

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Temporomandibular Eklem Bozukluklarında Yağ Grefti ve Trombositten Zengin Fibrinin Doku Onarımı Üzerine Kombine Etkisi*

Mehmet KÖSE^{1#}, Senem Esin YAVAŞ², Semiha ERSOY³, Ramazan KAHVECİ¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstruktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Bursa.

² Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp-Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

³ Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Temporomandibular eklem (TME), memeli çenesinin hareketleri için gerekli olan sinoviyal bir eklemdir, vücutta en sık kullanılan eklemlerden biridir. Yaşlı hastalarda primer olarak görülebilen, bazı patolojik durumlarda (travma ve internal derangement) sekonder olarak gelişen osteoartrit TME’de en sık görülen artrit tipidir. TME patolojilerinin, kıkırdak dokunun histolojik yapısı gereği iyileşme potansiyeli düşük olduğu için, klinik tedavileri sınırlıdır. Bu çalışmada farklı hücelere dönüşme potansiyeli olan yağ doku kaynaklı kök hücrelerin, birçok büyüme faktörü barındıran Trombositten Zengin Fibrin (PRF) ile uyarılarak, hasar oluşturulan TME kıkırdak üzerindeki kombine etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada tavşanların her iki TME eklem disk laterallerinde 3 mm’lik defektler oluşturuldu. Sağ tarafa ense-sırt bölgesinden alınan yağ grefti ve tavşanın kendi kanından hazırlanan PRF yerleştirildi, sol tarafı sham grubu olarak planlanıp başka işlem yapılmadan kapatıldı. 8 hafta sonunda eklem kondil ve diskleri çıkarıldı, Hematoksilen&Eozin (H&E) ve Safranin O-Fast Green metodları ile boyanarak incelendi. Her iki grup için eklem yüzey yapısı, kondrosit yoğunluğu, hücre kümelenmesi ve Safranin O-Fast Green boyanma kaybı histopatolojik olarak derecelendirildi. Değerlendirilen parametreler arasında anlamlı fark saptanmadığı için, deneysel TME defekt modelinin onarımında yağ grefti ve PRF kombinasyonu etkili bulunmadı.

Anahtar Kelimeler: Temporomandibular Eklem. Yağ Grefti. Trombositten Zengin Fibrin.

Combined Effect of Fat Graft and Platelet-Rich Fibrin on Tissue Recovery in Temporomandibular Joint Defects

ABSTRACT

Temporomandibular joint (TMJ), is a synovial joint necessary for the movements of mammal chin and one of the most frequently utilized joints of the body. Osteoarthritis that is formed primarily on elder patients or secondarily on some pathological cases (trauma and internal derangement) is the most common type of arthritis of TMJ. Recovery potential of TMJ pathologies is low due to the histological structure of the cartilage tissue and therefore, clinical treatment of these pathologies is limited. In this study, the effects of fat tissue-derived stem cells that have the ability to differentiate into different cells and is stimulated with Platelet-Rich Fibrin (PRF) that contains many growth factors on artificially damaged TMJ is investigated. In this study, 3 mm defects were created on the lateral sides of both TMJ discs of the rabbits. Fat grafts obtained from the neck-dorsal region and PRF prepared from the rabbits’ own blood were placed on the right side and the left side of each rabbit is planned as the sham group and closed without further treatment. After eight weeks, joint condyles and discs were removed, stained with Haematoxylen&Eosin (H&E) and Safranin O/Fast Green and histologically examined. Joint surface structures, chondrocyte densities, cell aggregations and losses of Safranin O/Fast Green staining of both of the groups were scored histopathologically. There was no significant difference between investigated parameters and thus, fat graft and PRF combination wasn’t concluded to be effective on experimental TMJ defect model recovery.

Key Words: Temporomandibular Joint. Fat Graft. Platelet-Rich Fibrin.

Geliş Tarihi: 22.Eylül.2020
Kabul Tarihi:03.Kasım.2020

Dr. Semiha ERSOY
Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,
Bursa.
Tel: 0 224 295 40 63
E-posta: semihaersoy@uludag.edu.tr

* X. Ulusal & Uluslararası Veteriner Patoloji Kongresi’nde (27-31 Ekim 2020, Burdur, Online) Sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Güncel Adres: Dr. Mehmet KÖSE Serbest Hekim olarak çalışmaktadır.

Yazarların ORCID ID Bilgisi:

Mehmet KÖSE: 0000-0003-2148-2355
Senem Esin YAVAŞ: 0000-0002-6949-1210
Semiha ERSOY: 0000-0002-6419-0304
Ramazan KAHVECİ: 0000-0002-3746-6280

Temporomandibular eklem (TME), mandibular kondili temporal eklem yüzeyine bağlayan sinoviyal eklemdir. İnsan vücudunda en sık kullanılan eklemlerden biridir. Bu eklem kondiler kırıkdağı, eklem yüklenerek mekanik hasardan koruyan yoğun kollajen lifleri ve hücre dışı proteoglikanları içeren avasküler, sıkıştırılabilir bir dokudur. Kollajen lifleri esas olarak tip I ve tip II kollajenden oluşur ve kayma gerilimine direnç sağlayacak şekilde hizalanmıştır¹. Bu eklemi en sık etkileyen patolojik durumlar; travmalar, inflamatuvar ve dejeneratif hastalıklardır. Eklem diskinin yer değiştirmesi (internal derangement), geçirilen cerrahi işlemler, osteoartrit, inflamatuvar hastalıklar farklı mekanizmalarla disk ve eklem yüzeylerinde hasara neden olmaktadır².

Temporomandibular eklem osteoartriti (TME OA) farklı patolojilere sekonder veya yaşlanma nedeniyle eklem kırıkdağı ve etraf dokuların hasarlanması ile oluşan yaygın dejeneratif bir hastalıktır¹. Osteoartritte artiküler kırıkdağı erozyonları ve fibrilasyonlarının yanı sıra artiküler kondrositlerin kümelenmesi gözlenir³. TME OA'nde tipik olarak eklem kırıkdağı yüzeylerinde ilk fibrilasyon vardır, ancak sonunda kırıkdağı doku tamamen kaybolur. Açığa çıkan kemik incelik ve sinoviyal sıvı, mikro delikler yoluyla kemik iliğine girebilir. Bu durum, kondiler şeklin kademeli olarak değiştiği kavitasyon ve erozyona neden olabilir⁴.

TME OA patogenezi ve altta yatan moleküler mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır. TME OA için güncel tedaviler kırıkdağı ve subkondral kemiğin yıkımını önlemeyi, eklem ağrısını hafifletmeyi ve TME işlevini geri kazanmayı amaçlamaktadır. Klinikte fiziksel tedaviler, oklüzal ateller, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler), şiddetli semptomları olan hastalara cerrahi müdahale uygulanmaktadır. Ancak tüm bu tedaviler hastalığın ilerleyişini kısmen durdurursa da disk hasarından kaynaklanan fonksiyonel bozulmayı tümüyle geri kazandıramamaktadır¹.

Hüresel tedavi yöntemlerinin yaygınlaşması ve kolay elde edilebilmeleri, yüksek farklılaşma potansiyelleri nedeniyle kök hücrelerin bir alt popülasyonu olan mezenkimal kök hücreler, doku rejenerasyonu alanında araştırılan ve çalışılan hücreler haline gelmiştir. Mezenkimal kök hücreler; iskelet kası, yağ dokusu, plasenta, kemik, süt dişleri gibi çeşitli dokularda tanımlanmıştır¹. Yağ doku kaynaklı kök hücrelerin, kolay elde edilebilmeleri, kemik iliğindeki mezenkimal kök hücrelere kıyasla daha yüksek oranda bulunmaları ve belirgin olarak daha hızlı çoğalabilmeleri gibi kendilerine özgü avantajları vardır⁵. Yağ dokusunda bulunan kök hücrelerin insülin benzeri büyüme faktörü, hepatosit büyüme faktörü, TGF beta1 büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü salgıladığı bilinmektedir. Ancak bu faktörlerin yağ grefti uygulamalarında gözlenen anti-inflamatuvar, anti-

apoptotik, damarlanmayı artırıcı ve fibrozisi azaltıcı etkilerinin moleküler mekanizması henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır⁶.

Chuoukroun ve arkadaşları tarafından geliştirilen trombosit zengin fibrin (PRF), antikoagülansız cam tüp kullanılarak kanın santrifüjü ile hazırlanan fibrin açısından zengin otolog bir jeldir⁷. Çeşitli büyüme faktörlerini yüksek seviyelerde içeren ikinci nesil bir trombosit konsantresidir. Büyüme faktörlerini kademeli olarak serbest bırakır ve aktivitesini 2 haftadan fazla korur. PRF ayrıca hücre proliferasyonu ve farklılaşması için bir iskele görevi gören fibrin çerçevedir⁸. Bir köpek modelinde, PRF uygulanmış eklem kırıkdağı hasarının PRF uygulanmayanlara göre daha iyi rejenerasyon gösterdiği bildirilmiştir⁹. Hasarlı TME kırıkdağı onarımında BMP2'nin (Bone Morphogenetic Protein)¹⁰ ve FGF2 (Fibroblast Growth Factor)'nin¹¹ de onarıcı etkisinin olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır.

Biz de bu çalışmamızda yağ grefti içerisindeki kök hücrelerin PRF ile etkileştiklerinde, hasarlı TME kırıkdağı üzerindeki kombine etkilerini araştırmayı hedefledik.

Gereç ve Yöntem

Deney Hayvanları

Çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 11.07.2018 tarihli, 2018-09/01 no'lu kararı ile uygun bulunmuştur. Çalışmada Bursa Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen ağırlıkları 2500-2750 gr arasında olan 10 adet yetişkin Yeni Zelanda Beyazı ırkı erkek ve dişi tavşan kullanıldı. Tavşanlara 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık sağlanan standart laboratuvar koşullarında, ad libitum standart tavşan yemi ve su sağlanarak bakıldı.

Eklem Dejenerasyon Modeli

Tüm deneklerde anestezi için 4mg/kg Ketamine (Ketalar, Pfizer) ve 20 mg/kg Xylazine %2 (Basilazin, baVET İlaç ve San. Ve Tic. A. Ş.) intramusküler uygulandı. Tavşan lateral kantus posteriorundan dış kulak yoluna çizilen horizontal bir çizgi üzerinden yaklaşık 2 cm'lik insizyon yapıldı. Yumuşak doku disseksiyonunun ardından süperior eklem boşluğuna ulaşarak disk retrakte edildi. 3 mm'lik "punch" biyopsi aletiyle diskin lateralinde bir defekt oluşturularak eklem dejenerasyon modeli oluşturuldu.

Yağ Grefti ve PRF Eldesi

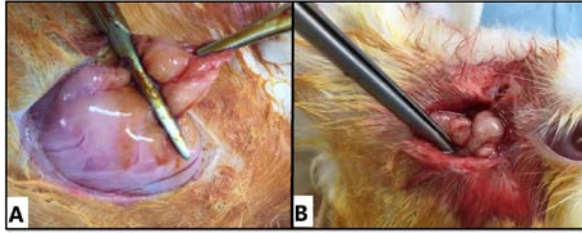
Mazzetti ve ark.'nın çalışmasındaki gibi¹², deneklerin ense-sırt bileşke bölgesinde yapılan yaklaşık 2 cm'lik insizyonla ulaşılan yağ dokusundan 1x1 cm'lik yağ greftleri elde edildi (Şekil 1a). Aurikuler venden cam

TME Bozukluklarında Yağ Grefti ve PRF

tüpe alınan 10 ml kan ile uygun santrifüj yöntemi kullanılarak⁷ PRF elde edildi.

Çalışma Grupları

Çalışmada 10 denek kullanıldı. 9 deneğin her iki TME diskinde ve kondil eklem yüzeyinde hasar oluşturuldu. 1 denek sağlam yapıyı incelemek üzere seçildi (kontrol grubu). Sağ eklem boşluğuna sırttan elde edilen yağ grefti, PRF ile karıştırılarak uygulandı (deney grubu) (Şekil 1b). Sol eklem başka işlem uygulanmadı (sham grubu). Kesiler 4.0 prolen sütür ile dikildi. 8 haftalık bekleme sürecinin ardından 10 denek dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. 1 deneğin eklemde enfeksiyon olduğundan, doku elde edilemedi.



Şekil 1.

Deneklerden yağ dokusu greftinin elde edilmesi (A), Sağ eklem boşluğuna yağ grefti ve PRF karışımının uygulanması (B).

Histopatolojik İnceleme

9 denekten elde edilen toplam 18 kondil, ışık mikroskopunda incelenmek üzere %10'luk formalin ile fikse edildi. Ardından dekalsifikasyon işlemi için nötral EDTA solüsyonu uygulandı. Dokulardan kalsiyum uzaklaştırıldıktan sonra doku takibi işlemine geçildi.

8 denekten çıkarılan sağ (deney grubu) ve sol (sham grubu) kondil-disk dokularına ait parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan seri kesitler, 1 gece boyunca 60°C'lik etüvde bekletildi ve ksilen ile deparafinize edildikten sonra boyamalar uygulandı. Hematoksilin-Eozin boyamalarında kondilin histolojik yapısı, kondrosit yoğunluğu ve kondrosit kümelenmeleri incelendi. Safranin O-Fast Green boyamalarında ise ilave olarak özellikle kırırdağ doku matrisi komponentlerinden olan kollajen lifler ve matrisi proteoglikanları değerlendirildi. Hiçbir işlem yapılmayan 1 denekten alınan dokular ise, sağlam kondil-disk dokularını görmek ve diğer gruplar ile karşılaştırma yapmak amacıyla kontrol olarak kullanıldı.

Kriterlere ve değerlendirmelere ait preparatlardan Olympus BX50 fotomikroskop ile görüntüler elde edildi.

Histopatolojik Skorlama

Çalışmamızdaki osteoartritik değişiklikleri doğrulamak için, bir histolojik skorlama sistemi (OARSI) seçildi¹³ (Tablo I). Genel yapı, kondrosit yoğunluğu,

hücrel kümelenme, Safranin O-Fast Green boyanma kaybı parametreleri iki araştırmacı tarafından kör bir şekilde puanlandı.

Tablo I. OARSI skorlaması

Parametreler
Yapı skorlaması
0 = normal
1 = yüzey düzensizlikleri
2 = yüzeyin % 50'sinden azında, yarıklar
3 = yüzeyin % 50'si ve fazlasında, yarıklar
4 = yüzeyin % 50'sinden azında, hiyalin kırırdağın 1/3'ünde aşınma
5 = yüzeyin % 50'si ve fazlasında, hiyalin kırırdağın 1/3'ünde aşınma
6 = yüzeyin % 50'sinden azında, hiyalin kırırdağın 2/3'ünde aşınma
7 = yüzeyin % 50'si ve fazlasında, hiyalin kırırdağın 2/3'ünde aşınma
8 = yüzeyin % 50'sinden azında, hiyalin kırırdağda tam derin aşınma
9 = yüzeyin % 50'si ve fazlasında, hiyalin kırırdağda tam derin aşınma
10 = yüzeyin %50'sinden azında, subkondral kemiğin kalsifiye kırırdağında ve hiyalin kırırdağda tam derin aşınma
11 = yüzeyin %50'si ve fazlasında, subkondral kemiğin kalsifiye kırırdağında ve hiyalin kırırdağda tam derin aşınma
Kondrosit yoğunluğu skorlaması
0 = hücrelerde azalma yok
1 = hücrelerde fokal azalma
2 = hücrelerde multifokal azalma
3 = hücrelerde konfluent multifokal azalma
4 = Hücrelerde diffüz azalma
Kondrositlerde kümelenme skorlaması
0 = normal
1 = kümelenme < 4
2 = 4 ≤ kümelenme < 8
3 = 8 ≤ kümelenme
Safranin O - Fast Green boyanma kaybı
0 = eklem kırırdağı boyunca üniform boyanma
1 = kondil boyunun % 50'sinden azında, hiyalin kırırdağ yüzeyinde boyanma kaybı
2 = kondil boyunun % 50'si ve fazlasında, hiyalin kırırdağ yüzeyinde boyanma kaybı
3 = kondil boyunun % 50'sinden azında, hiyalin kırırdağın üst 2/3'ünde boyanma kaybı
4 = kondil boyunun % 50'si ve fazlasında, hiyalin kırırdağın üst 2/3'ünde boyanma kaybı
5 = kondil boyunun % 50'sinden azında, tüm hiyalin kırırdağda boyanma kaybı
6 = kondil boyunun % 50'si ve fazlasında, tüm hiyalin kırırdağda boyanma kaybı

İstatistiksel Analiz

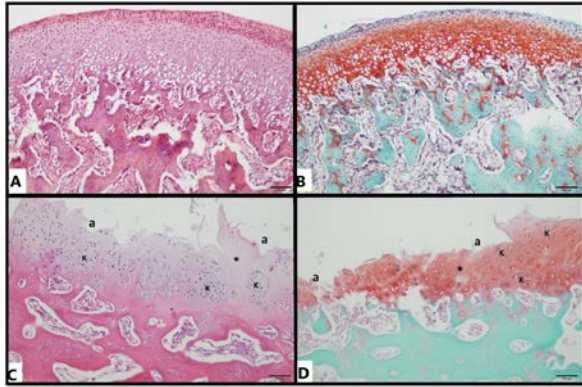
Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro-Wilk testi ile test edilmiş, normal dağılıma sahip özelliklerin 2 bağımsız grupta karşılaştırılmasında Independent Sample Test, normal dağılmayan özelliklerin 2 bağımsız grupta karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için ortalama ± standart sapma, İstatistiksel analizler için SPSS Windows version 22.0 paket programı kullanılmış ve P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular

Hematoksilen-Eozin ve Safranin O-Fast Green ile boyanmış kontrol deneğine ait sağlam kondil histolojisi ve boyanma özellikleri Şekil 2a ve b'de görülmektedir. Deney ve sham gruplarına ait boyanmış kondil kesitlerinde ise; çeşitli derecelerde olmak üzere (Tablo II) yüzey düzensizlikleri ve fissürler, kondrosit kümelerinin oluşumu, hücrelerde fokal azalma, boyanmada azalma gibi osteoartrit klasik histopatolojik özellikleri Şekil 2c ve d'de izlenmektedir. Deney ve sham gruplarına ait skorlamaların istatistiksel değerlendirme sonuçları Tablo III'te verilmiştir.

Tablo II. Histopatolojik skorlama değerleri

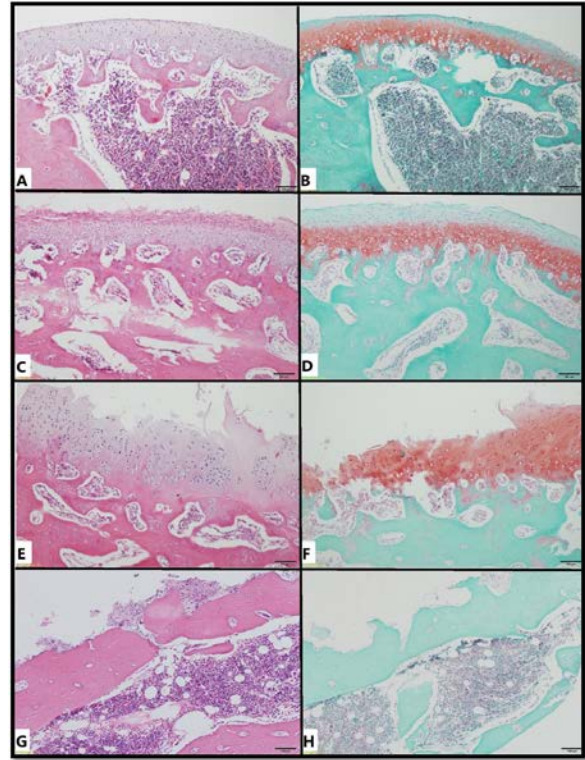
Kondil Değerlendirmesi	Yapı	Kondrosit yoğunluğu	Kümeleme	Boyanma kaybı
Kontrol	Sol/Sağ	0/0	0/0	0/0
1	Sol/Sağ	6/4	1/2	4/4
2	Sol/Sağ	7/9	2/4	4/5
3	Sol/Sağ	9/10	4/4	6/6
4	Sol/Sağ	7/4	3/1	5/3
5	Sol/Sağ	7/6	2/2	4/3
6	Sol/Sağ	5/11	1/4	4/6
7	Sol/Sağ	11/11	4/4	6/6
8	Sol/Sağ	1/6	1/3	3/3



Şekil 2.

Sağlam kondil histolojisi (A-B), TME osteoartrit histopatolojisi (C-D); yüzey düzensizlikleri, fissürler ve aşınma (a), kondrosit kümeleri (K), hücrelerde fokal azalma (*). H&E (A,C), Safranin O-Fast Green (B,D).

0 ile 11 arasında skorlanan kondillerdeki yapısal değişiklikler; yüzeyel aşınmadan tam derin erozyona kadar değişen derecelerde izlendi (Şekil 3a-h). Ancak deney ve sham grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo III) (Şekil 7a).



Şekil 3.

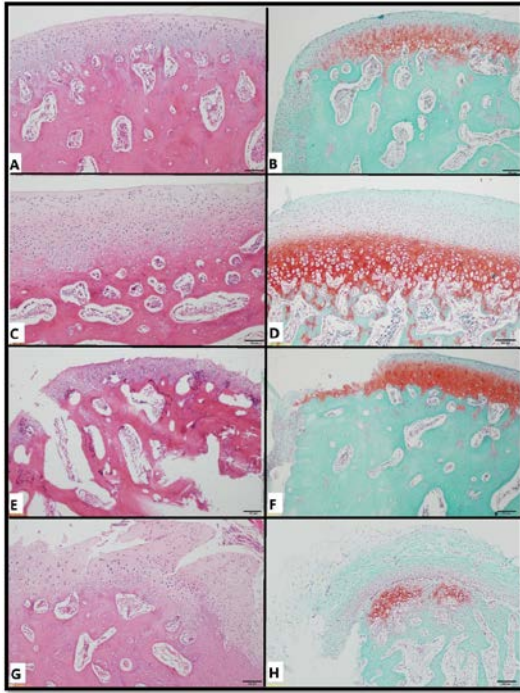
Yapısal değişiklik; Skor 1 (A-B), Skor 4 (C-D), Skor 7 (E-F), Skor 11 (G-H). H&E (A,C,E,G), Safranin O-Fast Green (B,D,F,H).

Tablo III. Histopatolojik skorlamaların ortalama, medyan ve P değerleri

	Deney (n=8)		Sham (n=8)		P
	Ort±SS.	Medyan	Ort±SS.	Medyan	
YAPI *Independent Sample Test	6,62±2,92	7	7,62±2,97	7,5	0,509*
KONDROSİT YOĞUNLUĞUNDA AZALMA *Mann Whitney U Test	2,28±1,28	2	3±1,19	3,5	0,228*
KONDROSİT KÜMELENMESİ *Mann Whitney U Test	1,75±1,77	1,5	2±1,19	2,5	0,655*
BOYANMA KAYBI *Mann Whitney U Test	7,62±1,05	7,5	6,62±1,03	7	0,913*

Kondrosit yoğunluğu/kaybı, 0 ile 4 arasında skorlandırıldı. Kondrosit kaybının olduğu alanlar, asellüler bölgeler olarak izlendi (Şekil 4a-h). Gruplar (deney ile sham) arasında bu kriter için hesaplanan fark ($p>0.05$) (Tablo III), istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Şekil 7b).

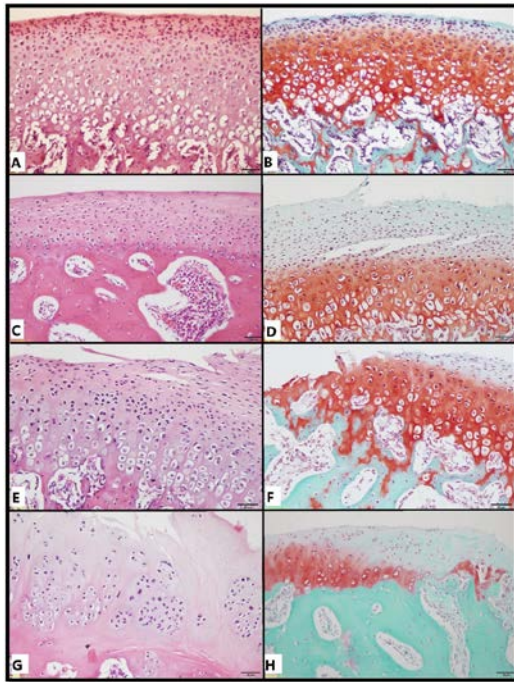
TME Bozukluklarında Yağ Grefti ve PRF



Şekil 4.

Kondrosit yoğunluğunda azalma; Skor 1 (A-B), Skor 2 (C-D), Skor 3 (E-F), Skor 4 (G-H). H&E (A,C,E,G), Safranin O-Fast Green (B,D,F,H).

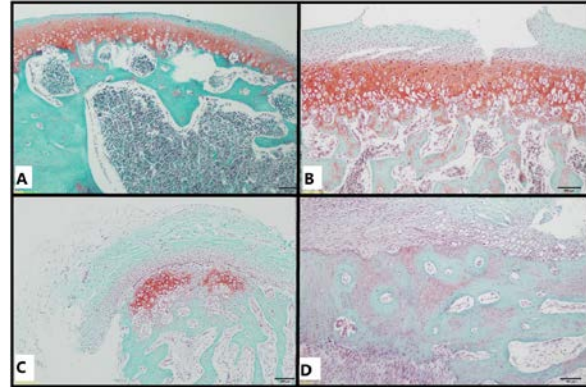
0 ile 3 arasında skorlandırılan kondrosit hücre kümelenmesi Şekil 5a-h'de izlenmektedir. Bu parametre yönünden deney ve sham grupları arasında belirlenen fark ($p>0.05$), istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo III) (Şekil 7c).



Şekil 5.

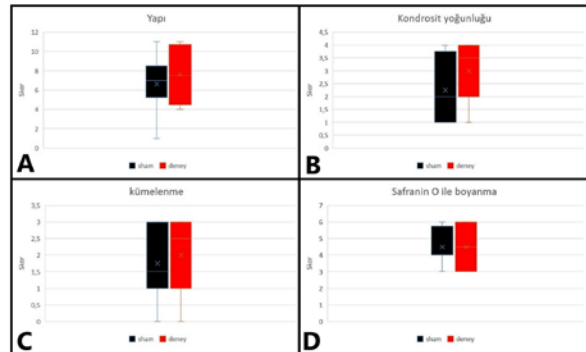
Kümelenme; Skor 0 (A-B), Skor 1 (C-D), Skor 2 (E-F), Skor 3 (G-H). H&E (A,C,E,G), Safranin O-Fast Green (B,D,F,H).

Yapısal/hücreyel değişikliklere ek olarak, kırık doku matrisi komponentlerinden olan kollajen lifler ve matrisi proteoglikanları Safranin O-Fast Green boyaması ile değerlendirildi. Kontrol deneye ait sağlam kondil örneğinde Safranin O boyamasının homojen olarak dağıldığı gözlemlendi (Şekil 1b). 0 ile 6 arasında skorlanan deney ve sham gruplarında ise kondilin üst 1/3-2/3'ünde değişen bir boyanma kaybı belirlendi (Şekil 6a-d). Her iki grup arasında Safranin O-Fast Green boyamaları ile kırık dokusundaki boyanma kaybında izlenen fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo III) (Şekil 7d).



Şekil 6.

Boyanma kaybı; Skor 3 (A), Skor 4 (B), Skor 5 (C), Skor 6 (D). Safranin O-Fast Green.



Şekil 7.

Deney ve sham gruplarının skor değerlendirmesi ve ortalama değerleri grafiği. Yapısal değişiklikler (A), kondrosit yoğunluğunda azalma (B), kümelenme (C), boyanma kaybı (D).

Bazı deneklerde kondiler kırık doku matrisindeki şiddetli osteoartritrik yapısal değişiklikler; subkondral kemiğe kadar derin erozyon ve yaygın hücre kaybı şeklinde (Skor 11) gözlenmiştir (Şekil 3g,h). Kırık doku erozyonu sebebiyle proteoglikan içeriğinin kaybı, Safranin O boyanmasına tam silinme olarak yansımıştır (Şekil 3h).

Tartışma ve Sonuç

OA gelişimi hakkında yaygın olarak kabul edilen teori, uygulanan kuvvetlerin eklem yüzeyinin potansiyelini

aşması sonucu bozulmaya yol açmasıdır. Mandibula-
nın postero-superior yer değiştirmesi kalıcı aşırı yük-
lenmeyle, TME'in yük potansiyelini aşabilir ve disk
deformitesinde progresif bir artışa yol açabilir⁴. Disk
patolojilerinin osteoartritini nedeni mi yoksa sonucu
mu olduğu ise net değildir, etiyolojik faktörlerin ikisi-
ne birden neden olduğu düşünülmektedir¹⁴. Bir çalış-
mada, disk patolojilerinden kaynaklanan TME osteo-
artritinin hayvan modeli tasarlanmış, patolojik diskin
eklem yumuşak dokusunda heterotrofik kemikleşmeye
ve kondilde deformiteye neden olduğu gösterilmiştir².

Çalışmamızda da, disk patolojilerinden kaynaklanan
eklem dejenerasyon modeli uygulandı. Histopatolojik
olarak değerlendirilen kondillerde yüzey yapısında
bozulmalar, kondrosit kümelenmesi, kondrosit yoğun-
luğu ve Safranin O-Fast Green ile boyanma kaybı
olarak izlenen değişikliklere bağlı olarak, dejeneras-
yon modelinin başarılı bir şekilde oluşturulduğu düşü-
nüldü.

Kalay ve ark.'nın çalışmasında¹⁵, yağ grefti uygulanan
eklemlerde makroskopik olarak daha iyi iyileşme
belirtileri gözlemlense de, mikroskopik bulgularla yapılan
değerlendirmede bu veriler anlamlılığa ulaşmamıştır.
Bir başka çalışmada ise; insan yağ dokusu kaynaklı
kök hücrelerin ekstrasellüler vezikülleri (hASC-
EV)'nin kıkırdak dejenerasyondan etkili bir şekilde
koruduğu ve OA progresyonunu zayıflattığı gösteril-
miştir¹⁶.

Kütük ve ark.¹⁷ nin yaptığı çalışmada; PRP'nin eklem
yüzeyleri üzerine etkisi araştırılmış, istatistiksel olarak
anamlı bir sonuca ulaşılmasa da, mikroskopik görün-
tülerde PRP'nin kıkırdak iyileşmesi üzerine pozitif
etkisinin görüldüğü bildirilmiştir. Klasik PRP üreti-
minde kanın pıhtılaşmasını engellemek için kullanılan
ajanlar yara iyileşmesini olumsuz etkilediğinden,
çalışmamızda ikinci nesil trombosit konsantresi PRF
tercih edilmiştir. Ayrıca PRF, PRP'ye göre daha yük-
sek miktarlarda TGF-1 salgılar, büyüme faktörlerini
daha uzun süre serbest bırakır ve daha güçlü bir hücre
göçü indüksiyonuna sahiptir¹⁸. Bir köpek modelinde,
PRF uygulanan eklem kıkırdak kusurlarının, PRF'siz
olanlara göre daha iyi rejenerasyon gösterdiği bildi-
rilmiştir⁹.

Tavşanlar genellikle kıkırdak rejenerasyonunu değer-
lendirme çalışmalarında kullanılmakla birlikte, 3
mm'lik defektlerin kendiliğinden iyileşme gösterdiği
bildirilmiştir¹⁹. Çalışmamızda olumlu rejeneratif etki
saptanmaması; bildirilen bu spontan iyileşme nedeni-
yle olabileceği gibi, TME'in tavşanlarda beslenme
amaçlı gün boyu aktif olması ve hareket nedeniyle
çevreden yeterli vaskülarizasyonun sağlanamaması
nedeniyle de olabilir.

Maruyama ve ark.⁸, tavşan tibiasında oluşturulan de-
fekte PRF ve PRP'nin rejenerasyona etkisini karşılaştı-
rmış ve PRF'yi anlamlı olarak etkili bulmuşlardır ve
benzeri hareketsiz yapılarıdaki çalışma sonuçlarının
daha iyi olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca kemik iliği

kaynaklı kök hücrelere kıyasla, yağ dokusu kaynaklı
kök hücrelerin PRP uyarımına karşı daha düşük bir
tepkiye sahip oldukları, in vitro ve in vivo kondrojenik
farklılaşmada etkilerinin daha sınırlı olduğu bildiril-
miştir²⁰. Bu iki çalışma bulguları da çalışmamızın
sonuçlarını destekler niteliktedir.

Barındırdığı kendine has morfolojik özellikleri nede-
niyle, benzer kıkırdak dokulardan alınan otoplastlar
TME diskinin yerini tutamamaktadır. Yaşam için son
derece önemli ve bir o kadar da aktif kullanımı olan
TME'in dejenerasyonlarında onarımın sağlanabilmesi
hem klinik uygulamada hastaların iyileştirilmesinde,
hem de rejeneratif tıp alanında yeni uygulamaların
hayata geçirilmesi açısından son derece önem taşı-
maktadır. Sonuç olarak; TME hasarlarında kök hücre-
lerden zengin yağ dokusu greftlerinin PRF gibi kök
hücreleri aktive ettiği düşünülen kombinasyonlar ile,
hasarlı eklem ve bunlara ev sahipliği yapan bölge
arasında hareketsizliğin ve dolaylı olarak vaskülariz-
asyonun da korunduğu çalışmalar ile iyileşmenin
daha iyi sağlanabileceği düşünüldü.

Etik Kurul Onay Bilgisi:

Onaylayan Kurul: Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri
Yerel Etik Kurulu.

Onay Tarihi: 11.07.2018

Karar No: 2018 – 09/01

Teşekkür

Histolojik kesitlerin preparasyonuna katkıları için
Biyolog Ayşe AKBAŞ'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Cui D, Li H, Xu X, et al. Mesenchymal stem cells for cartilage regeneration of TMJ Osteoarthritis. *Stem Cells Int* 2017;Article ID 5979741, 11.
2. Embree MC, Iwaoka GM, Kong D, et al. Soft tissue ossification and condylar cartilage degeneration following TMJ disc perforation in a rabbit pilot study. *Osteoarthritis Cartilage* 2015;23:629-39.
3. Huang H, Shank G, Ma L, Tallents RH, Kyrkanides S. Nerve growth factor induced after temporomandibular joint inflammation decelerates chondrocyte differentiation. *Oral Dis* 2013;19:604-10.
4. Imai H, Sakamoto I, Yoda T, Yamashita Y. A model for internal derangement and osteoarthritis of the temporomandibular joint with experimental traction of the mandibular ramus in rabbit. *Oral Dis* 2001;7:185-91.
5. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell based therapies. *Tissue Eng* 2001;7:211-28.
6. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res* 2007;100:1249-60.
7. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. The opportunity in perio-implantology: the PRF [in French]. *Implantodontie* 2001; 42:55-62.
8. Maruyama M, Satake H, Suzuki T, et al. Comparison of the effects of osteochondral autograft transplantation with platelet rich-plasma or platelet-rich fibrin on osteochondral defects in a rabbit model. *Am J Sports Med* 2017; 45:3280-8.

TME Bozukluklarında Yağ Grefti ve PRF

9. Kazemi D, Fakhrou A, Dizaji VM, Alishahi MK. Effect of autologous platelet rich fibrin on the healing of experimental articular cartilage defects of the knee in an animal model. *Bio-med Res Int* 2014;2014:486436.
10. Suzuki T, Bessho K, Fujimura K, et al. Regeneration of defects in the articular cartilage in rabbit temporomandibular joints by bone morphogenetic protein-2. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2002;40:201-6.
11. Takafuji H, Suzuki T, Okubo Y, Fujimura K, Bessho K. Regeneration of articular cartilage defects in the temporomandibular joint of rabbits by fibroblast growth factor-2: a pilot study. *Int J Oral and Maxillofacial Surg* 2007;36:934-7.
12. Mazzetti MPV, Oliveira IS, Miranda-Ferreira R, et al. Qualitative and quantitative analysis of rabbit's fat mesenchymal stem cells. *Acta Cir Bras* 2010;25(1):24-7.
13. Laverty S, Girard CA, Williams JM, Hunziker EB, Pritzker KPH. The OARSI histopathology initiative-recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rabbit. *Osteoarthritis Cartilage* 2010;18:53-65.
14. Murphy MK, MacBarb RF, Wong ME, Athanasiou KA. Temporomandibular joint disorders: A review of etiology, clinical management, and tissue engineering strategies. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;28(6):393-414.
15. Kalay A, Kahveci R, Kahveci Z, Halk KZ. Temporomandibular Eklem Disk Bozukluklarında Yağ Greftinin Etkisi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2018;44(3):159-66.
16. Woo CH, Kim HK, Jung GY, et al. Small extracellular vesicles from human adipose-derived stem cells attenuate cartilage degeneration. *J Extracell Vesicles* 2020;9(1): 1735249.
17. Kütük N, Baş B, Soylu E, et al. Effect of platelet-rich plasma on fibrocartilage, cartilage, and bone repair in temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 2014;72:277-84.
18. Schär MO, Diaz-Romero J, Kohl S, Zumstein MA, Nestic D. Platelet-rich concentrates differentially release growth factors and induce cell migration in vitro. *Clin Orthop Relat Res* 2015;473(5):1635-43.
19. Lietman SA, Miyamoto S, Brown PR, Inoue N, Reddi AH. The temporal sequence of spontaneous repair of osteochondral defects in the knees of rabbits is dependent on the geometry of the defect. *J Bone Joint Surg Br* 2002;84(4):600-6.
20. Xie X, Wang Y, Zhao C, et al. Comparative evaluation of MSCs from bone marrow and adipose tissue seeded in PRP-derived scaffold for cartilage regeneration. *Biomaterials* 2012;33:7008-18.

