in Ankylosing Spondylitis Bagging Big Game with Small Arms? Ann Rheum Dis., 71: 1593-5.

Jain, K. K., 2005. Advances in the Field of Nanobiotechnology: Towards Development of Novel Therapeutics. Nanomedicine, 1(1):1-3.

Jain, S., Purohit, A., Nema, P., Vishwakarma, H., Jain, P. K., 2022. Intelligent or Smart Polymers: Advance in Novel Drug Delivery. Journal of Drug Delivery and Therapeutic,. 12(5): 208-216.

Jiang, Y., Wang, Y., Li, Q., Yu, C., Chu, W., 2020. Natural Polymer-based Stimuli-responsive Hydrogels. Curr. Med. Chem., 27: 2631-2657.

Jo, C. H., Lee, Y. G., Shin, W. H., Kim, H., Chai, J. W., Jeong, E. C., Kim, J. E., Shim, H., Shin, J. S., Shin, I. S., Ra, J. C., Oh, S., & Yoon, K. S., 2014. Intra-articular Injection of Mesenchymal Stem Cells for The Treatment of Osteoarthritis of The Knee: Proof-of-concept Cinical Trial. Stem cells 32(5): 1254-1266.

Jordan, K. M., Arden, N. K., Doherty, M., Bannwarth, B., Bijlsma, J. W., Dieppe, P., Gunther, K., Hauselmann, H., Herrero-Beaumont, G., Kaklamanis, P., Lohmander, S., Leeb, B., Lequesne, M., Mazieres, B., Martin-Mola, E., Pavelka, K., Pendleton, A., Punzi, L., Serni, U., Swoboda, B., Verbruggen, G., Zimmerman-Gorska, I., Dougados M. 2003. Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials ESCISIT. EULAR Recommendations 2003: An Evidence Based Approach to The Management of Knee Osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). Ann Rheum Dis. 62(12):1145-55. doi: 10.1136/ard.2003.011742.

Joukal, M., Klusáková, I., Dubový, P., 2016. Direct communication of the spinal subarachnoid space with the rat dorsal root ganglia. Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft, 205, 9–15.

Jozwiak-Bebenista, M., Nowak, J. Z., 2014. Paracetamol: Mechanism of Action, Applications and Safety Concern. Acta Pol Pharm,. 71: 11-23.

Kahan, A., Uebelhart, D., De Vathaire, F., Delmas, P. D., Reginster, J. Y., 2009. Long-term Effects of Chondroitins 4 and 6 Sulfate on Knee Osteoarthritis: The Study on osteoarthritis progression prevention, a Two-year, andomized, double-blind, placebo-controlled trial. Arthritis Rheum, 60(2): 524-533.

Kalbhen, D. A., 1987. ChemicalModel of Osteoarthritis- A Pharmacological Evaluation. Rheumatology, 14:130-131.

Kamaruzaman, H., 2013. CPG Management of Osteoarthritis, MaHTAS, Putrajaya, Malaysia, 53s.

Kanwar, N, Sinha, V. R., 2019. In Situ Forming Depot as Sustained-release Drug Delivery Systems. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst., 36: 93-136.

Kapoor, M., Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Pelletier, J. P. Fahmi, H., 2011. Role of Proinflammatory Cytokines in The Pathophysiology of Osteoarthritis. Nat. Rev. Rheumatol., 7: 33-42.

Karabay–Yavasoglu, N.U., Baykan, S., Ozturk, B., Apaydin, S., Tuglular, I., 2006. Evaluation of the Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of Satureja thymbra. L. Essential Oil, Pharmaceutical Biology, 44:8, 585-591.

Karan, A., Aksoy, C., Ertugrul L., Karan, M. A., 1999, Tenoksikamın Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Ağrı Modeli Üzerine Etkisi. İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası, 62:3.

Karunarathna, I., Kusumarathna, K., Jayathilaka, P., Rathnayake, B., Priyalath, N., Gunarathna, I., Disanayake, D., Kurukulasooriya, P., Samarasinghe, A., Halahakoon, D., Walgama, K. H., 2024. Understanding Pain Physiology: Foundations for Effective Chronic Pain Management (Part 2).

Kashyap, N., Viswanad, B., Sharma, G., Bhardwaj, V., Ramarao, P., Kumar, M. N. V., 2007. Design and Evaluation of Biodegradable, Biosensitive In situ Gelling Systems for Pulsatile Delivery of Insulin. Biomaterials, 28: 2051-60.

Katz, J. N., Arant, K. R., Loeser, R. F., 2020. Diagnosis and Treatment of Hip and Knee Osteoarthritis: A Review. JAMA., 325(6): 568-578.

Katz, J. N., Smith, S. R., Collins, J. E., Solomon, D. H., Jordan, J. M., Hunter, D. J., Suter, L. G., Yelin, E., Paltiel, A. D., Losina, E., 2016. Cost-Effectiveness of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Opioids in the Treatment of Knee Osteoarthritis in Older Patients with Multiple Comorbidities. Osteoarthr. Cartil., 24: 409-418.

Kavitha, K., Rajas, N. J., 2011. Sustained Ophthalmic Delivery of Levofloxacin Hemihydrate From An Ion activated In- situ Gelling System. Int J Pharm Tech Res., 3: 702-706.

Kennedy, N. I., Wijdicks, C. A, Goldsmith, M. T., Michalski, M. P., Devitt, B. M., Aroen, A., Engebretsen, L., LaPrade, R. F., 2013. Kinematic Analysis of the Posterior Cruciate Ligament, Part 1: the Individual and Collective Function of the Anterolateral and Posteromedial Bundles. Am J Sports Med., 41(12):2828–38.

Kerver, A. L., Leliveld, M. S., den Hartog, D., Verhofstad, M. H., & Kleinrensink, G. J. (2013). The surgical anatomy of the infrapatellar branch of the saphenous nerve in relation to incisions for anteromedial knee surgery. The Journal of bone and joint surgery. American volume, 95(23): 2119–2125.

Khan, H.M., Ashraf, M.A., Hashmi, A.S., Ahmad, M., & Anjum, A.A, 2012. Clinical Assessment of Experimentally Induced Osteoarthritis Rat Model in Relation to Time. Journal of Animal and Plant Sciences, 22: 960-965.

Khattab, A., Marzok, S., & Ibrahim, M., 2019. Development of optimized mucoadhesive thermosensitive pluronic based in situ gel for controlled delivery of Latanoprost: Antiglaucoma efficacy and stability approaches. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 53, 101134.

Khule, M., Vyavahare, S., 2021. A Review: in-situ Gel Drug Delivery System. 9: 2455-6211.

Kim, T., Seol, D., Suk-Chan, H., Ko, C., Kim, E., Chun, K., Kim, J., Lim, T., 2015. Analgesic Effect of Intra-Articular Injection of Temperature-Responsive Hydrogel Containing Bupivacaine on Osteoarthritic Pain in Rats. BioMed Research International. 1-9.

Kloppenburg, M., Berenbaum, F., 2020.sOsteoarthritis year in review 2019: epidemiology and therapy. Osteoarthritis and Cartilage, 28 (3): pp.242-248.

Kohn, M. D., Sassoon, A. A., Fernando, N.D., 2016. Classifications in Brief: Kellgren-Lawrence Classification of Osteoarthritis. Clin Orthop Relat Res., 474(8): 1886-93.

Koland, M., Narayanan V., A.,John, A., Arunraj, T. R., 2022. Thermosensitive In Situ Gels for Joint Disorders: Pharmaceutical Considerations in Intra-Articular Delivery. Gels., 8: 723. 10.3390/gels8110723.

Kolasinski, S. L., Neogi, T., Hochberg, M. C., 2020. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Management of Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee. Arthritis Rheumatol. 72: 220-233.

Kolasinski, S. L., Neogi, T., Hochberg, M. C., Oatis, C., Guyatt, G., Block, J., Callahan, L., Copenhaver, C., Dodge, C., Felson, D., Gellar, K., Harvey, W. F., Hawker, G., Herzig, E., Kwok, C. K., Nelson, A. E., Samuels, J., Scanzello, C., White, D., Wise, B., Altman, R. D., DiRenzo, D., Fontanarosa, J., Giradi, G., Ishimori, M., Misra, D., Shah, A. A., Shmagel, A. K., Thoma, L., M., Turgunbaev, M., Turner, A. S., Reston, J., 2020. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Management of Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee. 72(2): 149–162.

Konstan, M. W., Byard, P. J., Hoppel, C. L., Davis, P. B., 1995. Effect of High-Dose Ibuprofen in Patients with Cystic Fibrosis. N Engl J Med., 332(13): 848–54.

Kouchak, M., 2014. In Situ Gelling Systems For Drug Delivery, Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod. 9(3): e20126.

Krasnokutsky, S,. Attur, M., Palmer, G., Samuels, J., Abramson, S. B., 2008. Current Concepts in The Pathogenesis of Osteoarthritis. Osteoarthr. Cartil., 16(3): S1–S3.

Kristoffersen, H., Torp-Pedersen, S., Terslev, L. 2006. Indications of Inflammation Visualized by Ultrasound in Osteoarthritis of The Knee. Acta Radiol., 47(3): 281–286.

Kriz J., Seegenschmiedt H. M., Bartels A., Micke O., Muecke R., Schaefer U., Haverkamp U., Eich H. T., 2018. Updated Strategies in the Treatment of Benign Diseases-a Patterns of Care Study of the German Cooperative Group on Benign Diseases. Adv Radiat Oncol., 3(3): 240-244.

Kurniawansyah, I., Sopyan, I., Wathoni, N., Fillah, D., Praditya, R., 2018. Application and characterization of in situ gel. International Journal of Applied Pharmaceutics, 10(6): 34.

Kurniawansyah, I. S, Rusdiana, T., Sopyan, I., Desy Arya, I. F., Wahab, H. A., Nurzanah, D., 2023. Comparative Study of In Situ Gel Formulation Based on the Physico-Chemical Aspect: Systematic Review. Gels. 10;9(8): 645.

Kushwaha, S. K. S., Saxena, P., Rai, A. K., 2012. Stimuli Sensitive Hydrogels for Ophthalmic Drug Delivery: A review. Int J Pharm Investig., 2(2): 54- 60.

Küçüktürkmen, B., Öz, U. C., Bozkır, A., 2017. In Situ Hydrogel Formulation for Intra-Articular Application of Diclofenac Sodium-Loaded Polymeric Nanoparticles. Turkish journal of pharmaceutical sciences, 14(1), 56–64.

Laddha, U. D., Mahajan, H. S., 2017.An Insight to Ocular *in situ* Gelling Systems, Interna

tional Journal of Advances in Pharmaceutics; 06(02): 31-40.

Lands, L.C., Dauletbaev, N., 2010. High-dose Ibuprofen In Cystic Fibrosis. Pharmaceuticals, 3: 2213-2224.

Lane, N. E., Brandt, K., Hawker, G., Peeve, E., Schreyer, Tsuji, W., Hochberg, M. C., 2011. OARSI-FDA Initiative: Defining The Disease State of Osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage, 19(5): 478–82.

Lanza, F. L., Chan, F. K. L., Quigley, E. M. M., 2009. Guidelines for Prevention of NSAID-related Ulcer Complications. Am J Gastroenterol., 104: 728-38.

Last R. J., 1948. Some Anatomical Details of the Knee Joint. J Bone Jt Surg Br., 4:683-8.

Le Bars, D., Gozariu, M., Cadden, S.W. 2001 Animal Models of Nociception. Pharmacol Rev., 53: 597–652.

Lee, K., Yi, C. W., Lee, S., 2016. The effects of Kinesiology Taping Therapy on Degenerative Knee Arthritis Patients' Pain, Function, and Joint Range of Motion. J Phys Ther Sci., 28(1): 63-66.

Li, G., Yin, J., Gao, J., 2013. Subchondral Bone in Osteoarthritis: Insight Into Risk Factors and Microstructural Changes. Arthritis Res Ther.,15: 223.

Li, H., Xie, S., Qi, Y., Li, H., Zhang, R., Lian, Y., 2018. TNF-α increases the expression of inflammatory factors in synovial fibroblasts by inhibiting the PI3K/AKT pathway in a rat model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. Experimental and Therapeutic Medicine, 16, 4737-4744. https://doi.org/10.3892/etm.2018.6770

Li, P., Li, H., Shu, X., Wu, M., Liu, J., Hao, T., Cui, H., & Zheng, L. 2020. Intra-articular delivery of flurbiprofen sustained release thermogel: improved therapeutic outcome of collagenase II-induced rat knee osteoarthritis. Drug delivery, 27(1), 1034–1043.

Lin, C. C., Metters, A. T., 2006. Hydrogels in Controlled Release Formulations: Network Design and Mathematical Modeling. Advanced Drug Delivery Reviews, 58(12-13): 1379-1408.

Litwic, A., Edwards, M. H., Dennison, E. M., Cooper, C., 2013. Epidemiology and Burden of OA. Br Med Bull.,105: 185-199.

Liu, Y., Wang, X., Liu, Y., Di, X., 2018. Thermosensitive In Situ Gel Based on Solid Dispersion for Rectal Delivery of Ibuprofen. AAPS PharmSciTech., 19(1): 338-347.

Lo, G., Lavalley, M., McAlindon, T., Felson, D. 2003. Intra-articular Hyaluronic Acid in Treatment of Knee Osteoarthritis: A Meta-analysis. JAMA: The journal of the American Medical AssociatioN, 290: 3115-21.

Loeser, R. F., Goldring, S. R., Scanzello, C. R., Goldring, M. B., 2012. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ. Arthritis Rheum., 64(6): 1697-707.

Lombardo, D., Kiselev, M., Caccamo, Maria T., 2019. Smart Nanoparticles for Drug Delivery Application: Development of Versatile Nanocarrier Platforms in Biotechnology and Nanomedicine. Journal of Nanomaterials, 1-26.

Longobardi, L., O'Rear, L., Aakula, S., Johnstone, B., Shimer, K., Chytil, A., Horton, W. A., Moses, H. L., Spagnoli, A., 2006. Effect of IGF-I in The Chondrogenesis of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in The Presence or Absence of TGF-beta Signaling. J Bone Miner Res., 21: 626-636.

Loudon, J. K., 2016. Biomechanics and Pathomechanics of the Patella Femoral Joint. The International Journal of Sports Physical Therapy, 11:6, 820p.

Ma, W. D., Xu, H., Wang, C., Nie, S. F., & Pan, W. S., 2008. Pluronic F127-g-poly(acrylic acid) copolymers as in situ gelling vehicle for ophthalmic drug delivery system. *International journal of pharmaceutics*, *350* (1-2): 247–256.

Madeti, B. K., Chalamalasetti, S. R., Bolla Pragada, S. K. S., 2015. Biomechanics of Knee Joint- A Review. Frontiers of Mechanical Engineering, 10(2): 176– 186.

Mahalingam, R., Li, X., Jasti, B. R., 2010. Semisolid dosages: ointments, creams, and gels. Pharmaceutical sciences encyclopaedia: drug discovery, development, and manufacturing, 1-46. 107.

Maheswara, R. C., Firoz, S., Rajalakshmi, R., Ashok, K. C. K., 2011. Design and Evaluation of Chloramphenicol Thermoreversible In Situ Gels for Ocular Drug Delivery. Int J. Innov Pharm Res., 2: 131-8.

Mankin, H. J., 1971. Biochemical and metabolic aspects of osteoarthritis. Orthop Clin. North. Am., 2: 19.

Martel-Pelletier, J., Pelletier, J. P., 2003. Role of Prostaglandins and Leukotrienes in Osteoarthritis. The good, the bad and the ugly. Reumatología, 19(2):80-83.

Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Pelletier, J. P. 2005. Etiopathogenesis of Osteoarthritis. In: Arthritis 27 and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology. (15th Edition). Koopman WJ, Moreland LW. Lippincott, Williams & Wilkins, MD, USA.

Martell-Pelletier, J., Barr, A., Cicuttini, F., Conaghan, P., Cooper, C., Goldring, M., Goldring, S., Jones, G., Teichtahl, A., Pelletier, J., 2016. Osteoarthritis. Nature Reviews Disease Primers, 2:16072.

Martel-Pelletier, J., Maheu, E., Pelletier, J. P., Alekseeva, L., Mkinsi, O., Branco, J., Monod, P., Planta, F., Reginster, J. Y., Rannou, F., 2019. A New Decision Tree for Diagnosis of Osteoarthritis in Primary care: International Consensus of Experts. Aging Clinical and Experimental Research, 31: 19-30.

Maru, S. Okaru, A. O., Kamau, F. N., Kuria, K. A. M., Ng,ang'a, B. N., Gathus, L., Mathenge, A., Formulation and Evaluation of Ibuprofen Gel Using A Natural Polymer. East and Central African Journal of Pharmaceutical Sciences, 18: 18-22.

Mathiessen, A., Conaghan, P. G., 2017. Synovitis in Osteoarthritis: Current Understanding with Therapeutic Implications. Arthritis Res Ther., 19(1): 18. doi: 10.1186/s13075-017-1229-9.

McAlindon, T. E., Teale, J. D., Dieppe, P. A., 1993. Levels of Insulin Related Growth Factor 1 in Osteoarthritis of The Knee. Ann. Rheum Dis. 52(3): 229-231

McQuillan, D. J., Handley, C. J., Campbell, M. A., Bolis, S., Milway, V. E., Herington, A. C., 1986. Stimulation of Proteoglycan Biosynthesis by Serum and Insulin-like Growth factor-I in Cultured Bovine Articular Cartilage. Biochem J. 240: 423-430.

Mease, P. J., Hanna S., Frakes, E. P., Altma, R. D., 2011. Pain Mechanisms in Osteoarthritis: Understanding the Role of Central Pain and Current Approaches to Its Treatment. The Journal of Rheumatology, 38:8.

Messier, S. P., Gutekunst, D. J., Davis, C, DeVita, P., 2005. Weight Loss Reduces Knee-joint Loads in Overweight and Obese Older Adults with Knee Osteoarthritis. Arthritis Rheum. 52(7):2026-2032.

Meulyzer, M., Vachon, P., Beaudry, F., Vinardell, T., Richard, H., Beauchamp, G., S. Laverty, 2008. Comparison of Pharmacokinetics of Glucosamine and Synovial Fluid Levels Following Administration of Glucosamine Sulphate or Glucosamine Hydrochloride. Osteoarthritis Cartilage, 16: 973-9.

Miao, B., Song, C., Ma, G., 2011. Injectable Thermosensitive Hydrogels for Intra-Articular Delivery of Methotrexate. J. Appl. Polym., 122: 2139–2145.

Michael, J. W., Schlüter-Brust, K. U., Eysel, P., 2010. The Epidemiology, Etiology, Diagnosis, and Treatment of Osteoarthritis of The Knee. Dtsch Arztebl Int., 107(9): 152-62.

Minett, B., Quick, K., Wood, J. N., 2013. Behavioral Measures of Pain Thresholds. Curr.Protoc. Biol., 383-412.

Mitan, R., Gokulgandhi, J. R., Parikh, M. B., Dharmesh, M. M., 2007. A pH Triggered In Situ Forming Opthalmic Drug Delivery System for Tropicamide, Drug Deliv. Technol., 44-49.

Miyazaki, S., Hirotatsu, A., Kawasaki, N., Wataru, K., Attwood, D., 1999. In Situ Gelling Gellan Formulations as Vehicles for Oral Drug Delivery. J Control Rel., 60: 287-95.

Miyazaki, S., Suisha, F., Kawasaki, N., 1998. Thermally Reversible Xyloglucan Gels as Vehicles for Rectal Drug Delivery. J Control Rel., 56: 75-83.

Mok, S. W., Fu, S. C., Cheuk, Y. C., Chu, I. M., Chan, K. M., Qin, L., Yung, S. H., Kevin, Ho K.W., 2020. Intra-Articular Delivery of Quercetin Using Thermosensitive Hydrogel Attenuate Cartilage Degradation in an Osteoarthritis Rat Model. Cartilage, 4: 490-499.

Molnar, V., Matišić, V., Kodvanj, I., Bjelica, R., Jeleč, Ž., Hudetz, D., Rod, E., Čukelj, F., Vrdoljak, T., Vidović, D., 2021. Cytokines and Chemokines Involved in Osteoarthritis Pathogenesis. Int. J. Mol. Sci. 22: 9208.

Monemdjoul, R., Fahmi, H., Kapoor, M. 2010. Synovium in The Pathophysiology of Osteoarthritis. Therapy., 7(6): 661–668.

Moore, N., 2007. Ibuprofen: A Journey From Prescription to Over-The-Counter Use. Journal of The royal Society of Medicine, 48: 100.

Mora, J. C., Przkora, R., Cruz-Almeida, Y., 2018. Knee Osteoarthritis: Pathophysiology and Current Treatment Modalities. J Pain Res., 11: 2189-2196.

More, R. H., Uhlig T., Kieken, I., Hagen, K. B., Kvien, T. K., Grotle, M., 2010. Multidisciplinary and Multifaceted Outpatient Management of Patients With Osteoarthritis: Protocol for a randomised, controlled trial. BMC Musculoskeletal Disorders, 11(253):1-7.

Myers, S. L., 2005. Osteoarthritis and crystal-associated synovitis. In: Hunder GG, ed. Atlas of Rheumatology. Philadelphia, PA: Current Medicine LLC. 54-81.

Nagaosa Y., Lanyon P., Doherty M., 2022. Characterisation of Size and Direction of Osteophyte in Knee Osteoarthritis: A Radiographic Study. Annals of the Rheumatic Diseases. 61(4): 319-324.

Naziris, N., Pippa, N., Pispas, S., Demetzos, C., 2016. Stimuli-responsive Drug Delivery Nanosystems: From Bench to Clinic. Current Nanomedicine, 6(3): 166-185.

Negi, K. Pattam, S., Mishra, P., & Aftab, & Govind, S., Mahant, R., Mukesh, K., Meena, M. K., Salman, M., Shirsat, M., 2023. An Innovative Approach: Controlled Release Drug Delivery System (CRDDS). European Chemical Bulletin, 12: 14898-14920.

Neogi, T., Zhang, Y., 2013. Epidemiology of Osteoarthritis. Rheum Dis Clin N Am 39 (2013) 1–19

Nelson, A. E., Allen, K. D., Golightly, Y. M., Goode, A. P., Jordan, J. M. 2014. A Systematic Review of Recommendations and Guidelines for the Management of Osteoarthritis: The Chronic Osteoarthritis Management Initiative of the U.S. Bone and Joint Initiative. Semin. Arthritis Rheum. 43(6),:701-712.

Nelson, E., Braga, L., Benner, J., 2010. Characterization of Individual Radiographic Features of Hip Osteoarthritis in African American and White Women and Men: The Johnston County Osteoarthritis Project. Arthritis Care & Research., 62(2): 190–197.

Nguyen, T., Chen, X., Chai, J., Li, R., Han, X., Chen, X., Liu, S., Chen, M., Xu, X.,2020. Antipyretic, anti-inflammatory and analgesic activities of *Periplaneta americana* extract and underlying mechanisms. Biomedicine & Pharmacotherapy, 123 10975.

Nirmal, H.B., Bakliwal, S.R., Pawar, S.P., 2010. International Journal of PharmTech Researc, 2(2): 1398-1408.

O'Neill, T., Felson, D., 2018. Mechanisms of Osteoarthritis (OA) Pain. Curr. Osteoporos Rep., 16: 611-616.

Ofokansi, K. C., Kenechukwu, F. C., Ezugwu, R. O., Attama, A. A., 2016. Improved Dissolution and Anti-inflammatory Activity of Ibuprofen-polyethylene Glycol 8000 Solid Dispersion Systems. Int J Pharm Investig., 6(3): 139-147.

Ombregt, L., 2013. A System of Orthopaedic Medicine. Churchill Livingstone, 844s.

Oo, W. M., Yu, S. P. -C., 2018. Daniel, M.S.; Hunter, D.J. Disease-modifying Drugs in Osteoarthritis: Current Understanding and Future Therapeutics. Expert Opin. Emerg. Drugs, 23, 331–347.

Orlando, B. J., Lucido, M. J., Malkowski, M. G., 2015. The Structure of Ibuprofen Bound to Cyclooxygenase-2. J Struct Biol., 189(1): 62-6.

Ostergaard, K., Andersen, C., B., Petersen, J., Bendtzen, K., Salter, D., M., 1999. Validity of Histopathological Grading of Articular Cartilage from Osteoarthritic Knee Joints. Ann Rheum Dis., 58: 208-213.

Ostergaard, K., Petersen, J., Andersen, C., B., Bendtzen, K., Salter, D., M., 1997. Histologic/Histochemical Grading System for Osteoarthritic Articular Cartilage. Reproducibility and Validity. Arthritis Rheum., 40: 1766-1771.

Ozbey, C., Aydemir, I., 2023. Investigation of distribution of GSK-3β signal pathway by age groups in cases of ulcerative colitis. Rom J Morphol Embryol. 64(1): 57-63. doi: 10.47162/RJME.64.1.07.

Padhan, A., Nanda B. K., Behera, B. C., 2019. Floating Oral In-situ Gel A Comprehensive Approach of Gastro-retentive Drug Delivery System: A Review. Int. J. Oharm. Sci. Res., 10: 4026-4039.

Padma, P. J., Karthika, K., Rekha, N. R., 2010. Khalid E. Formulation and Evaluation of In-situ Ophthalmic Gels of Diclofenac Sodium. J Chem Pharm Res. 2: 528-535.

Padmasri, B., Nagaraju, R.,Prasanth, D., 2020. A Compherensive Review on *in situ* Gels. International Journal of Applied Pharmaceuticals, 12: 6.

Pandit, D., Bharathi, A., Singh, S., 2007. Long Acting Ophthalmic Formulation of Indomethacin: Evaluation of Alginate Gel Systems. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 69: 37-40.

Paolino, D., Sinha, P., Fresta, M., Ferrari, M., 2006. Drug Delivery Systems. In Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation, J.G. Webster (Ed.). https://doi.org/10.1002/0471732877.emd274

Park, C. W., Ma, K. W., Jang, S. W., Son, M., Kang, M. J., 2014. Comparison of piroxicam Pharmacokinetics and Anti-inflammatory Effect in Rats After Intra-articular and Intramuscular Administration. Biomol Ther., 22(3): 260-266.

Parker, D. A., Scholes, C., Neri, T., 2018. Non-operative Treatment Options for Knee Osteoarthritis: Current Concepts. Jisakos, 3: 274- 281.

Patel, M.R., Saluja A.K., 2012. Analgesic and the Anti-inflammatory Activity of Caryota Urens Linn. International Journal of Pharmacy Research & Technolog, 2(1): 47-50.

Patel, V., Arvind J., Prateek J., Basant, K., Bhupendra, T., Rubeena, K., Deepshikha, R., Anushree, J., 2022. Controlled Drug Delivery Systems: An Overview On Advances and New Technologies, 8: 85-92.

Patil, S., Kadam, A., Bandgar, S., Patil, S., 2015. Formulation and Evaluation of An In Situ Gel for Ocular Drug Delivery of Anticonjunctival Drug. Cellulose Chem Technol., 49(1): 35-40.

Pawar, S. D., Pawar, R. G., Gadhve, M. V., 2012. Controlled Release In Situ Forming Gatifloxacine HCl for Ophthalmic Drug Delivery. Int Res J of Phar,. 3: 86-89.

Pelletier, J. P., Martel-Pelletier, J., Abramson, S. B., 2001. Osteoarthritis, An Inflammatory Disease: Potential Implication for The Selection of New Therapeutic Targets. Arthritis Rheum. 44(6): 1237–1247.

Pereira, D., Ramos, E., Branco, J., 2015. Osteoarthritis. Acta Med Port, 28(1):99-106.

Perlman, A. I., Sukul, V., Spierer, M. M., 2007. Osteoarthritis. In Rakel D (ed), Integrative Medicine, 2nd ed. Philadelphia: Saunders.

Peshkova, M., Lychagin, A., Lipina, M., Di Matteo, B., Anzillotti, G., Ronzoni, F., Kosheleva, N., Shpichka, A., Royuk, V., Fomin, V, Kalinsky, E., Timashev, P., Kon, E., 2022. Gender-Related Aspects in Osteoarthritis Development and Progression: A Review. Int J Mol Sci., 23(5): 2767.

Pinskerova, V., Vavrik P., 2020. Knee Anatomy and Biomechanics and Its Relevance to Knee Replacement. Personalized Hip and Knee Joint Replacement. Cham (CH): Springer, 159-168.

Podual, K., Doyle, F. J., Peppas, N. A., 2000. Dynamic Behavior of Glucose Oxidase-containing Microparticles of Poly(ethylene)- grafted Cationic Hydrogels in An Environment of Changing pH. Biomaterials, 21: 1439-50.

Poonpet, T., Honsawek, S., 2014. Adipokines: Biomarkers for osteoarthritis?. World journal of orthopedics. *5*(3), 319–327.

Prajapat, P., Agrawal, D., Bhaduka, G., 2022. A Brief Overview of Sustained Released Drug Delivery System. Journal of Applied Pharmaceutical Research, 10(3):05-1.

Prathap, K. J., Arun, K. M., Venkatesh, D., 2018. Healthy Gait: Review of Anatomy and Physiology of Knee Joint. International Journal of Current Research and Review, 12.01-08.

Pressler, T., 2011.Targeting airway inflammation in cystic fibrosis in children. Pediatr Drugs 13, 141–147.

Prince, A., 2019. Development of in situ Forming Hydrogels for Intra-articular Drug Delivery. Electronic Thesis and Dissertation Repository, 6077.

Pritzker, K.P., Gay, S., Jimenez, S.A., Ostergaard, K., Pelletier, J.P., Revell, P.A., Salter, D., Van den Berg, W.B., 2006. Osteoarthritis Cartilage Histopathology: Grading and Staging. Osteoarthritis Cartilage. 14(1):13-29.

Qiu, G., 2010. Chinese Orthopaedic Association. Diagnosis and Treatment of Osteoarthritis. Orthop Surgery, 2(1):1-6.

Qutub, M., Tatode, A., Premchandani, T., Taksande, J., Mane, D., Umekar, M., 2024. Blending Induced Variations in Poloxamer's/Pluronic's® Gelation: Thermodynamic and Rheological Perspectives. *JCIS Open*, 100126.

Radu, E.R., Semenescu, A., Voicu, S. I., 2022. Recent Advances in Stimuli-Responsive Doxorubicin Delivery Systems for Liver Cancer Therapy. Polymers, 14: 5249.

Rao, M. A., 2014. Measurement of flow and viscoelastic properties. In: Rheology of Fluid, Semisolid, and Solid Foods, Springer, Boston, 63-159.

Rao, P. and Knaus, E. E., 2008. Evolution of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. J Pharm Pharm Sci., 20;11(2): 81s-110s.

Rahim, M. A., Jan, N., Khan, S., Shah, H., Madni, A., Khan, A., Jabar, A., Khan, S., Elhissi, A., Hussain, Z., Aziz, H. C., Sohail, M., Khan, M., & Thu, H. E., 2021. Recent Advancements in Stimuli Responsive Drug Delivery Platforms for Active and Passive Cancer Targeting. Cancers, 13(4): 670.

Rasool, B. G. K., Abu-Gharbieh, E. F., Fahmy S. A., Saad, H. S., Khan, S. A., 2010. Development and Evaluation of Ibuprofen Transdermal Gel Formulations. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 9(4): 355-363.

Reginster, J. Y., 2007. The Efficacy of Glucosamine Sulfate in Osteoarthritis: Financial and Nonfinancial Conflict of Interest. Arthritis Rheum, 56(7): 2105-2110.

Richard, M. J., Driban, J. B., McAlindon T. E., 2023. Pharmaceutical Treatment of Osteoarthritis. Osteoarthritis and Cartilage, 31(4): 458–466.

Rim, Y. A., Ju, J.H., 2020. The Role of Fibrosis in Osteoarthritis Progression. Life (Basel). 2020 23;11(1):3. doi: 10.3390/life11010003.

Ritschel, W. A., Kearns, G. L., 2009. Handbook of basic pharmacokinetics including clinical applications. In: Appendix pharmacokinetics parameters of important drugs. Washington D.C.: APhA, 440s.

Roane, D.S., Bounds, J.K., Ang, C-Y., Adloo, A.A., 1998. Quinpirole-Induced Alterations of Tail Temperature Appear as Hyperalgesia in the Radiant Heat Tail–Flick Test. Pharmacol Biochem Behav., 59: 77-82.

Roberts, E., Nunes, V.D., Buckner, S., Latchem, S., Constanti, M., Miller, P., Doherty, M., Zhang, W., Birrell, F., Porcheret, M., Dziedzic K., Bernstein I., Wise E., Conaghan P. G., 2016. Paracetamol: Not as Safe as We Thought? A Systematic Literature Review of Observational Studies. Ann. Rheum. Dis. 75: 552-559.

Rohaľová, S., Wolaschka, T., Balážová, Ľ., Paulovičová, K., Tóthová, J., Pavloková, S., Gajdziok, J., 2024. Formulation optimization and evaluation of oromucosal in situ gel loaded with silver

nanoparticles prepared by green biosynthesis. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 193, 106683.

Roman-Blas, J.A., Castañeda, S., Largo, R., Herrero-Beaumont, G., 2010. Glucosamine Sulfate for Knee Osteoarthritis: Science and Evidence-based Use. Therapy., 7(6);: 591-604.

Rudwaleit, M., Yin, Z., Siegert, S., Grolms, M., Radbruch, A., Braun, J., Sieper, J., 2000. Response to Methotrexate in Early Rheumatoid Arthritis is Associated with a Decrease of T Cell Derived Tumour necrosis Factor Alpha, Increase of Interleukin 10, and Predicted by The Initial Concentration of Interleukin 4. Ann Rheum Dis., 59: 311-314.

Saher, T., Manzoor, R., Abbas, K., Mudassir, J., Wazir, M. A., Ali, I., Ahmad, S. F., Rasul, A., Qadir, M. I., Aleem, A., Qaiser, N., Usman, A., Romman, M., Ali M. S., 2022. Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Two Hydrogel Formulations Comprising Polyherbal Extract. J Pain Res., 15: 1203-1219.

Saini, R., Saini, S., Singh, G., Banerjee, A., Railmajra, D. S., 2015. In situ gelsnew trends in ophthalmic drug delivery systems. Int J Pharm Sci Res., 6: 386-90.

Sanchez, C., Gabay, O., Salvat, C., Henrotin, Y.E., Berenbaum, F., 2009. Mechanical Loading Highly Increases IL-6 Production and Decreases OPG Expression by Osteoblasts. Osteoarthr. Cartil., 7: 473–481.

Sardana, V., Burzynski, J., Zalzal, P., 2017. Safety and Efficacy of Topical Ketoprofen in Transfersome Gel in Knee Osteoarthritis: A Systematic Review. Musculoskeletal Care. ,15: 114-21.

Sawhney, A. S., Pathak, C. P., Hubbell, J. A., Hill, J. L., Desai, N. P. Photopolymerizable Biodegradable Hydrogels as Tissue Contacting Materials and Controlled Release Carriers.US Patent 5410016.

Scanzello C.R., 2017. Chemokines and inflammation in osteoarthritis: Insights From Patients and Animal Models. J. Orthop. Res., 35: 735-739. doi: 10.1002/jor.23471.

Scanzello, C. R., Plaas, A., Crow, M.,K., 2008. Innate Immune System Activation in Osteoarthritis: is Osteoarthritis A Chronic Wound? Current opinion in Rheumatology. 20:5 65-572.

Scanzello, C. R., Umoh, E., Pessler, F., 2009. Local Cytokine Profiles in Knee Osteoarthritis: Elevated Synovial Fluid Interleukin-15 Differentiates Early From End-stage disease. Osteoarthritis and Cartilage,17(8): 1040–1048.

Scapinelli, R., 1967. Blood Supply of The Human Patella: Its Relation to Ischaemic Necrosis After Fracture. J Bone Joint Surg. Br., 49(3): 563-70.

Scapinelli, R., 1997. Vascular Anatomy of The Human Cruciate Ligaments and Surrounding Structures. Clin Anat., 10:151-62.

Schlaak, J. F., Pfers, I., Meyer Zum Büschenfelde, K. H., Märker-Hermann, E., 1996. Different Cytokine Profiles in the Synovial Fluid of Patients with Osteoarthritis, Rheumatoid Arthritis and Seronegative Spondylarthropathies. Clin. Exp. Rheumatol., 14: 155-162.

Schmelz, M., Mantyh, P., Malfait, A. M., Farrar, J., Yaksh, T., Tive, L., Viktrup, L., 2019. Nerve Growth Factor Antibody for The Treatment of Osteoarthritis Pain and Chronic Low-back Pain: Mechanism of Action in the Context of Efficacy and safety. Pain, 160(10): 2210-2220.

Schuerwegh, A. J., Dombrecht, E.J., Stevens, W.J., Van Offel, J.F., Bridts, C.H., De Clerck, L.S., 2003. Influence of Pro-inflammatory (IL-1α, IL-6, TNF-α, IFN-γ) and Anti-inflammatory (IL-4) Cytokines on Chondrocyte Function. Osteoarthr. Cartil., 11: 681-687.

Scott, W. N., 2017. Surgery of the Knee, 6th ed. Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia. 2360s.

Scuderi, G. J., Tria, A. J., 2010. The Knee: A Comprehensive Review. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore, 591s.

Séguin, C. A., Bernier, S. M, 2003. TNFα Suppresses Link Protein and Type II Collagen Expression in Chondrocytes: Role of MEK1/2 and NF-κB Signaling Pathways. Journal of cellular physiology, 197(3): 356–369.

Sellam, J., Berenbaum, F., 2010. The Role of Synovitis in Pathophysiology and Clinical Symptoms of Osteoarthritis. Nat. Rev. Rheumatol., 6: 625–635.

Sen, R., Hurley, J. A., 2023. Osteoarthritis. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; PMID: 29493951. [Son erişim tarihi: 01.04.2023].

Shah, S. S., Mithoefer, K., 2020. Current Applications of Growth Factors for Knee Cartilage Repair and Osteoarthritis Treatment. Curr. Rev. Musculoskelet med. 13: 641-650.

Sharma, P. K., Garg, S. K., Narang, A., 2003. Pharmacokinetics of Oral Ibuprofen in Premature Infants. J Clin Pharmacol., 43(9): 968-73.

Siepmann, J., Siegel, R. A., Siepmann, F., 2012. Diffusion Controlled Drug Delivery Systems in Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery, 10.1007/978-1-4614-0881-9.

Silva, J. M. A., 2015. Biomechanical Characterisation of Knee Ligaments: New Approach For Mechanical Testing and Computer Modelling. Doctors Thesis, Porto University, Porto, 125 s.

Singh, B., Khurana, R., Garg, B., Saini, S., Kaur, R., 2017. Stimuli-Responsive Systems in Drug Delivery: Recent Updates on Diverse Applications and Mechanistic Pathways. Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 34(3): 209-255.

Sinusas K. 2012. Osteoarthritis: Diagnosis and Treatment. Am Fam Physician, 85(1): 49–56.

Slater, G., Slater, T., 2022. Articular Cartilage-A Literature Review. J Regen Biol Med., 4(1)1-10.

Slater, G., Slater, T., 2022. Articular Cartilage-A Literature Review. Journal of Regenerative Biology and Medicine, 4. 1-10.

Smith, A. M., Qualls, J. E., O'Brien, K., Balouzian, L., Johnson, P. F, Schultz- Cherry, S., A Distal Enhancer in Il12b is The Target of Transcriptional Repression by The STAT3 Pathway and Requires The Basic Leucine Zipper (B-ZIP) Protein NFIL3. The Journal of biological chemistry, 286(26): 23582-23590.

Smith, W. L., Urade, Y., Jakobsson, P. J., 2011 Enzymes of the Cyclooxygenase Pathways of Prostanoid Biosynthesis. Chem Rev., 111: 5821-5865.

Sohn, D. H., Sokolove, J., Sharpe, O., Erhart, J. C., Chandra, P. E., Lahey, L. J., Lindstorm, T. M., Hwang, I., Boyer, K. A., Andriacchi, T. P., Robinson, W. H., 2012. Plasma Proteins Present in Osteoarthritic Synovial Fluid Can Stimulate Cytokine Production Via Toll-like Receptor 4. Arthritis Res. Ther. 8. 14(1): R7.

Sokolove, J., Lepus, C. M., 2013. Role of Inflammation in The Pathogenesis of Osteoarthritis: Latest Findings and Interpretations. Ther. Adv. Musculoskeletal Dis., 5: 77–94.

Soni, V., Pandey, V., Tiwari, R., Asati, S., Tekade, R. K., Design and evaluation of ophthalmic delivery formulations, 2019. In: Basic Fundamentals of Drug Delivery, Academic Press, 473-538.

Spolski, R., Leonard, W. J., 2014. Interleukin-21: A Double-edged Sword with Therapeutic Potential. Nat. Rev. Drug Discov. 13: 379–395.

Srividya, B., Cardoza, R.M., Amin, P.D., 2001. Sustained ophthalmic delivery of ofloxacin from a pH triggered in situ gelling system. J. Control Release., 73: 205–211.

Steenvoorden, M., Bank, R., Ronday, H., Toes, R., Huizinga, T., DeGroot J., 2007. Fibroblast-like Synoviocyte-chondrocyte Interaction in Cartilage Degradation. Clin Exp Rheumatol., 25: 239–245.

Storozhylova, N., Crecente Campo, J., Cabaleiro, D., Lugo, L., Dussouy, C., Simões, S., Monteiro, M., Grandjean, C., Alonso, M., 020. An In Situ Hyaluronic Acid-Fibrin Hydrogel Containing Drug-Loaded Nanocapsules for Intra-Articular Treatment of Inflammatory Joint Diseases. Regenerative Engineering and Translational Medicine, 6. 10.1007/s40883-020-00154-2.

Sukanya Patil1, S., Jaya Agnihotri, J., 2022. Sustained and Controlled Drug Delivery System: A Review. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical research, 23 (4): 258-282.

Sun, S., Cao, H., Su, H., Tan. T., 2009. Preparation and characterization of a novel injectable *in situ* cross-linked hydrogel. Polym Bull, 62: 699–711.

Sütő, B., Berkó, S., Kozma, G., Kukovecz, Á., Budai-Szűcs, M., Erős, G., Kemény, L., Sztojkov-Ivanov, A., Gáspár, R., Csányi, E., 2016. Development of Ibuprofen-loaded Nanostructured Lipid Carrier-based Gels: Characterization and Investigation of i*n vitro* and *in vivo* Penetration Through the Skin. Int J Nanomed., 11: 1201-112.

Tan, S. C., Patel, B. K., Jackson, S. H., Swift, C. G., 1999. Hutt AJ: Ibuprofen Stereochemistry: Double-the-trouble? Enantiomer, 4(3-4): 195-203.

Tao, S.C., Yuan, T., Zhang, Y.L., Yin, W.J., Guo, S.C., Zhang, C.Q., 2017. Exosomes Derived from miR-140- 5p-overexpressing Human Synovial Mesenchymal Stem Cells Enhance Cartilage Tissue Regeneration and Prevent Osteoarthritis of the Knee in A Rat Model. Theranostics, 7(1): 180-195.

Taruc-Uy, R. L., Lynch, S. A., 2013. Diagnosis and Treatment of Osteoarthritis. Primary Care. 40(4): 821-36.

Thirumaran, A.J., Deveza, L.A., Atukorala, I., 2023. Hunter, D.J. Assessment of Pain in Osteoarthritis of the Knee. J. Pers. Med. 13(7): 1139.

Tjolsen, A., Lund, A., Berge, O. G., Hole, K., 1989.An improved method for tail flick testing with adjustment for tail skin temperature. J Neurosci Meth., 33:259-264.

Tong, L., Yu, H., Huang, X., Shen, J., Xiao, G., Chen L., Wang, H., Xing, L. Chen, D. 2022. Current Understanding of Osteoarthritis Pathogenesis and Relevant New Approaches. Bone Res., 10 (60).

Torchilin, V.P., Chapter 1 Fundamentals of Stimuli-responsive Drug and Gene Delivery Systems. In Stimuli-Responsive Drug Delivery Systems; The Royal Society of Chemistry: London, UK, 2018; pp. 1–32.

Touma, Z., Chen, L., Arayssi, T., 2007. Topical Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in the Treatment of Osteoarthritis. Future Rheumatol. , 2(2): 163-175.

Tsetskhladze, Z., Pirtskhalava, M., Vakhania, M., Kobiashvili, M., Mindiashvili, T., 2023. Comparative Analysis of Different Brands of Ibuprofen Available on the Georgian Pharmaceutical Market. Modern Issues Of Medicine and Management, 26: 1-8.

Tshering, G., Posadzki, P., Kongkaew, C., 2024. Efficacy and safety of topical capsaicin in the treatment of osteoarthritis pain: A systematic review and meta-analysis. Phytotherapy Research, 38:3695–3705.

Tushar, P., Nikhil P. S., Yogesh, N.G., 2020. Review on Concept of In Situ Gel and Its Applications. jppr.Human., 19(4): 594-616.

Ünal, N., Tosun, B., Can N., Bek, D., Özkan, H., Başbozkurt, M., 2016. Diz Osteoartriti Olan Hastaların Yaşam Kalitesinin ve Etki Eden Parametrelerin Belirlenmesi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 18(3): 83-90.

Vadodaria, S., Warner, E., Norton, I., Mills, T., 2021. Thermoreversible Gels – Optimisation of Processing Parameters in Fused Deposition Modelling. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 618:126399.

Vaienti, E., Scita, G., Ceccarelli, F., Pogliacomi, F., 2017. Understanding The Human Knee and Its Relationship to Total Knee Replacement. Acta Biomed., 2017; 88(2): 6–16.

Van de Laar, I. M. B., Oldenburg,R. A., Pals, G., Roos-Hesselink, J. W., de Graaf, B. M., Verhagen, J. M. A., Hoedemaekers, Y. M., Willemsen, R., Severijnen, L., Venselaar, H., Vriend, G., Pattynama, P. M., Collée, M., Majoor-Krakauer, D., Poldermans, D., Frohn-Mulder, I. M. E., Micha, D., Timmermans, J., Hilhorst-Hofstee, Y., Bierma-Zeinstra, S. M., Willems, P. J., Kros, J. M., Oei, E. H. G., Oostra, B. A., Wessels, M. W., Bertoli-Avella, A.M., 2011. Mutations in SMAD3 cause a syndromic form of aortic aneurysms and dissections with early-onset osteoarthritis. Nat Genet, 43(2): 121-126.

Van der Kraan, P. M., 2018. Differential Role of Transforming Growth Factor-beta in an Osteoarthritic or a Healthy Joint. J Bone Metab., 25(2): 65-72.

Van Lent PL, Blom, A. B., Van der Kraan, P., Holthuysen, A. E., Vitters, E., Van Rooijen, N., Smeets, R. L., Nabbe, K. C., Van den Berg, W. B., 2004. Crucial Role of Synovial Lining Macrophages in The Promotion of Transforming Growth Factor β-mediated Osteophyte formation. Arthritis Rheum., 50: 103-111.

Vangsness, C. T., Burke, W. S., Narvy, S. J., MacPhee, R. D., Fedenko. A. N., 2011. Human Knee Synovial Fluid Cytokines Correlated with Grade of Knee Osteoarthritis: A Pilot Study. Bull NYU Hosp Jt Dis., 69(2):122-7.

Venkatesh M. P., Anis, S., Pramod, K. T. M., 2013. Design and development of an injectable *in situ* forming drug delivery system of methotrexate for the treatment of rheumatoid arthritis. J Drug Deliv Sci Technol, 23: 445–53

Venkatesh, M. P., Kumar, T. P., Pai, D. R., 2020. Targeted drug delivery of Methotrexate in situ gels for the treatment of Rheumatoid Arthritis. Saudi Pharmaceutical Journal, 28(12), 1548-1557.

Vidotto, V.T., Rocha, R. T., Paiva, C. L., Nardotto, J. R., Farias, A., Stefanes, S.A., 2013. Comparative Study of the Use of Intra-articular and Systemic Meloxicam to Control Experimentally Induced Osteoarthritis in Rabbit Knees. Rev Bras Ortop.,48: 524–531.

Vina, E. R., Kwoh, C. K., 2018. Epidemiology of Osteoarthritis: Literature Update. Curr Opin Rheumatol., 30(2): 160-167.

Vince, K. G., Abdeen, A., Sugimori, T., 2006. The unstable total knee arthroplasty: causes and cures. The Journal of Arthroplasty, 21(4): 44-49.

Vyavahare, Sachin, 2021. A Review: in-situ Gel Drug Delivery System. 9. 2455-6211.

Wagner, S., Fritz, P., Einsele, H., Sell, S., Saal, J. G., 1997. Evaluation of Synovial Cytokine Patterns in Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis by Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction. Rheumatol. Int., 16: 191-196.

Wang, Y., Zhang, Y., Wang, W., Cao, Y., Han, J.S., 2005. Effects of Synchronous or Ssynchronous Electroacupuncture Stimulation with Low Versus High frequency on Spinal Opioid Release and Tail Flick Nociception. Exp. Neurol., 192: 156-162.

Wang, Z., Shmeis, R. A., 2006. Dissolution Controlled Drug Delivery Systems. Des. Control. Release Drug Deliv. Systems., 139-172.

Wataru, K., Yasuhiro, K., Miyazaki, S., Attwood, D., 2004. In Situ Gelling Pectin Formulations for Oral Sustained Delivery of Paracetamol. Drug Develop Ind Pharm., 30: 593-9.

Weil, J., Colin-Jones, D., Langman, M., Lawson, D., Logan, R., Murphy, M., Rawlins, M., Vessey, M., Wainwright, P., 1995. Prophylactic Aspirin and Risk of Peptic Ulcer Bleeding. BMJ., 310: 82730.

Wells, C. M., Harris, M., Choi, L., Murali, V. P., Guerra, F. D., Jennings, J. A., 2019. Stimuli-Responsive Drug Release from Smart Polymers. Journal of Functional Biomaterials, 10(3): 34.

Wen, J., Li, H., Dai, H., Hua, S., Long, X., Li, H., 2023. Ivanovski, S.; Xu, C. Intra-articular Nanoparticles Based Therapies for Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis Management. Mater. Today Bio, 19: 10059.

Wijdicks, C. A., Kennedy, N. I., Goldsmith, M. T., Devitt, B. M., Michalski, M.P., Aroen, A., Engebretsen L., LaPrade R. F., 2013. Kinematic Analysis of the Posterior Cruciate Ligament, Part 2: A Comparison of Anatomic Single-versus Double-bundle Reconstruction. Am J Sports Med., 41(12):2839–48.

Wojdasiewicz, P., Poniatowski, Ł. A., Szukiewicz, D., 2014. The Role of Inflammatory and Anti-inflammatory Cytokines in The Pathogenesis of Osteoarthritis. Mediators Inflammation, 561459. doi: 10.1155/2014/561459.

Woo, S. L-Y., Debski, R. E., Withrow, J. D., Janaushek, M. A., 1999. Biomechanics of Knee Ligaments. The American Journal of Sports Medicine, 27: 4.

Woolfe, G., MacDonald, A. D., 1944. The Evaluation of Analgesic Action of Pethidine Hydrochloride. J Pharmacol Exp Ther,. 80: 300-307.

Wu, C. W., Morrell, M. R., Heinze, E., Concoff, A. L., Wollaston, S. J., Arnold, E. L., Singh, R., Charles, C., Skovrun, M. L., FitzGerald, J. D., Moreland, L. W., & Kalunian, K. C., 2005. Validation of American College of Rheumatology Classification Criteria for Knee Osteoarthritis Using Arthroscopically Defined Cartilage Damage Scores. Seminars in arthritis and rheumatism, 35(3): 197-201.

Xiao, L., Cui, J., Sun, Z., Liu, Y., Zheng, J., Dong, Y., 2022. Therapeutic Potential of Nanotechnology-Based Approaches in Osteoarthritis. Front. Pharmacol., 13: 920824.

Xing, D., Wang, Q., Yang, Z., Hou Y., Zhang, W., Chen, Y., Lin, J., 2018. Evidence-based Guidelines for Intra-articular Injection in Knee Isteoarthritis: Formulating and Evaluating Research Questions. Int J Rheum Dis., 21(8):1533-1542.

Xu, H., Zhao, G., Xia, F., Liu, X., Gong, L., Wen, X., 2019. The diagnosis and treatment of knee osteoarthritis : a literature review. Int J Clin Exp Med., 12(5): 4589-4599.

Yamamoto, T., Nozaki-Taguchi, N., Chiba, T., 2002. Analgesic Effect of Intrathecally Administered Orexin-A in the Rat Formalin Test and in the rat Hot Plate Test. British journal of pharmacology, 137(2): 170-176.

You, T., Nicklas, B. J., 2006. Chronic Inflammation: Role of Adipose Tissue and Modulation by Weight Loss. Curr. Diabetes Rev., 2: 29–37.

Yu, X., Trase, I., Ren, M., Duval, K., Guo, X., Chen, Z., 2016. Design of Nanoparticle-based Carriers for Targeted Drug Delivery, Journal of Nanomaterials, 15: 1087250.

Yannic, B. S., Robert, G., Olivier, J. A., 2008. Novel Thermoresponsive Hydrogel Based on Chitosan. Eur J Pharm Biopharm, 68:19–25.

Yudina, A., Lepetit-Coiffé, M., De Smet, M., Langereis, S., Grüll, H., Moonen, C., 2012. *in vivo* Temperature Controlled Ultrasound-mediated Intracellular Delivery of Cell-impermeable Compounds. J. Control. Release, 161: 90-97.

Yusuf, E., 2016. Pharmacologic and Non-Pharmacologic Treatment of Osteoarthritis. Curr Treat Options in Rheum, 2: 111–125.

Yüce, P., 2019. Adjuvan indüklü temporomandibular eklem osteoartriti üzerinde resveratrolün, kıkırdak destrüksiyonu ve sinoviyal inflamasyon üzerine antiinflamatuar etkisinin histolojik olarak incelenmesi. Uzmanlık Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli. 103 s.

Zhang, R., Ren, K., Dubner R., 2013. Osteoarthritis Pain Mechanisms: Basic Studies in Animal Models. Osteoarthritis Cartilage, 21(9): 1308–1315.

Zhang, Y., Jiang, C., 2021. Postoperative cancer treatments: In-situ delivery system designed on demand. Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society, 330, 554–564.

Zhang, W., Jones, A., Doherty, M. 2004. Does Paracetamol (Acetaminophen) Reduce the Pain of Osteoarthritis? A Meta-analysis of Randomised Controlled Trials. Ann. Rheum. Dis., 63(8): 901-907.

Zhang, W., Nuki, G., Moskowitz, R. W., Abramson, S., Altman, R. D., Arden, N. K., Bierma-Zeinstra, S., Brandt, K. D., Croft, P., Doherty, M., Dougados, M., Hochberg, M., Hunter, D. J., Kwoh, K., Lohmander, L. S., Tugwell, P., 2010. OARSI Recommendations for the Management of Hip and Knee Osteoarthritis: Part III: Changes in Evidence Following Systematic Cumulative Update of Research Published through January 2009. Osteoarthritis Cartilage, 18 (4): 476-499.

Zhang, Y., Jordan, J. M., 2010. Epidemiology of Osteoarthritis. Clin Geriatr Med., 26(3):355-69.

Zhang, Y., Xu, L., Nevitt, M. C., 2001. Comparison of The Prevalence of Knee Osteoarthritis Between the Elderly Chinese Population in Beijing and Whites in The United States: The Beijing Osteoarthritis Study. Arthritis Rheum., 44(9): 2065–71.

Zhang, Z., Huang, G., 2012. Micro and Nano-Carrier Mediated Intra-Articular Drug Delivery Systems for the Treatment of Osteoarthritis, Journal of Nanotechnology, 2012. 10.1155/2012/748909.