



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TRAVMATİK KALÇA ÇIKIĞI MODELİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA TROMBOSİTTEN
ZENGİN PLAZMANIN KONDROSİT İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Toktamış SAVAŞ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ**

Tez Ocak-2020

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TRAVMATİK KALÇA ÇIKIĞI MODELİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA TROMBOSİT
DEN
ZENGİN PLAZMANIN KONDROSİT İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Toktamış SAVAŞ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ**

TEZ ONAY SAYFASI

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

TRAVMATİK KALÇA ÇIKIĞI MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA TROMBOSİT DEN ZENGİN PLAZMANIN KONDROSİT İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Toktamış SAVAŞ

13/01/2020

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Yusuf Zeki ÇELEN
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Doç. Dr. Volkan KILINÇOĞLU
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ:

- 1.Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ
- 2.Dr. Öğr. Üyesi Burçin KARSLI
- 3.Dr. Öğr. Üyesi Duran TOPAK

I. ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim süresince desteklerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ, Prof. Dr. Mehmet Ömer ARPACIOĞLU, Prof. Dr. Günhan KARAKURUM, Doç. Dr. Savaş GÜNER, Doç. Dr. Volkan KILINÇOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Burçin KARSLI ve birlikte çalıştığımız değerli asistan arkadaşlarıma şükran ve saygılarımı sunarım.

Tezimin hazırlanması süresince desteği ve sabrından dolayı tez danışmanım Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ'ye saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamım boyunca her zaman yanımda olan, benden sevgi ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve her zaman, her şartta yanımda olan benden sevgisini, bilgisini ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Dr. Nurcihan'a varlığıyla en büyük motivasyon kaynağım olan oğlum Ahmet Baybars'a ve kızım Merih Ece'ye sonsuz şükranlarımı ve sevgilerimi sunarım.

Toktamış Savaş
Gaziantep 2020

II. İÇİNDEKİLER

I.ÖNSÖZ	I
II.İÇİNDEKİLER	II
III.ÖZET	V
IV.ABSTRACT	VI
V.KISALTMALAR.....	VII
VI.TABLO LİSTESİ.....	IX
VII.GRAFİK LİSTESİ.....	X
VIII.ŞEKİL LİSTESİ.....	XI
IX.RESİM LİSTESİ.....	XII
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kalça Anatomisi	3
2.1.1. Asetabulum	3
2.1.2. Femur.....	4
2.1.3. Eklem Kapsülü ve Bağları.....	5
2.1.3.1. İliofemoral Ligament.....	5
2.1.3.2. Pubofemoral Ligament.....	5
2.1.3.3.İskiofemoral Ligament	6
2.1.3.4. Kapitis Femoris Ligamenti (Ligamentum Teres)	6
2.1.3.5. Transvers Asetabular Ligament	6
2.1.4. Kalça Kasları	7
2.1.4.1. İnsan Kalça Kasları.....	7
2.1.4.1.1. İliopsoas Grup	7
2.1.4.1.2.Gluteal Grup.....	7
2.1.4.1.3. Obturatuvar Grup.....	9
2.1.4.2. Sıçan Kalça Kasları	9
2.1.4.2.1. İliopsoas Grup	9
2.1.4.2.2. Gluteal Grup.....	11

2.1.4.2.3. Obturatuvar Grup.....	12
2.2. Kıkırdak Dokusu:	12
2.2.1.Kıkırdak Zonları	13
2.2.1.1 Süperfisyal tanjansiyel (Gliding) zon.....	13
2.2.1.2. Orta (Transizyonel) Zon.....	13
2.2.1.3. Derin (Radyal) Zon.....	13
2.2.1.4. Kalsifiye Kıkırdak Zonu	13
2.2.2. Kondrosit Yapı ve Fonksiyonu.....	14
2.2.3. Kıkırdak Matriksi Yapı ve Fonksiyonu	15
2.2.4. Osteokondral Plak Yapı ve Fonksiyonu.....	20
2.2.5. Subkondral Kemik	20
2.2.6. Eklem Kıkırdağının Histobiyokimyasal Özellikleri	21
2.3. İnsan Kalçası Biyomekaniği.....	23
2.4. Apoptozis	24
2.4.1. Apoptozis Mekanizmaları	26
2.4.1.1. Apoptozun Mitokondri (İntrensek) Yolağı	26
2.4.1.2. Apoptozun Ölüm Reseptörü (Ekstrensek) Yolağı	27
2.4.1.3. Kaspazların Aktivasyonu ve Fonksiyonu	28
2.4.2. Apoptotik Proteinler.....	30
2.4.2.1. Sitokrom c.....	30
2.4.2.2. Apoptozis Başlatıcı Faktör (AIF).....	30
2.4.2.3. Anti-Apoptotik Proteinler	30
2.4.2.3.1. p53.....	30
2.4.2.3.2. Bcl-2	31
2.4.2.3.3. Bcl-XL	31
2.4.2.3.4. c-myc.....	31
2.4.2.4. Pro-Apoptotik Proteinler	32
2.4.2.4.1. Bid Protein.....	32
2.4.2.4.2. Bad Protein.....	32
2.4.2.4.3. Bim ve Bmf Proteinleri.....	32
2.4.3. Apoptozis Tanı Yöntemleri	32
2.4.3.1. TUNEL Yöntemi	33
2.5. Trombositden Zengin Plazma (Platelet Rich Plasma).....	34
2.5.1. Trombositler ve Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri	35
2.5.1.1. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF).....	35
2.5.1.2. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	36

2.5.1.3. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)	36
2.5.1.4. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF).....	37
2.5.1.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-1)	37
2.5.1.6. Transforme Edici Büyüme Faktörü (TGF- β)	39
2.6. Travmatik Kalça Çıkıkları.....	39
2.6.1. Travmatik Kalça Çıkığının Yaralanma Mekanizması	40
2.6.2. Travmatik Kalça Çıkığı Deneysel Modeli.....	41
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	44
3.1. Deney Dizaynı.....	45
3.2. Deney Hayvanlarının Bakımı.....	46
3.3. Deneyde Kullanılan Malzemeler	47
3.4. Travmatik Kalça Çıkığı Modeli ve Cerrahi İşlemler	49
3.4.1. Travmatik Kalça Çıkığı Modelinin Oluşturulması	49
3.4.2. Trombositten Zengin Plazmanın Hazırlanması.....	50
3.5. Deneysel Çalışma Dizaynı	51
3.6. Histopatolojik Değerlendirme	54
3.6.1. TUNEL Boyaması Çalışma Protokolü.....	55
3.6.1.1. Kültür Hücrelerinin veya Doku Parçalarının Hazırlanması.....	55
3.6.1.2. Parafin Dokuların Hazırlanması.....	56
3.6.1.3. TUNEL Reaksiyonu	56
3.6.2. Apoptotik İndeks	56
3.7. Biyoistatistik Değerlendirme.....	56
4.BULGULAR.....	58
4.1. Ağırlık Değerlendirilmesi.....	58
4.2. Ameliyat Süresi ve Denek Yaşının Değerlendirilmesi	61
4.3. Yumuşak Doku Enfeksiyonunun Değerlendirilmesi	63
4.4. Apoptotik İndeks Değerlendirilmesi.....	63
5.TARTIŞMA	67
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	74
7.KAYNAKLAR.....	76

III. ÖZET

TRAVMATİK KALÇA ÇIKIĞI MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA TROMBOSİT DEN ZENGİN PLAZMANIN KONDROSİT İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Toktamış SAVAŞ

Uzmanlık Tezi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ

Ocak 2020, 93 Sayfa

Amaç: Bu çalışmada kıkırdak dahil pluripotent hücrelerin diferansiyasyon ve olgunlaşmasını sağlayan büyüme faktörlerince zengin otolog yollarla sıçan kanından elde edilen TZP (Trombositden Zengin Plazma)'nin izolasyonu yapılacak olup, bu TZP'nin deneysel travmatik kalça çıkığı (TKÇ) modeli oluşturulan sıçanların femoroasetabular kıkırdaklarında iyileşmeye olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu inceleme kıkırdak dokunun histopatolojik değerlendirilmesi şeklinde olup; apoptozise giden kondrositler TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling) yöntemi ile tespit edilecektir.

Materyal ve Metod: Bu çalışma in vivo ve in vitro deneysel çalışmaları içermektedir. Bu deneysel çalışmada 24 adet ağırlıkları 324 gram (gr) ile 617 gr arasında değişen 20-24 haftalık erişkin Sprague-Dawley (SD) cinsi erkek sıçanlar kullanılmış olup, deney hayvanları 3 ana gruba ayrıldı. Her grupta 8 adet örneklem bulunmaktaydı. Bu örneklemelerde aynı hayvanın sağ kalçası belirli bir süre çıkık olarak bekletildikten sonra yerine oturtularak TZP uygulandı; sol kalçası ise sağ kalça süresi kadar çıkık olarak bekletilip daha sonra yerine oturtuldu. Gerçek bir kontrol grubu olabilmesi için TZP içine fosfat tamponlu salin (PBS) solüsyonu eklendi (20 µl kadar). Sol kalçaya, sağ kalçaya enjekte edilen hacim kadar (50 µl) sadece PBS solüsyonu enjekte edildi. Sıçanların kalçaları disloke edilirken, kıkırdakta oluşabilecek mekanik hasarı engellemek için kullanılan güç minimize edildi. 7 gün sonra hayvanların kalçalarından alınan dokular histopatolojik incelemeye tabi tutuldu. Her sıçanın sağ ve sol femur başı kondrositlerinin apoptotik indeksleri (Aİ) hesaplandı.

Bulgular: Tüm grupların başlangıç ve 7. gün ağırlıklarının anlamlı şekilde azaldığı bulunmuştur. Deneklerin başlangıç ağırlıkları, 7. gün ağırlıkları, ağırlık değişimleri, denek yaşı, operasyon süresi ile Aİ arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Aİ değerleri; Grup 1a'nın $0,01 \pm 0,01$ (ortalama $\pm$ standart sapma), grup 1b'nin $0,03 \pm 0,01$, grup 2a'nın $0,02 \pm 0,01$, grup 2b'nin $0,08 \pm 0,02$, grup 3a'nın $0,05 \pm 0,01$, grup 3b'nin $0,1 \pm 0,02$ arasında saptanmıştır. Aİ açısından deney ve kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p < 0,05$). Her ana grup kendi deney ve kontrol grupları içinde karşılaştırıldığında grup 1a ile grup 1b haricindeki diğer grupların kendi aralarındaki Aİ azalışları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Tüm deney grupları ve kontrol grupları kendi içinde karşılaştırıldığında grup 1a ile grup 2a'nın haricindeki diğer tüm grupların arasında anlamlı farklılık saptanmıştır.

Sonuç: TKÇ tedavisinde TZP umut vaat eden, tekrarlanabilir alternatif bir tedavi yöntemi olup kondrosit apoptozisini azaltmada dikkate değer sonuçlar elde edilmiştir. TKÇ hastalarında erken redüksiyonla birlikte uzun dönem komplikasyonların önlenmesinde TZP'nin yararlı olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Travmatik, Kalça, Çıkık, Trombosit, Apoptozis, TZP

IV. ABSTRACT

THE EFFECT OF PLATELET-RICH PLASMA ON CHONDROCYTE HEALING TRAUMATIC DISLOCATION OF THE HIP IN THE RAT MODEL

Dr. Toktamış SAVAŞ

Dissertation, Department of Orthopaedics and Traumatology

Dissertation Advisor: Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ

January 2020, 93 Pages

Purpose: The aim of the present study was to isolate Platelet Rich Plasma (PRP) which is rich in growth factors providing differentiation and maturation of pluripotent cells including the cartilage from rat blood through autologous methods, and to investigate the effect of PRP on healing in femoroacetabular cartilages of the rats on which experimental traumatic hip dislocation (THD) was created. The present study was designed on histopathological analysis of the cartilaginous tissue; and the chondrocytes undergoing apoptosis would be detected through Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated dUTP Nick End Labeling (TUNEL) method.

Material and method: The present study includes in vivo and in vitro experimental trials. Twenty four 20 to 24-week old mature male Sprague-Dawley rats with body weights between 324 and 617 grams (g) enrolled into the study were divided into 3 groups. Eight subjects were included into each group. The right hips of the subjects were kept as dislocated for a certain period, and then placed, and PRP was administrated; left hip was also kept dislocated as long as the right hip and then placed onto the site. Phosphate buffered saline (PBS) solution (approx. 20 µl) was added into PRP to create an actual control group. PBS solution was injected onto the left hip with a similar quantity (50 µl) injected into the right hip. The force applied was minimized during hip dislocation of the rats to prevent mechanical injury on the cartilage. The tissues obtained from the hips of the subjects were examined after 7 days. Apoptotic index (AI) of right and left femur head chondrocytes of each rat was calculated.

Findings: It was found that initial body weights as well as body weight at day 7 were significantly lower. There was not any association between AI and body weight at day 7, weight changes, subject age, operation period. AI values were detected as follows; 0.01 ± 0.01 (mean $\pm$ standard deviation) in group 1a; 0.03 ± 0.01 in group 1b; 0.02 ± 0.01 in group 2a; 0.08 ± 0.02 in group 2b; 0.05 ± 0.01 in group 3a; 0.1 ± 0.02 in group 3b. A significant association in AI was found between experimental and control groups ($p < 0.05$). Comparison of each main groups with their experimental and control subgroups revealed that decrease of AI between the subgroups themselves were statistically significant except subgroups 1a and 1b. A significant difference was detected between all groups except subgroups 1a and 2a when all experimental and control subgroups were compared among themselves.

Conclusion: PRP is a promising, repeatable and alternative treatment method for THD treatment; and considerable results were obtained to reduce apoptosis of the chondrocytes. We believe that PRP would be useful to prevent long term complications along with early reduction for the patients with THD.

Key Words: Traumatic, Hip, Dislocation, Platelet, Apoptosis, PRP

V. KISALTMALAR

- TZP:** Trombositden Zengin Plazma
- TKÇ:** Travmatik Kalça Çıkığı
- TUNEL:** Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated dUTP Nick End Labeling
- gr:** Gram
- SD:** Sprague-Dawley
- Aİ:** Apoptotik İndeks
- AVN:** Avasküler Nekroz
- PRP:** Platelet-Rich Plasma
- m.:** Musculus
- n.:** Nervus
- SZP:** Superfisyal Zon Proteini
- kD:** kilodalton
- LRR:** Leucine-Rich Repeat (Lösence Zengin Tekrar)
- PRELP:** Arginine-Rich End Leucine-Rich Repeat Protein
- EGFR:** Epitelyal Growth Factor Receptor (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü)
- COMP:** Cartilage Oligomeric Protein (Kıkırdak Oligomerik Proteini)
- TGF:** Transforming Growth Factor (Trasforme Edici Büyüme Faktörü)
- CILP:** Cartilage Intermediate Layer Protein (Kıkırdak ara kat protein)
- PTHrP:** Parathyroid Hormone-Related Protein (Paratiroid Hormon İlişkili Peptid)
- MMP:** Matrix Metalloproteinase (Matriks Metalloproteinaz)
- ADAMTS:** A Disintegrin-like And Metalloproteinase with Thrombospondin type-1 motif
- TNFR:** Tumor Necrosis Factor Receptor (Tümör Nekroz Faktör Reseptör)
- FasL:** Fas Ligandı
- AIF:** Apoptosis Inducing Factor (Apoptozis Başlatıcı Faktör)
- kbp:** kilobase pair
- CARD:** Caspase Recruitment Domain (Kaspaz Gerektiren Domain)
- DD:** Death Domain (Ölüm Domaini)
- DED:** Death Effector Domain (Ölüm Efektör Domain)
- PDGF:** Platelet-Derived Growth Factor (Platelet Kökenli Büyüme Faktörü)
- EGF:** Epidermal Growth Factor (Epidermal Büyüme Faktörü)
- ECGF:** Endothelial Cell Growth Factor (Endotelial Hücre Büyüme Faktörü)
- VEGF:** Vascular Endotheelial Growth Factor (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)

FGF: Fibroblast Growth Factor (Fibroblast Büyüme Faktörü)

IGF: Insulin-like Growth Factor (İnsülin benzeri Büyüme Faktörü)

BMP: Bone Morphogenic Protein (Kemik Morfojenik Protein)

OP: Osteogenic Protein

PBS: Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Salin)

HADYEK: Hayvan Deneyi Etik Kurulu

GAÜNDAM: Gaziantep Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi

BSA: Bovine Serum Albumin (Sığır Serum Albumini)

SSC buffer: Saline Sodium Citrate (Salin Sodyum Sitrat) Tamponu

HE: Hematoksilen-Eozin

TKA: Total Kalça Artroplastisi

KS: Kortikosteroid

VI. TABLO LİSTESİ

TABLO 1. APOPTOZİS TANI YÖNTEMLERİ	32
TABLO 2. TGF- B SÜPER AİLESİ	38
TABLO 3. ÇALIŞMAMIZDAKİ DENEK GRUPLARININ TABLO İLE GÖSTERİMİ	46
TABLO 4. ÇALIŞMAMIZDA KULLANILAN FARMAKOLOJİK AJANLAR.....	46
TABLO 5. PATOLOJİDE KULLANILAN KİMYASAL AJANLAR.....	47
TABLO 6. ÇALIŞMAMIZDA KULLANILAN SARF MALZEMELER.....	47
TABLO 7. PARAFİNİZE DOKULARA UYGULANAN ÖZEL SOLÜSYONLAR	56
TABLO 8. GRUP 1'İN AĞIRLIK DEĞERLERİ	58
TABLO 9. GRUP 2'NİN AĞIRLIK DEĞERLERİ	59
TABLO 10. GRUP 3'ÜN AĞIRLIK DEĞERLERİ.....	59
TABLO 11. AĞIRLIKLARIN Aİ AÇISINDAN VE KENDİ ARALARINDA DEĞERLENDİRİLMESİ.....	61
TABLO 12. AĞIRLIK DEĞİŞİMİNİN Aİ ÜZERİNE ETKİSİ.....	61
TABLO 13. AĞIRLIKLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ	61
TABLO 14. DENEK YAŞI İLE AMELİYAT SÜRESİNİN Aİ ÜZERİNE ETKİSİ	61
TABLO 15. AMELİYAT SÜRESİ VE DENEK YAŞI DEĞERLERİ	62
TABLO 16. AMELİYAT SÜRESİ VE DENEK YAŞININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	63
TABLO 17. GRUP 1'İN Aİ DEĞERLERİ	63
TABLO 18. GRUP 2'NİN Aİ DEĞERLERİ.....	64
TABLO 19. GRUP 3'ÜN Aİ DEĞERLERİ.....	64
TABLO 20. DENEKLERİN Aİ AÇISINDAN VE KENDİ GRUPLARI İÇİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ	65
TABLO 21. DENEY VE KONTROL GRUPLARININ KENDİ ARALARINDA DEĞERLENDİRİLMESİ	65

VII. GRAFİK LİSTESİ

GRAFİK 1. TÜM GRUP AĞIRLIKLARININ GRAFİKSEL GÖSTERİMİ.	60
GRAFİK 2. OPERASYON SÜRESİNİN GRUPLARA GÖRE DEĞİŞİMİ	60
GRAFİK 3. Aİ'NİN TÜM GRUPLAR ARASINDAKİ DEĞİŞİMİNİN GRAFİKSEL GÖSTERİMİ.....	66

VIII. ŞEKİL LİSTESİ

ŞEKİL 1. KALÇA EKLEMİNİN AKSİYEL KESİTİ	3
ŞEKİL 2. KALÇA EKLEMİNİN KORONAL KESİTİ.....	3
ŞEKİL 3. FEMURUN ANATOMİK YAPILARI	5
ŞEKİL 4. KALÇA EKLEMİNİN LİGAMENTÖZ YAPILARI	6
ŞEKİL 5. İLİOPSOAS GRUBU KASLARI	7
ŞEKİL 6. GLUTEAL VE OBTURATUAR GRUP KASLARI	8
ŞEKİL 7. SIĞAN YÜZEYEL KASLARININ LATERALDEN GÖRÜNÜMÜ	9
ŞEKİL 8. SIĞAN DORSAL KISIM YÜZEYEL KAS GRUBLARININ GÖRÜNÜMÜ	10
ŞEKİL 9. SIĞAN UYLUK LATERAL KISIM KAS GRUPLARI.....	10
ŞEKİL 10. SIĞAN OBTURATUAR KAS GRUBU	11
ŞEKİL 11. SIĞAN VENTRAL KISIM YÜZEYEL KAS GRUBU.....	11
ŞEKİL 12. KARTİLAJ DOKUSUNUN İNSAN VÜCUDUNDA BULUNDUKLARI ALANLAR.....	12
ŞEKİL 13. HYALİN KIKIRDAĞIN FOTOMİKROGRAFIK GÖRÜNÜMÜ.....	12
ŞEKİL 14. ELASTİK KIKIRDAĞIN FOTOMİKROGRAFIK GÖRÜNÜMÜ	12
ŞEKİL 15. FİBRÖZ KIKIRDAĞIN FOTOMİKROGRAFIK GÖRÜNÜMÜ.....	13
ŞEKİL 16. EKLEM KIKIRDAĞININ TABAKALARI	13
ŞEKİL 17. KIKIRDAK MATRİKSİ VE KONDROSİTLERİN MATRİKS İLE İLİŞKİSİ	17
ŞEKİL 18. KIKIRDAK KATMANLARI	20
ŞEKİL 19. APOPTOZUN HÜCRESEL ÖZELLİKLERİ	24
ŞEKİL 20. APOPTOZİS MEKANİZMALARI	28
ŞEKİL 21. TROMBOSİT KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN GÖREVLERİ	37
ŞEKİL 22. DASHBOARD (GÖSTERGE PANELİ) YARALANMASI.....	40
ŞEKİL 23. FEMUR BOYUN VERSİYONUNUN ŞEMATİK GÖSTERİMİ.....	41
ŞEKİL 24. TKÇ'NİN KALÇA POZİSYONUNA GÖRE MEYDANA GELECEK YARALANMA TİPİ	42

IX. RESİM LİSTESİ

RESİM 1. APOPTOTİK HÜCRELERİN MORFOLOJİK GÖRÜNÜMÜ	30
RESİM 2 TROMBOSİTLERİN MORFOLOJİK GÖRÜNÜMÜ	36
RESİM 3. TRAVMATİK KALÇA ÇIKIĞININ KLİNİK GÖRÜNTÜSÜ	39
RESİM 4. TRAVMATİK KALÇA ÇIKIĞI	40
RESİM 5. GAÜNDAM AMELİYATHANE ODASI	44
RESİM 6. SARF MALZEMELERİ.....	48
RESİM 7.UYUTMA KAFESİNE ALINMIŞ SIÇAN.....	48
RESİM 8. TKÇ MODELİ YAPILACAK SIÇANIN PREOP HAZIRLIKLARI.....	49
RESİM 9. DENEĞİN CERRAHİYE HAZIRLANMASI	50
RESİM 10. TZP'NİN HAZIRLANIŞI	51
RESİM 11. SIÇAN SAĞ KALÇA DİSEKSİYON GÖRÜNTÜSÜ.....	52
RESİM 12. SIÇAN FEMOROASETABULER KAPSÜLÜN DİSEKSİYONU	53
RESİM 13. KALÇA ÇIKIĞININ GÖSTERİMİ	53
RESİM 14. TZP'NİN EKLEM KAPSÜLÜ İÇİNE ENJEKSİYONU	53
RESİM 15. CERRAHİ ALANIN USÜLÜNE UYGUN KAPATILMASI	54
RESİM 16. YEDİ GÜN SONRA YAPILAN İŞLEMLER	54
RESİM 17. APOPTOZİSE GİDEN HÜCRELER.....	55

1. GİRİŞ

Kalça (femoroasetabular) eklemi, insan vücudunun en önemli eklemlerinden biri olup, kuvvetli bağlar ve geniş kas grupları ile iyice çevrelenmiştir. Bu eklem yapısı dolayısıyla stabildir ve yerinden çıkması için ciddi miktarda güç uygulanmalıdır.

İnsanların günümüzde iş ve sosyal yaşantı içerisinde daha fazla bulunmasına ve araç kullanımının artmasına bağlı olarak yüksek enerjiye bağlı yaralanma sıklığı artmıştır. Büyük çoğunluğu (%45-%85) yüksek enerjili travmaların neden olduğu uzun dönem morbidite ile sonuçlanabilen travmatik kalça çıkıkları (TKÇ) ciddi bir yaralanma şeklidir. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin birçoğunda motorlu araç kazaları sonucunda oluşur [1]. Motorlu araç kazalarının yanı sıra TKÇ'ye neden olabilecek diğer yaralanma mekanizmaları arasında düşmeler, yayaların taşıt çarpmasına maruz kalması, endüstriyel kazalar ve spor yaralanmaları vardır [2-7].

Travmatik kalça çıkıkları ortopedik acillerden olup erken redüksiyon ile komplikasyonlar azaltılabilir. Her şeye rağmen, %40-80 hastada iyi veya mükemmel sonuç görülebilmektedir [8]. Travmatik eklem çıkıklarının uzun dönem sonuçları bulunmaktadır. Bu çıkıklara bağlı kalça ekleminde çeşitli mekanizmalarla oluşan patolojik sekeller görülmektedir. Bu mekanizmalar çıkık sırasında mekanik etkiyle oluşan kırıldak hasarı ve kemiği besleyen damarlardaki kan akımının azalmasına bağlı olarak oluşabilmektedir [9]. Aynı zamanda çıkık esnasında femur başını besleyen damarlarda hasarlanma sonucu femur başının avasküler nekrozu (AVN) gelişmektedir. Siyatik sinirin yaralanması posterior kalça çıkıklarında görülmektedir.

Hem femur başının mekanik etkisiyle meydana gelen kırıldak hücresi (kondrosit) hasarı hem de çıkık sonrasında ileri dönemde meydana gelen avasküler nekroz özellikle femur başı kondrositlerinde geri dönüşümsüz hasarlara ve kondrosit ölümüne (apoptozis) yol açmakta ve ileri dönemde kalça ekleminin osteoartriti (koksartroz) gelişmektedir.

Eklem travmasına bağlı kırıldak hasarı sonucu, kırıldakta meydana gelen iyileşme süreci dokunun avasküler yapıda olması, kanlanmaya bağlı inflamasyon ve onarım ile seyreden klasik iyileşme yanıtını sınırlamakta ve kartilaj dokunun avasküler yapısı nedeni

ile kandaki progenitor hücreler hasarlı bölgeye ulaşamamaktadır. Kıkırdak rejenerasyonunda sınırlamalara neden olan diğer biyolojik etken ise kıkırdak dokunun sınırlı sayıda hücreye sahip olması ve erişkin kondrositlerin düşük bölünme kapasitesi (mitotik aktivite) sayılabilir [10].

Günümüzde eklem travmasına bağlı olsun, olmasın dejeneratif veya sekonder nedenlerle osteoartrit gelişmiş hasta gruplarının tedavilerinde kullanılan trombositden zengin plazma (TZP=Platelet-rich plasma [PRP]) ortopedide popülaritesini günden güne arttırmaktadır [11]. TZP, küçük hacimdeki plazma içine sıkıştırılmış otolog trombosit konsantresi olarak tanımlanabilir. TZP içerisinde yüksek seviyede trombosit, büyüme faktörleri ve pıhtılaşma faktörleri bulunmaktadır [12, 13]. TZP klinikte birçok alanda kullanım bulmaktadır. Bunların başlıcaları; oral maksillofasiyal cerrahi, baş-boyun cerrahisi, otolaringoloji, kardiyovasküler cerrahi, plastik cerrahi, oftalmoloji, yanık tedavisi, yumuşak doku lezyonlarının tedavisi, ortopedi ve travmatolojik cerrahi pratik uygulamalarıdır [12-17]. Ayrıca visköz olması ve otojen yapısı nedeniyle yabancı cisim reaksiyonu yaratmadan in-vivo çalışmalarda iyi bir taşıyıcı olarak kullanılmaktadır [18].

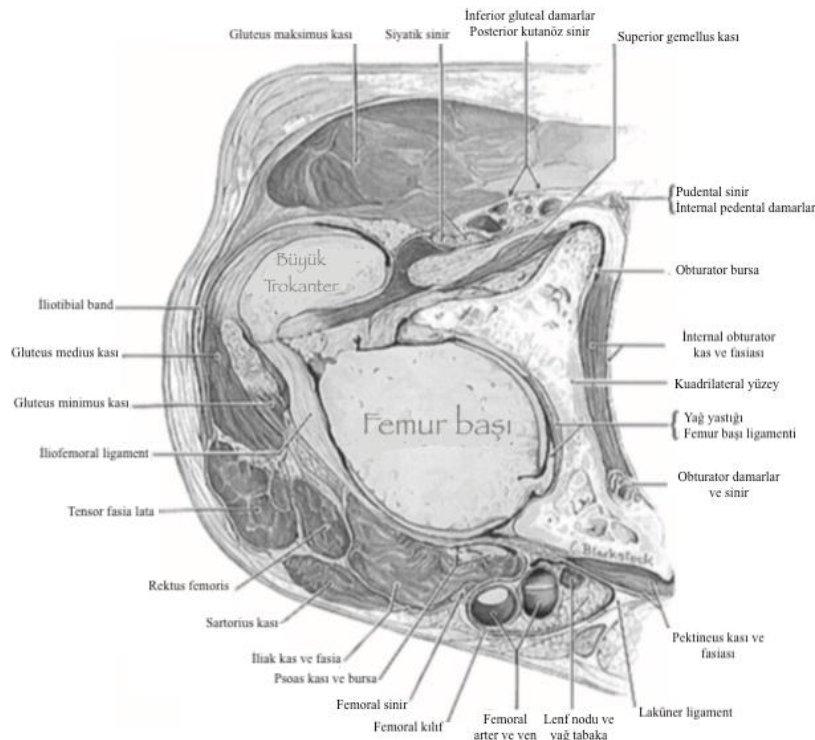
Literatürde TZP'nin kartilaj doku iyileşmesinde olumlu etkileri olduğu yönünde çalışmalar bulunmaktadır [18]. Travmatik kalça çıkığının da kondrosit hücrelerinde hasar meydana getirdiği hem insan hem hayvan kaynaklı çalışmalarda gösterilmiştir [19, 20]. Ancak literatürde travmatik kalça çıkığına bağlı kondrositlerdeki hasarın onarılması için TZP uygulanması hakkında deneysel çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada; travmatik kalça çıkığının kondrositler üzerindeki hasarını irdelemek amacıyla sağlıklı sıçanlara cerrahi yolla travmatik kalça çıkığı modeli oluşturulup femur başındaki kondral yapıyı histopatolojik olarak incelemeyi ve sıçan femoral veninden alınan kanla elde edilen TZP'nin kondrosit iyileşmesi ve kondrosit apoptozisi üzerine etkilerini araştırmak amaçlandı.

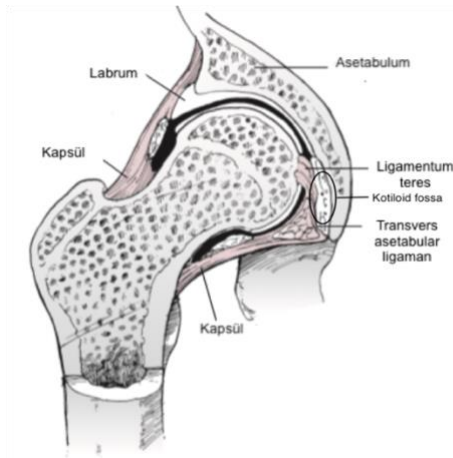
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalça Anatomisi

Kalça eklemi asetabulum ve femur başının oluşturduğu bir yapı olup; etrafında eklem kapsülü, bağlar ve kaslarla çevrili stabil bir alan oluşturmaktadır.



Şekil 1. Kalça ekleminin aksiyel kesiti [21]



Şekil 2. Kalça ekleminin koronal kesiti [21]

2.1.1. Asetabulum

Asetabulum kalça ekleminin femur başı ile eklem yapan pelvisin dış yüzeyinde iç bükey (konkav) şeklindeki pelvik halkanın bir parçasıdır. Asetabulum; os koksa üzerinde ilium, ischium, pubis adlı 3 kemik tarafından oluşturulan kotiloid fossanın etrafını çevreleyen ters at nalı şeklinde eklem yüzü olan yarı sferik bir yuvadır.

Asetabulumun tamamı femur başı ile temas halinde olmayıp asıl eklem yüzünü facies lunata isimli, açıklığının aşağıya baktığı hyalin kıkırdakla örtülü at nalı şeklinde olan kısım oluşturur [22-26]. Bu kıkırdakla çevrili yapının orta kısmındaki kıkırdağı olmayan, ince kemik yapılı içi yağ dokusu ile dolu, çukura fossa asetabuli adı verilir. Asetabulum üst kenarı daha kalın ve sağlam olup dışarıya doğru hafif taşma gösterir, alt kenarı ise çentik şeklinde olup insisura asetabuli adını alır.

Asetabulumun kenarları labrum asetabulare denilen yaklaşık 5-6 mm'lik fibroz kıkırdak bir halka ile yükseltilmiştir. Bu halka asetabulumun alt kenarında insisura asetabuli üzerinden atlayarak çukuru her taraftan çevreler ve bu sayede asetabulum derinleşerek femur üst eklem yüzünün yarısından fazlasını içine alabilecek duruma gelir. Labrum eklem yüzeyinin kenarlarına yapışırken, insisura asetabuli seviyesinde insisura üzerindeki transvers asetabuler ligamente yapışır. Böylece kalçanın yerinden çıkmasına karşı koyacak negatif basınç oluşur.

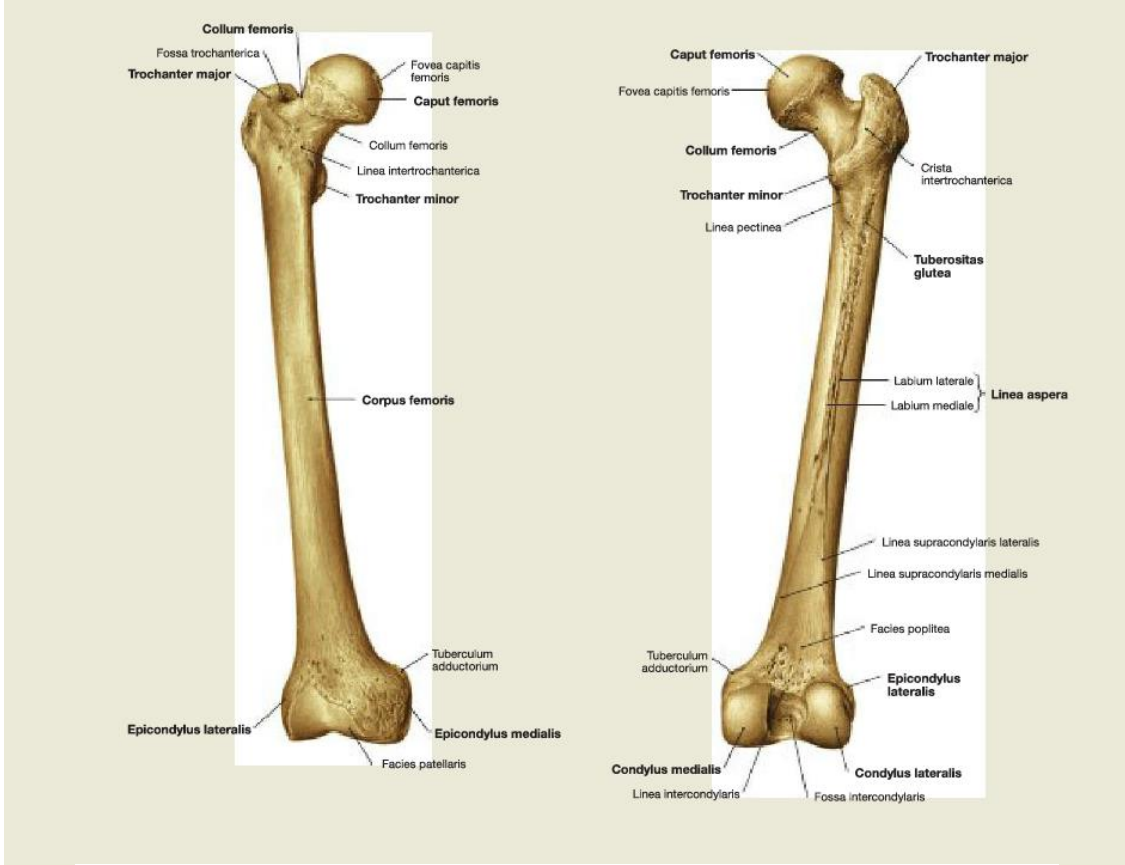
2.1.2. Femur

Vücudun en uzun kemiği olan femur proksimalde femur başı aracılığı ile asetabulumla; distalde ise trohlear oluk aracılığı ile patella ile, kondilleri aracılığı ile ise tibia ile eklem yapmaktadır. Femur üst kısmında femur başı, femur boynu, trokanter majör ve minor bulunur [22-26].

Femur başındaki küresel yapının 2/3 ü kadar yüzeyi hyalin kıkırdak ile kaplı olup medialdeki kıkırdaksız bir alan olan ve capitis femoris ligamentinin tutunduğu fovea bulunur. Başın bitim yeri olan subkapital sulkustan itibaren başı cisime bağlayan femur boynu başlar. Femur baş ve boynu ile femur cismi arasında (kollodiazifer) genellikle ortalama 125±5 derecelik bir açı mevcuttur [22, 27-29].

Femur boynu ile cisminin birleştiği yerin posterolateral kısmında kalça abduktör kaslarının yapıştığı geniş yapıya büyük trokanter (trokanter majör) adı verilir. Genellikle büyük trokanterin en üst noktası ile femur başı merkezi vücutta aynı hizada bulunur [22, 30]

Femur boynu ile cisminin birleştiği yerin alt posteromedialinde ise kalça fleksör kaslarından iliopsoas kasının yapıştığı çıkıntı olan küçük trokanter (trokanter minor) bulunur. Büyük trokanter ile küçük trokanteri, önde iliofemoral ligamentin tutunduğu linea intertrokanterika, arkada ise krista intertrokanterika birbirlerine bağlar [22].



Şekil 3. Femurun ön (sağ) ve arkadan (sol) önemli anatomik yapıları [31]

2.1.3. Eklem Kapsülü ve Bağları

Eklem kapsülü asetabulumun kemik kenarına yapışır böylece labrum asetabulare ve ligamentum transversum eklem boşluğu içinde kalır. Femurda ise önde trokanter majör ve linea intertrokanterikaya, arkada krsta intertrokanterikanın 1 cm medialine yapışır. Kapsül, lig. iliofemorale, lig. pubofemorale ve lig. iskiofemorale isimli bağlar ile dışarıdan kuvvetlendirilmiştir.

2.1.3.1. İliofemoral Ligament

Bertin bağı ya da Bigelow'un Y ligamenti olarak da adlandırılır. Spina iliaka anterior inferiorun alt kesiminden başlar, kapsülün ön yüzünde bir yelpaze gibi ilerler ve tüm intertrokanterik hatta yapışarak son bulur. Ayakta dik durur pozisyonda kalça eklemine sağlamlaştıran güçlü bir yapıdır. Ayakta dik durumdayken kalçanın en önemli stabilizatörü olup kalçanın ekstansiyonu sırasında pelvisin arkaya gitmesini engeller [22, 25, 26, 32].

2.1.3.2. Pubofemoral Ligament

Asetabulumun pubik kısmını ve superior pubik ramusun obturator kesiminden başlayarak laterale uzanır. Kapsülün medial yüzü ve linea intertrokanterikaya yapışır. Uyluğun ekstansiyon ve abdüksiyon hareketlerini kısıtlar, iliofemoral ligament ile birlikte

femur başına önden destek olurlar. Kapsül iliofemoral ve pubofemoral ligamentler arasında en ince halini alır ve bu aradan iliopsoas tendonu geçer. Bu tendonun altında iliopektineal bursa vardır [22, 25, 26, 32].

2.1.3.3. İskiofemoral Ligament

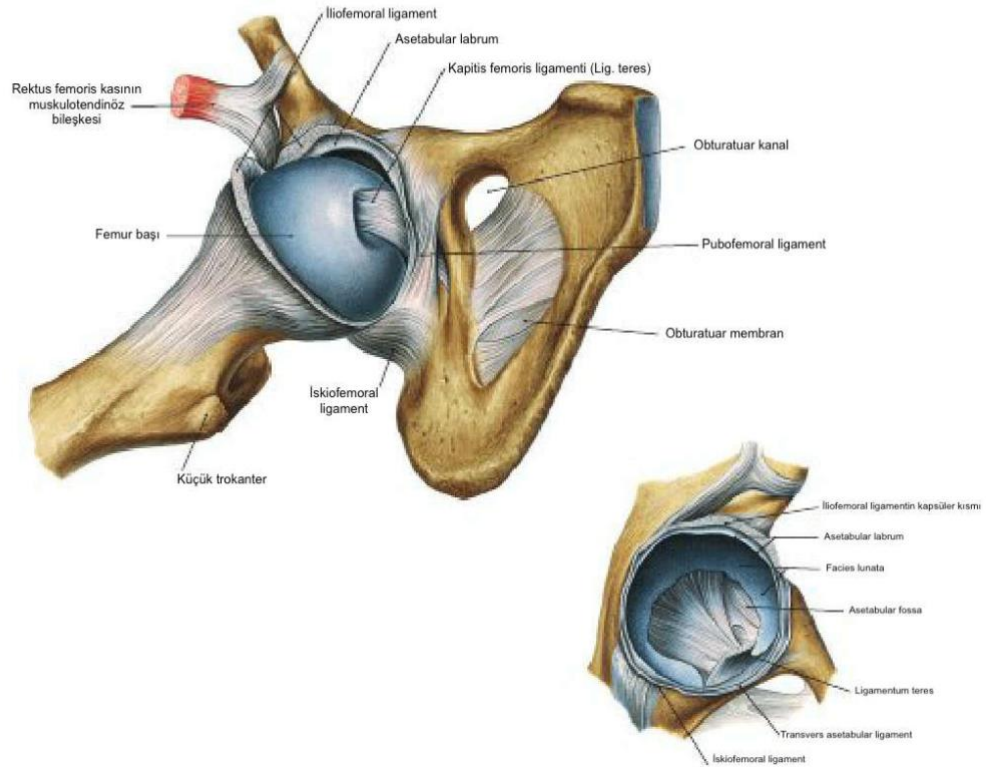
Asetabulumun iskial kısmından başlayarak laterale ve yukarıya ilerleyerek femur boynunun üst bölümüne yapışır. Femuru arkadan destekler. Aynı zamanda aşırı iç rotasyon hareketine engel olur [22, 25, 26, 32].

2.1.3.4. Kapitis Femoris Ligamenti (Ligamentum Teres)

Yaklaşık 3,5 cm uzunluğunda kapsül içi bir bağıdır. Asetabuler çentiğin dış kenarı ve transvers asetabuler ligamentten başlayarak fovea capitis'e yapışır. İçerisinden obturator arterin bir dalı geçer, femurun adduksiyon ve dış rotasyonunu kısıtlar [22, 25, 26].

2.1.3.5. Transvers Asetabular Ligament

Asetabuler çentiğin kenarlarına yapışır. Bu ligamentin altındaki boşlukta kalça ekleminin damar ve sinirleri vardır [22].



Şekil 4. Kalça ekleminin ligamentöz yapıları [31]

2.1.4. Kalça Kasları

İnsan ve sıçanlarda kalça grubu kasları çoğunlukla aynı olup farklı olan kısımları aşağıda belirtildiği şekildedir.

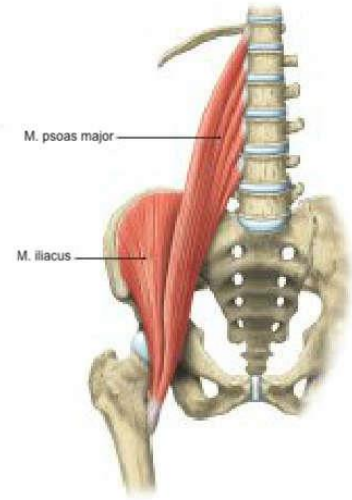
2.1.4.1. İnsan Kalça Kasları

2.1.4.1.1. İliopsoas Grup

Muskulus (M.) psoas minor: Son torakal ve ilk lumbal omurlardan başlayan ve m. psoas majörün önünde olan pekten ossis pubis, eminensia iliopubica ve fasya iliakada sonlanır. Popülasyonda %40 bulunmaz [22, 25, 26, 32].

M. psoas majör: T12 ve tüm lumbal vertebralardan başlayarak distalde m. iliakus ile birleşerek m. iliopsoas'ı oluştururlar. Pleksus lumbalisten çıkan sinirler ile innerve olur.

M. iliakus: Pelvik halkadaki fossa iliakadan başlayan bu kas m. psoas majör ile birleşerek m. iliopsoas'ı oluşturur. Birlikte küçük trokanterde sonlanırlar. Uyluğun en güçlü fleksör kası iliopsoasdır. Bu kas femoral sinir tarafınca innerve edilir.



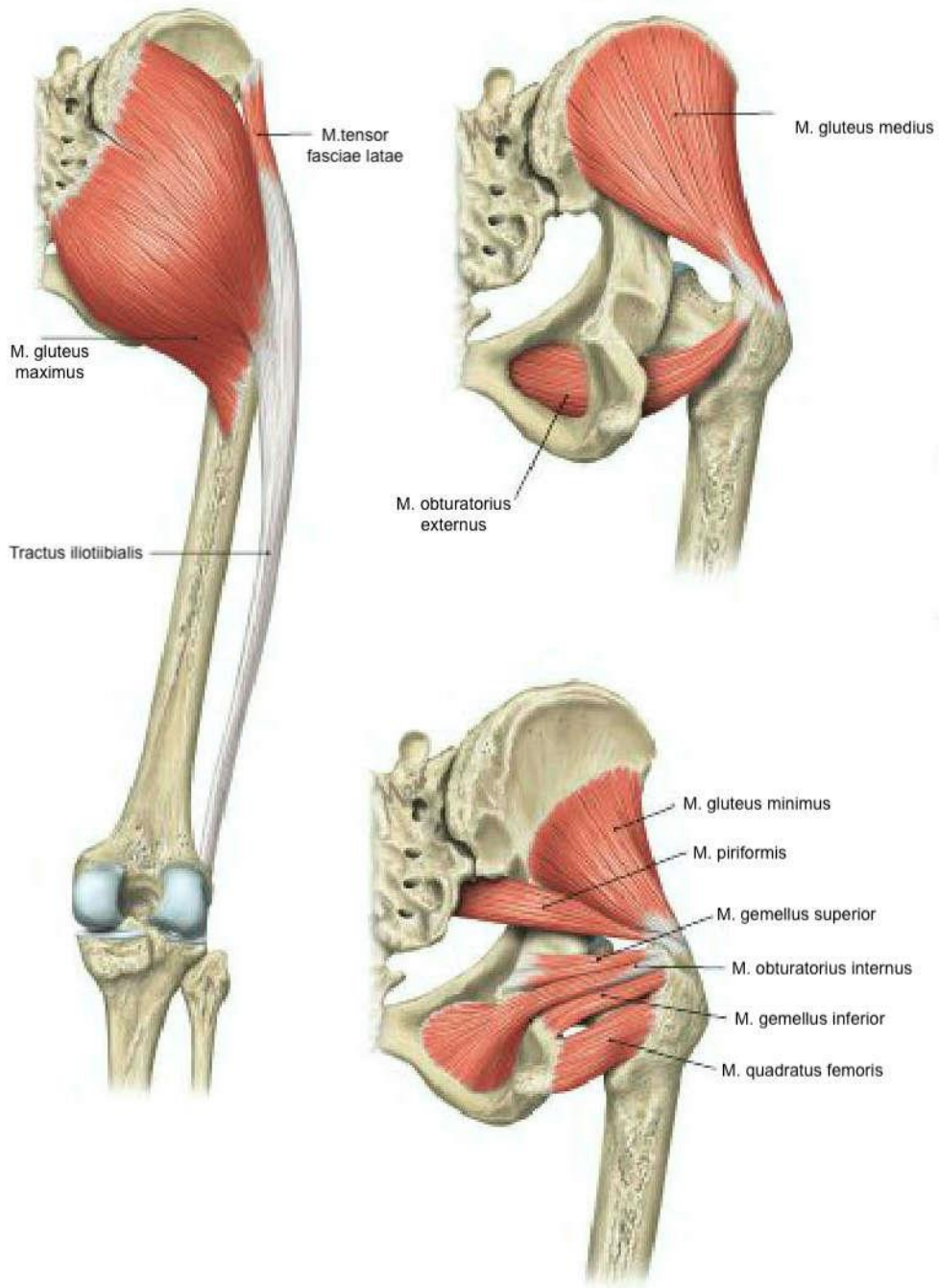
Şekil 5. İliopsoas grubu kasları [31]

2.1.4.1.2. Gluteal Grup

M. gluteus maksimus: Kalçaya yuvarlaklığını veren kastır. Vücudun en büyük ve en kalın kası olup uyluğun en kuvvetli ekstansörüdür ve ayrıca uyluğa dış rotasyon da yaptırır. Üst lifleri abduksiyona, alt lifleri adduksiyona yardımcı olur. Traktus iliotibialis vasıtasıyla diz ekleminin ekstansiyon pozisyonunda kalmasını sağlar. Bu kas insersiyosunu origosuna yaklaştırarak yürüme fazında ayağın yerle temas halindeki uyluk kısmında uyluğu sabitleyip gövdeye ekstansiyon yaptırır. Nervus (N) gluteus inferior tarafından innerve edilir.

M. gluteus medius: M. gluteus maksimusun altındadır. Uyluğa abduksiyon ve iç rotasyon yaptırır. Bu hareket yürüme sırasında, pelvisin yerden teması kesilmiş ekstremité tarafına düşmesini önler. m. gluteus medius felcinde ördekvari yürüyüş (trandelenburg arazı) denilen durum ortaya çıkar. Hasta vücudunu felçli tarafa eğerek yürür. n. gluteus superior tarafınca innerve edilir.

M. gluteus minimus: M. gluteus mediusun daha derininde bulunan ve ondan daha küçük olan bir kas olup görevi uyluğa abduksiyon ve iç rotasyon yaptırmaktır. N. gluteus superior tarafınca innerve edilir [22, 25, 26, 32].



Şekil 6. Gluteal ve obturatar grup kasları [31]

2.1.4.1.3. Obturatuvar Grup

M. priformis: Uyluğa dış rotasyon ve abduksiyon yaptırır, birinci ve ikinci sakral spinal sinirlerin ön dallarınca innerve edilir. Siyatik çentiği (foramen iskiadika majör) bu kas iki kısma ayırır. Üstündeki kısmına foramen suprapriforme, altındaki kısma ise foramen infrapriforme denilir.

M. gemellus superior: Uyluğa dış rotasyon yaptıran bu kas n. obturatorius internus tarafınca innerve edilir.

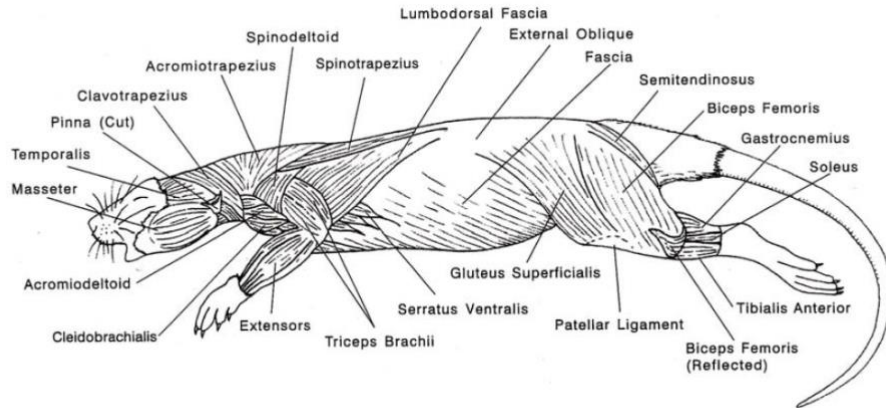
M. obturatorius internus: Uyluğa dış rotasyon ve abduksiyon yaptıran kasın siniri sakral pleksus ve n. quadratus femoris'tir.

M. gemellus inferior: Uyluğa dış rotasyon yaptıran bu kas n. quadratus femoris tarafınca innerve edilir.

M. kuadratus femoris: Uyluğa dış rotasyon ve adduksiyon yaptırır. Uyluğun en kuvvetli dış rotatörüdür. Siniri pleksus sacralis'in dalı olan n. quadratus femoris'dir.

M. obturatorius eksternus: Uyluğa dış rotasyon ve abduksiyon yaptıran kasın siniri sakral pleksus ve n. quadratus femoris'tir [22, 25, 26, 32].

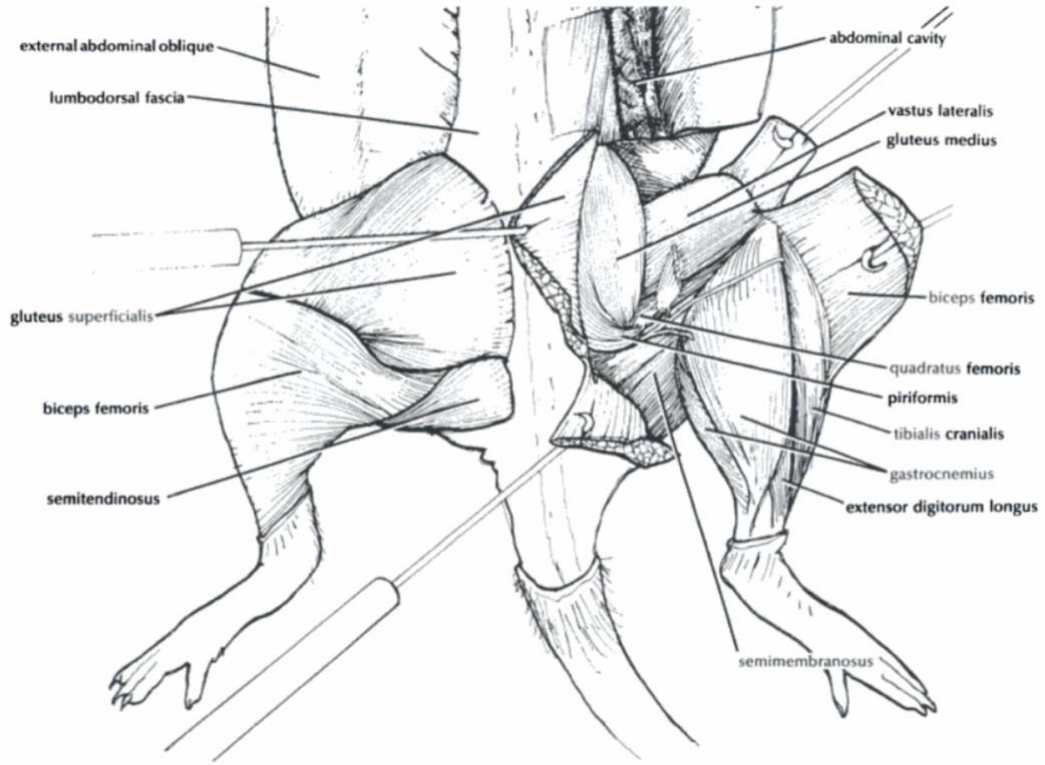
2.1.4.2. Sıçan Kalça Kasları



Şekil 7. Cilt ve cilt altı yağ dokusu diseke edilmiş sıçanın yüzeyel kaslarının lateralden görünümü [33]

2.1.4.2.1. İliopsoas Grup

İliopsoas aslında femurun küçük trokanterine insersiyo yapan iki kasın birleşimine verilen isimdir. İkisinin de ortak hareketi femura dış rotasyon ve fleksiyon yaptırmasıdır. Her iki kas grubunun lifleri dorsal abdominal duvardan orjin aldıkları yere doğru seyretmektedir [34].

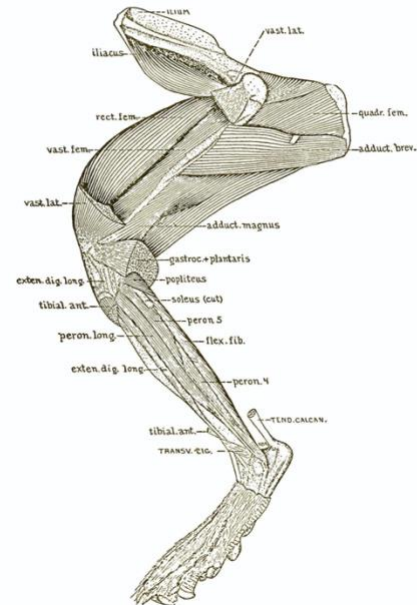


Şekil 8. Sıçan dorsal kısım yüzeysel kas gruplarının görünümü (sağ tarafta diseksiyon sonrası derin kas gruplarını göstermektedir) [34]

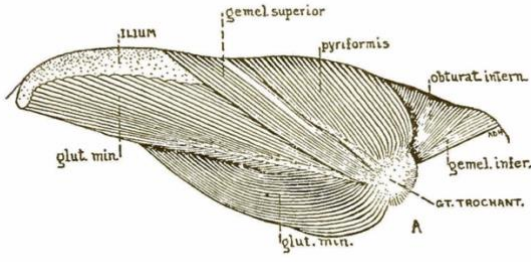
M. iliaceus: Gluteus mediusun arkasında seyreden bu kasın origosu beşinci ve altıncı lumbal vertebrada bulunmaktadır [34].

M. psoas major: İliak kasın arkasında bulunmaktadır. Tüm lumbal vertebralardan orjin almakta ve iliak kasla birlikte küçük trokanterde insersiyosunu yapmaktadır [34].

M. psoas minor: Bu kas grubu insanlardaki gibi sıçanlarda da varyasyon olarak gözlenebilmektedir. İkinci ile altıncı lumbal vertebra ile ilium arasında uzanmaktadır. Bu kas aynı zamanda abdominal kavitenin diseksiyonunda gözlenebilmektedir. Origosunu aldığı vertebral kolona fleksiyon hareketini sağlamaktadır [34].



Şekil 9. Sıçan uyluk lateral kısım kas grupları [35]

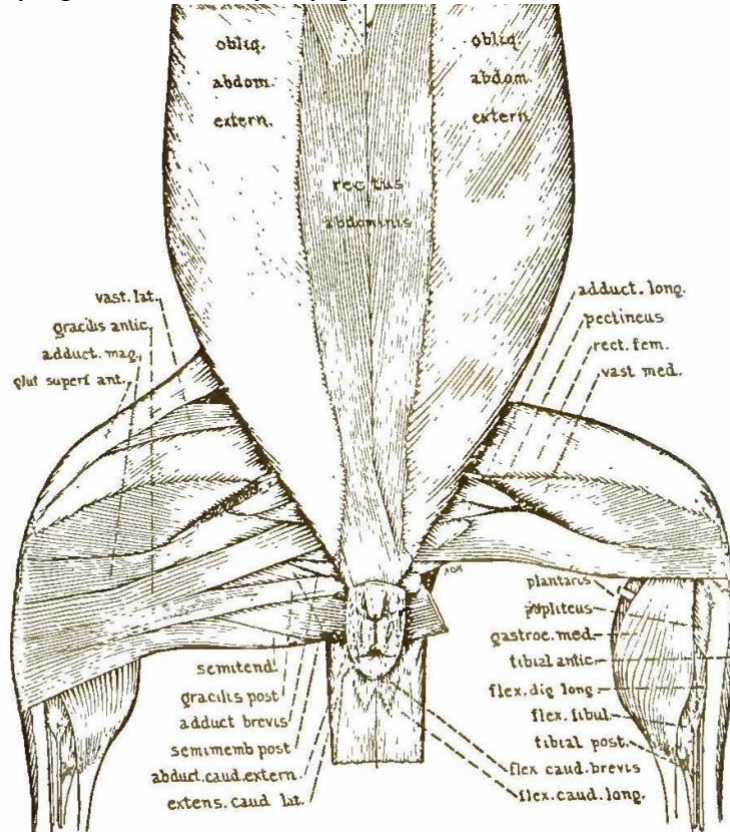


Şekil 10. Sıçan obturatar kas grubu [35]

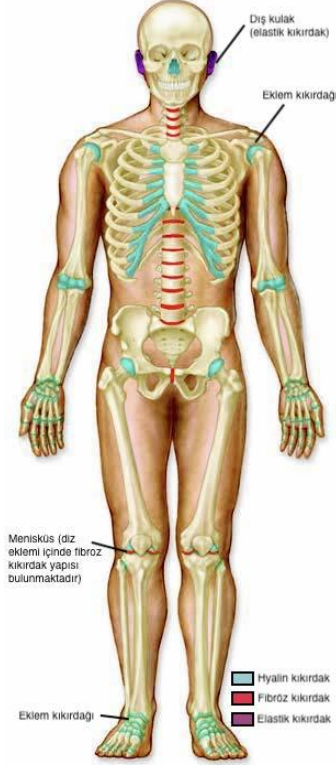
sıçanlarda verilen isimdir. İliumun dorsal sınırından origo alıp hem femurun büyük trokanterinde hem de fascia latae olarak isimlendirilen uyluğu saran geniş bir fasya bandında sonlanmaktadır. Uyluğa abduksiyon yaptırmakta ve fascia latae'yı germektedir [34].

M. gluteus medius: İliumdan köken alıp büyük trokanterde sonlanmaktadır. Uyluğa abdüksiyon yapmaktadır [34].

M. gluteus profundus: Gluteus minimus olarak da isimlendirilmektedir. Gluteus mediusun derininde yer alır. İliumun dorsal sınırından origo alıp büyük trokanterde sonlanmaktadır. Uyluğa medial rotasyon yapmaktadır [34]



Şekil 11. Sıçan ventral kısım yüzeyel kas gruplarının şematik görünümü [35]



Şekil 12. Üç tip kartilaj dokusunun insan vücudunda bulundukları alanlar (renklerle gösterilmiştir) [36]

Kıkırdak dokusu yumuşak dokulardan oluşmuş dokulara destek (burun, larinks, trakea, aurikula) ve eklem yüzlerini örterek kayganlık ve kemiğe binen stres yükünü dağıtmayı sağlamaktadır.

3 ana kıkırdak tipi bulunmaktadır. Bunlar:

- Fibröz kıkırdak
- Elastik kıkırdak
- Hyalin kıkırdak

Bu kıkırdak tiplerinden hyalin kıkırdak hareketli eklemlerin birbirine bakan yüzeylerinde bulunmaktadır.

Eklem kıkırdağı tek bir hücresel bileşen içermektedir. Bu bileşen, karmaşık bir matriks içine gömülmüş olan kondrosittir

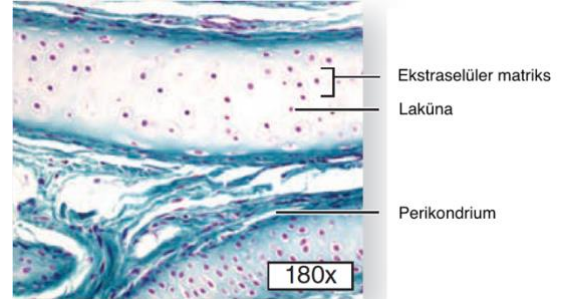
2.1.4.2.3. Obturator Grup

M. priformis: Bu ince kas grubu gluteus mediusun kaudal kısmının derininde ve gluteus profundusun dorsalinde yer kaplamaktadır. Sakrumdan origo alıp büyük trokanterde sonlanmaktadır. Uyluğa abduksiyon yapmaktadır [34].

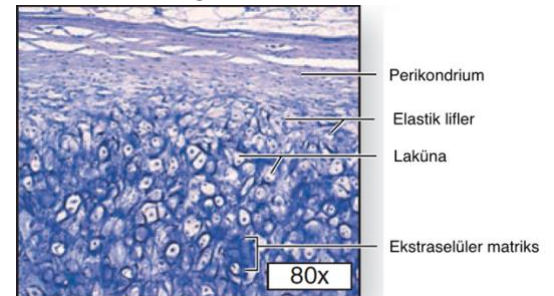
M. quadratus femoris: Bu küçük üçgen şekilli kas grubu uyluğun semimembranosus ve semitendinosus kaslarının derininde uzanmaktadır. İskium ve femurun proksimal son sınırında yer almaktadır. Uyluğa dış rotasyon ve ekstansiyon yaptırmaktadır [34].

2.2. Kıkırdak Dokusu:

Kıkırdak veya kartilaj hayvansal bir dokudur ve kemik dokudan daha yumuşak ve esnek bir matrikse sahiptir. Kıkırdak dokunun olgun hücrelerine kondrosit, genç hücrelerine kondroblast denmektedir. Kıkırdak dokusu, kulakta, burunda, boğazda ve tüm kemiklerin komşu kemiklerle eklem yaptığı uçlarda bulunmaktadır.



Şekil 13. Hyalin kıkırdağın fotomikrografik görünümü [36]



Şekil 14. Elastik kıkırdağın fotomikrografik görünümü [36]

[37]. İmmatür eklem kıkırdağında kondrositler rastgele izotropik örüntü ile dağılırken [38]; olgun eklem kıkırdağı 4 ayrı zondan meydana gelen heterotopik örüntü ile dağılım göstermektedir.

2.2.1. Kıkırdak Zonları

2.2.1.1 Süperfisyal tanjansiyel (Gliding) zon

Yaklaşık 0,2-0,5 mm kalınlığındadır ve tüm eklem kıkırdağının %10-20'sini oluşturur. İki tabakadan meydana gelir. Üstte yer alan tabakada hücre bulunmamakta ve fibriller ile az miktarda polisakkaritten meydana gelmektedir. Bunun altında yer alan ana tabakada kondrositlerle beraber yüksek kollajen ve düşük proteoglikan konsantrasyonuna sahip ekstraselüler matriksten meydana gelir [39].

2.2.1.2. Orta (Transizyonel) Zon

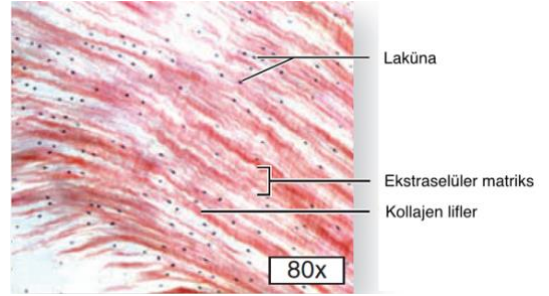
Dokunun %40-60'ının oluşturur.

2.2.1.3. Derin (Radyal) Zon

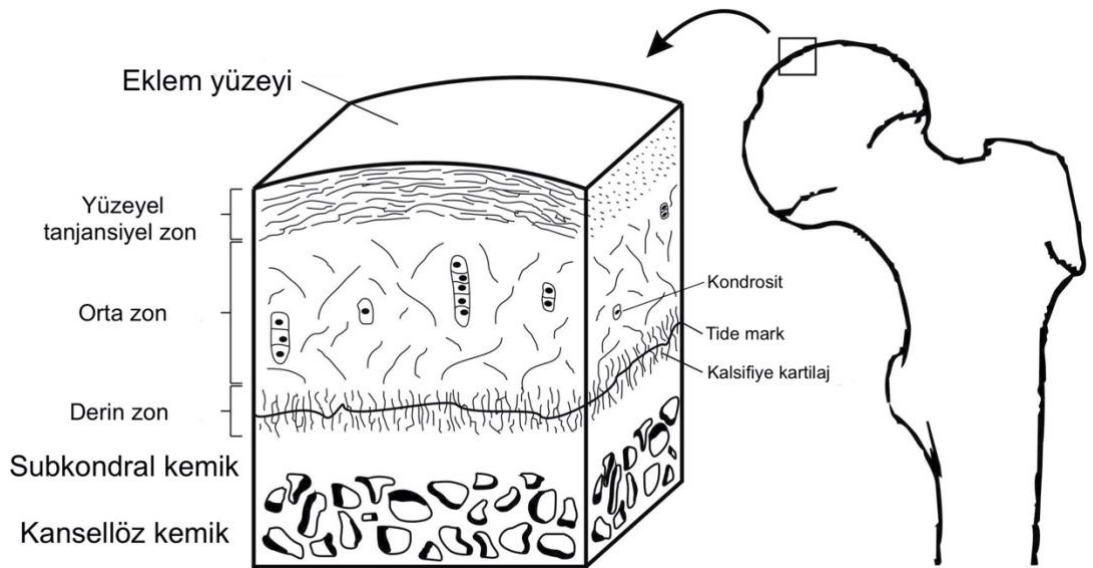
Tüm kalınlığın %30'udur.

2.2.1.4. Kalsifiye Kıkırdak Zonu

Kıkırdak dokusunu alttaki subkondral kemikten ayırır [37, 38]. Kalsifiye zon, enkondral ossifikasyonun bir sonucu olarak ortaya çıkar. Bunun sonucunda büyüme plağının kapanmasından sonra sınır (tidemark) olarak devamlılığını sürdürür [37, 40]. Kalsifiye zon, kalsifiye olmamış eklem kıkırdağı ile subkondral kemik arasında mekanik bir tampon olarak işlev görür [37].



Şekil 15. Fibröz kıkırdağın fotomikrografik görünümü [36]



Şekil 16. Eklem kıkırdağının tabakaları [41]

2.2.2. Kondrosit Yapı ve Fonksiyonu

Kondrositler kıkırdak dokusunun büyümesinden ve devamlılığının sağlanmasından sorumludur [38]. Kondrojeniz sırasında orjinal ekstraselüler matriksi sentezleyip salgılayan kondrosit, bu matriksin içinde kalır. Kondrositin kapladığı hacim nedeniyle matriks içinde oluşan boşluklara laküna adı verilir [42]. Kondrojenizin sona ermesi ve kısmen de kıkırdak dokusunda damar ve sinir bulunmaması nedeniyle yetişkin eklem kıkırdağı, metabolik olarak inaktif ya da hipoaktif durumdadır [37]. Yetişkin eklem kıkırdağının kondrositleri matriks bileşenlerinin devamlılığını sağlamak için anabolik ve katabolik süreçler arasında dengeyi sağlayacak şekilde oldukça durağan bir metabolizma sürdürür [43]. Eklem kıkırdağındaki zona bağlı değişiklikler kondrositler arasındaki metabolik farklılıklardan kaynaklanmaktadır [38]. Bu metabolik farklılıkların nedeni de postnatal mekanik yüküdür [44]. Olgun eklem kıkırdağındaki kondrositler normal homeostazi etkileyen mekanik uyarılara, büyüme faktörlerine ve sitokinlere yanıt verme kapasitelerini korur [37, 45].

Orta ve derin zondaki kondrositler göreceli olarak daha iri sitoplazmalı olup; daha iyi gelişmiş endoplazmik retikulumu ve golgi kompleksleri bulundurur. Kıkırdaktaki ana sentez aktivitesi bu iki zondaki kondrositler tarafından gerçekleştirilir [42].

Kondrositlerin oksijen tüketim hızı diğer hücre tiplerinden kat kat azdır [46-48]. Kondrositler gereksinim duydukları enerjinin %95'ini glikolizden sağlar [49, 50] ve glikolizde ATP üretimi için oksijene gerek yoktur [51]. Bu nedenle kondrositler için ana enerji kaynağı olan glikoz, glikozaminoglikan (GAG) sentezi için önemli bir moleküldür [52].

Normal eklem kıkırdağında HIF-1 α ekspresyonu derin tabakalardaki fizyolojik hipoksi sırasında artmış proteoglikan sentezi ile ilgili tonik aktivitenin sürdürülmesini sağlar [37, 53]. Kondrositler hayatta kalma faktörlerinin (HIF-1 α gibi) hücre içi ekspresyonunu ayarlayarak avasküler kıkırdak matriksinde hayatta kalma ve çevre değişikliklerine yanıt verme kapasitesine sahiptir [37].

Eklem kıkırdağı damarsız olduğu için kondrosit, eklem yüzeyinden ya da subkondral kemikten difüzyonla beslenir. Olgun kıkırdaktaki kondrositler Na⁺, K⁺, Ca²⁺ ve H⁺ katyonlarının karşılıklı değişimi için aktif membran transport sistemlerini bulundurur. Bu katyonların hücre içi konsantrasyonları, yük ve kıkırdak matriksi içeriğindeki değişiklikler ile dalgalanma gösterirler [54].

Yetişkin kondrositin fenotipik stabilitesi, gen ekspresyon profili, çeşitli uyaranlara yanıtı, metabolik aktivitesi, sentezlediği matriks tipi ve yerleşim yoğunluğu kıkırdaktaki yerleşimine göre değişiklik gösterir [38, 55-57]. Yüzeyden derin zona doğru gittikçe hücre yoğunluğu azalır. Derin zonda hücre yoğunluğu, yüzeyel zonun yarısı ya da üçte biri oranındadır [58]. Kondrositlerin hacmi de yüzeyelden derine gidildikçe artar [59]. Derin ve orta zondaki kondrositlerin hacmi yüzeyel kondrositlerin hacminin yaklaşık 2 katıdır [60]. Bu zonlardaki kondrositler kültüre edildiklerinde bol miktarda ekstraselüler matriks sentezler [38]. Hücreden en zengin yüzeyel zonda hücreler yassı ya da disk biçimlidir ve yüzeye paralel dizilir [37]. Bu zondaki kondrositler proteoglikan 4 adı verilen ve lubrisin ya da superfisyal zon proteini (SZP) olarak da bilinen bir glikoprotein üretir. Eklem kıkırdağının yüzeyindeki kondrositler katabolik medyatörlerin zararlı etkilerine karşı daha duyarlıdır [38]. Orta zondaki kondrositler daha büyük ve daha elips şekilli görünürler, uzun eksenleri yüzeye paralel yerleşimlidir [42] ve matrikste rastgele dağılım gösterir [37]. Derin zondaki kondrositler elips şekilli ya da yuvarlaktır ve 4-8'li hücre grupları halinde eklem yüzeyine dik sütunlar halinde düzenlenmişlerdir. Kalsifiye zonda hipertrofik kondrositler bulunur [42]. Kondrositler sadece kıkırdak zonları arasında değil, aynı zamanda farklı diartroidal eklemler arasında da farklılık gösterir. Örneğin, diz ekleminden izole edilen kondrositler kıkırdak matriksindeki hasarı arttıran faktörlere ayak bileği ekleminden izole edilen kondrositlere göre daha güçlü yanıt vermektedir [38, 61, 62].

Kondrositler eklem kıkırdağını avasküler halde tutan spesifik anjiogeneز inhibitörleri sentezler [63-65]. Bu inhibitörler troponin I, MMP inhibitörleri, kondromodulin-I ve endostatindir [66, 67].

2.2.3. Kıkırdak Matriksi Yapı ve Fonksiyonu

Eklem kıkırdağı, aynı eklem içinde ve eklemler arasında içerik bakımından farklılık göstermekle birlikte aynı temel bileşenlerden meydana gelir [39, 68]. Yetişkin eklem kıkırdağının matriksi, kıkırdağa gerilim mukavemeti veren ve kollajen fibrillerden meydana gelen yoğun bir ağdan, suyu emme ve bırakma yeteneği ile kıkırdağa basınç direnci sağlayan proteoglikan kafesinden ve bu iki yapının arasında yer alan diğer proteinlerden meydana gelen özel bir yapıdır [69]. Matriksin zonlara göre değişen yapısı, doku sıvısı ile etkileşimini belirleyerek kıkırdağın mekanik özelliklerini ortaya çıkarır [68].

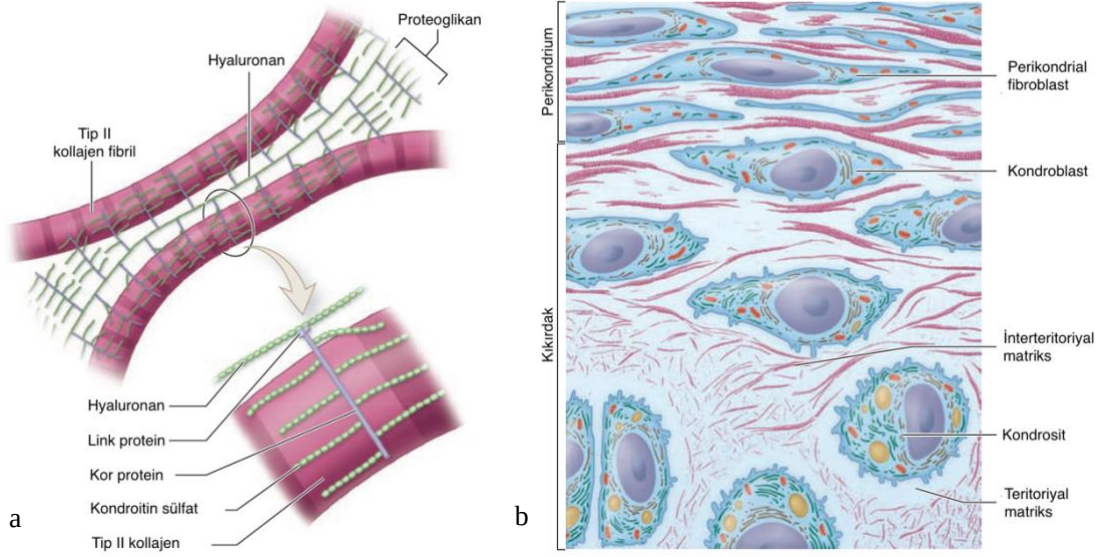
Eklem kıkırdağı için iki besin kaynağı bulunmaktadır. Bunlar sinoviyal sıvı ve subkondral kan damarlarıdır. Sinoviyal sıvı eklem kıkırdağı için ana besin kaynağıdır. Sinoviyal sıvıdaki besinler difüzyonla ya da baskı-gevşeme döngüleri sırasındaki sıvı hareketi ile kıkırdağa girebilir [69, 70]. Hemogloblin (65kD [kilodalton]) kadar büyük moleküller eklem kıkırdağında difüzyona uğrayabilir [71] ve hücre metabolizması için gereken maddeler göreceli olarak düşük molekül ağırlıklıdır [69].

Matriksin düzeni ve içeriği, kondrositten uzaklığına göre değişkenlik gösterir. Matrikste üç bölge tanımlanmıştır. Bunlar:

- Periselüler matriks: Kondrositin yakın çevresindeki matriks bölgesidir.
- Territorial matriks: Periselüler matriksi çevreleyen matriks bölgesidir.
- İnterterritorial matriks: Diğer iki bölgeyi saran matrikstir [42].

Ekstraselüler matriksin temel bileşeni (~%75) sudur [72]. Eklem kıkırdağındaki suyun %30'u kollajen yapısındaki ağ ile sıkı ilişki halindedir. Suyun kalan kısmı proteoglikanlar ile ilişkilidir ve ekleme yük binmesi ve yükün kalkması sırasında serbestçe yer değiştirebilir. Suyun bu hareketi eklemin kayganlığı, kondrositlerin beslenmesi ve canlılığı için önemlidir [42]. Ağırlığa maruz kalan bölgelerdeki sıvı diğer kıkırdak bölgelerine aktarılır. Yük ortadan kalktığında kıkırdak eski haline dönerek sıvıyı geri çeker ve bu sayede karşılıklı besin ve atık değişimi olur [69, 73]. Doku sıvısının diğer bileşenleri katyonlar, gazlar ve küçük proteinlerdir [68]. Kıkırdak matriksini oluşturan su tutan moleküllerin bölgesel farklılıkları nedeniyle su konsantrasyonu da bölgesel farklılık gösterir [68]. Yüzeyel zonun ağırlığının %75-80'i sudur. Bu oran derin bölgelerde %65-70'e kadar düşer [37].

Ekstraselüler matriksin makromolekülleri kollajenler, proteoglikanlar, kollajen olmayan proteinler ve glikoproteinlerdir [39]. Organik bileşenler kıkırdağın yaş ağırlığının %20'sini oluşturur. Ağırlıklı olarak tip II kollajen olmak üzere kollajen, yaş ağırlığının %15-25'ini ve kuru ağırlığın yaklaşık yarısını oluşturmaktadır. Ağırlıklı olarak aggregan olmak üzere proteoglikanlar yaş ağırlığının %10'unu ve kuru ağırlığın yaklaşık %25'ini oluşturmaktadır [37]. Kıkırdağın kuru ağırlığının çoğunluğu iki bileşenden meydana gelmektedir. Bunlar tip II kollajen ve bir proteoglikan olan aggregandır. Bunun yanında bazı minor kollajenler ve küçük proteoglikanlar da kıkırdak matriksinin yapısında rol oynarlar [74, 75].



Şekil 15. Kıkırdak matriksinde tip II kollajen ve proteoglikanların hyaluronana bağlanması (a), perikondrium ve kıkırdak matriksi arasındaki geçiş alanının şematik gösterimi (b) [36]

Kondrositler tarafından sentezlenen matrikste ana komponent olarak çapraz bağlı üçlü helikal tip II kollajen fibriller bulunur ve bunlar diğer kollajenlerle, aggrekan ile, küçük proteoglikanlarla ve kıkırdağa spesifik olan ve olmayan diğer matriks proteinleriyle etkileşime girer [37, 74-76]. Tip II kollajen fibrilleri eklem kıkırdağına yapısal bütünlük ve germe ve itme güçlerine karşı mukavemet verir [68]. Çapraz bağlı tip II kollajen fibriller sistematik yönelimli ağlar oluşturur. Bu ağlar negatif yüklü proteoglikan kümelerini yakalar [37, 77] ve doku içine su akımı olduğunda kıkırdağın 450 miliosmol (mOsm)'den daha fazla şişmesini önlerler [68].

Eklem kıkırdağında bulunan diğer kollajen tipleri olan tip VI, IX, XI, XII ve XIV kollajenler, miktar olarak az olmakla beraber önemli yapısal ve fonksiyonel özelliklere sahiptir. Tip IX ve XI kollajen kıkırdağa spesifiktir. Tip VI, XII ve XIV kollajenler diğer bağ dokularında da bulunmaktadır [74]. Kollajen tip VI kıkırdakta mikrofibriller halinde çok küçük miktarlarda periselüler matrikste bulunmaktadır. Hücre tutunmasında rol oynar; ekstraselüler matriksdeki biglikan, dekorin, fibromodulin, hyaluronan, fibronectin, perlekan ve heparin ile etkileşir ve tip II kollajene de düşük afinitesi vardır [78]. Eklem kıkırdağında birbirine ve tip II kollajene çapraz bağlı şekilde tip III kollajen de bulunmaktadır [79]. Tip IX kollajen tip II kollajenin yüzeyi boyunca çapraz bağlar oluşturur ve tip II kollajenle proteoglikan kümeleri arasında ara bağlantı olarak fonksiyon görür [68]. Bu sayede fibril ağının mekanik stabilitesini artırıp bu ağ tarafından tutulmakta olan proteoglikanların şişme basıncına direncini artırır [37, 74, 80, 81]. Hete-

rotrimerik tip XI kollajen molekülü tip II kollajen ile aynı fibril içine gömülüdür. Tip XI kollajen, fibril çapının ayarlanmasında rol alıyor olabilir. Fibril oluşturmayan FACIT kollajenler olan tip XII ve XIV yapısal olarak tip IX kollajen ile ilişkilidir ve kollajen fiberlerinin paketlenmesini ayarlar [74, 80, 81]. Kalsifiye kıkırdak zonunun yakınında tip X kollajen bulunmaktadır ve bu kollajenin kıkırdak mineralizasyonuna katıldığı düşünülmektedir [68, 82]. Kalsifiye zon tip X kollajen aracılığıyla kıkırdağı kemiğe sabitler [68]. Bu zonda yer alan sınır (tidemark), kalsifiye olmuş ve olmamış kıkırdak arasındaki sınırdır [39].

Yüzeyel zonda kuru ağırlığın neredeyse tamamı kollajendir. Yüzeyel zonda matriks tanjansiyel diziler halinde ince kollajen fibrilleri içermektedir [37]. Yüzeyel zonda proteoglikanlara göre çok daha fazla kollajen bulunmaktadır ve tip II kollajene ek olarak tip I kollajen de sentezlenebilir [83]. Orta zonda kondrositler yüzeye göre oblik düzenlenmiş kalın kollajen fibriller tarafından çevrelenmiştir [68]. Derin zonda kollajen demetleri en kalındır ve kıkırdak yüzeyine dik yerleşimli sütunlar halinde düzenlenmiştir [37].

Eklem kıkırdağının ana proteoglikanı (proteinlerin kuru ağırlığının %35'i) aggregandır [75]. Aggrekan büyümenin düzenlenmesinde, hücre tanınmasında, intraselüler trafikte ve ekstraselüler matriksin tanınması, parçalarının biraraya gelmesi, stabilizasyonu ve hidrostatik basıncın oluşturulmasında rol alır [37, 68]. Küçük bir glikoprotein olan bağlantı proteini (link protein) aggrekan ile hyaluronik asit (hyaluronan) arasındaki kovalent olmayan bağlantıyı stabilize eder [82]. Kıkırdakta az miktarda versikan ve perlekan proteoglikanları da bulunmaktadır. Bunlar esas olarak iskelet gelişimi sırasında fonksiyon görür [84, 85]. Yetişkin eklem kıkırdağında perlekan periselüler matrikste daha fazla bulunur ve kondrositin tutunmasını kolaylaştırır [84].

Şimdiye kadar bulunan 10 LRR (leucine-rich repeat [lösence zengin tekrar]) proteoglikandan sadece osteoadherin kıkırdakta bulunmamaktadır. Bu grubun sistein kalıntı paternlerine göre ayrılan alt grupları:

- Biglikan, dekorin, fibromodulin ve lumikan
- Keratokan, prolin ve PRELP (arginine-rich end leucine-rich repeat protein)
- Kondroadherin
- Epifikan/PG-Lb ve mimekan/osteoglisindir.

Bu proteoglikanlar komşu kollajen fibriller ile çok noktada bağlantı yaparak ağı

stabil hale getirirler. Dekorin, tip II, VI, XII ve XIV kollajenlere, fibronektine ve trombospodine bağlanır [37]. Dekorin tip II kollajen fibrillerinin yüzeyinde bulunur, fibrillerin büyümesini inhibe ettiği düşünülmektedir ve fibrillerin organizasyon ve stabilizasyonuna katkıda bulunur [68]. Yüzeyel zonda dekorin konsantrasyonu yüksek, aggrekan konsantrasyonu düşüktür. Biglikan, dekorin ve fibromodulin, TGF- β 'ya ve EGFR (epidermal büyüme faktörü reseptörü)'ye bağlanarak büyümeyi, yeniden şekillenmeyi ve onarımı düzenleyebilir [37]. Biglikan periselüler matrikste yer alır [86] ve tip VI kollajen ile etkileşir [87]. PRELP ve kondroadherin, sindekan ve $\alpha 2\beta 1$ integrine bağlanarak hücre-matriks etkileşimini düzenleyebilir [88-90]. Derinlere gidildikçe proteoglikan oranı artar ve derin zonda kuru ağırlığın %50'sine ulaşır [37].

Trombospondin ailesinin bir üyesi olan kıkırdak oligomerik proteini (COMP), normal yetişkin eklem kıkırdağının interterritoryal matriksinde yer alan tip IX kollajenle etkileşerek kollajen ağını stabilize eden kollajen ve proteoglikan yapısında olmayan bir proteindir [37, 91]. Matrilin-3 kıkırdak matriks bileşenlerinin biraraya gelmesinde fonksiyon görür [92] ve ekspresyonu yetişkin eklem kıkırdağının tanjansiyel zonundaki ve orta zonun üst kısmındaki kondrositler ile sınırlıdır [93]. Kıkırdak ara kat protein (CILP) eklem kıkırdağının orta/derin zonlarındaki kondrositlerce eksprese edilmekte ve interterritorial matrikste biriktirilmektedir [94]. CILP, pirofosfat metabolizmasında ve kalsifikasyonda rol oynayabilir [37, 95]. Asporin, dekorin ve biglikan ile ilişkilidir ve TGF- β gibi büyüme faktörleri ile etkileşip bunları bağlayabilir [96-98].

Normal yetişkin eklem kıkırdağında matriks komponentlerinin dönüşüm hızı düşüktür [43]. Kollajenin yarı ömrünün 100 yıldan fazla olduğu öne sürülmüştür [99]. Aggrekan alt fraksiyonlarının yarı ömrünün ise 3-24 yıl olduğu tahmin edilmektedir [100].

Periselüler matrikste yüksek miktarda proteoglikan ve protein (tip VI kollajen, dekorin, ankorin, fibronektin) bulunmaktadır. Bu bölgede fibril oluşturan kollajen ya yoktur ya da çok az miktarda bulunmaktadır [68, 78].

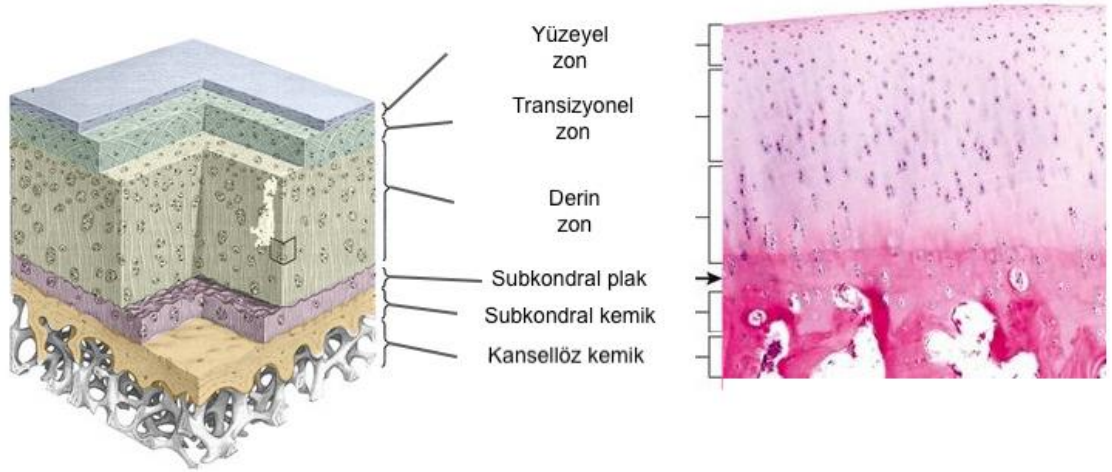
Territoryal matrikste ince kollajen fibriller periselüler matrikse tutunur ve kondrositlerin çevresinde fibrillerden meydana gelen ağlar oluşturur. Bu bölgenin kondrositleri eklemdeki yüklenme sırasında dokuyu hasardan korur [68].

Matriksin büyük kısmı interterritoryal bölgededir. Bu bölgedeki kollajen fibrilleri diğer bölgelere göre en yüksek çapa sahiptir ve bu bölge kıkırdağın mekanik

özelliklerinden sorumludur [68, 101].

2.2.4. Osteokondral Plak Yapı ve Fonksiyonu

Osteokondral plak, subkondral plak adı verilen ince kortikal kemik tabakasından ve eklem kıkırdağının tidemark'ının altında kalan kalsifiye tabakasından meydana gelmektedir [102]. Yetişkin eklem kıkırdağı subkondral kemik plağının (kortikal son plak ya da artiküler kemik plağı) üzerinde oturmaktadır [103]. Subkondral plak, kalsifiye kıkırdak tabakası ile trabeküler kemik arasında yer alan damardan zengin bir kortikal kemik tabakasıdır [103]. Eklem kıkırdağı kollajenden meydana gelen üç boyutlu bir iskelet aracılığıyla subkondral kemiğe bağlıdır [104]. Kollajen fibriller tidemark'ı geçerek kıkırdağı subkondral kemiğe bağlar [105]. Osteokondral birim yaşlanmayla birlikte maruz kaldığı yüke bağlı olarak yapısal değişiklikler gösterir [106]. Subkondral plak, kemik ve kıkırdak arasındaki madde alışverişi alanıdır. Bu alan aracılığıyla kemik, kıkırdağa besin maddelerini ulaştırır. Subkondral plaktaki kan damarı uçları, derin kıkırdak tabakası ile doğrudan temas halindedir [107]. Küçük damarları kortikal son plağı delerek kalsifiye kıkırdak içinde tidemark hizasına kadar ilerlediği gösterilmiştir [108]. Kortikal son plağın kalınlığı yaş, vücut ağırlığı, yerleşim, fonksiyon ve genetik özelliklere göre farklılık gösterir ve merkezdeki ağırlığa maruz kalan alanda en kalındır [103].



Şekil 16. Kıkırdak katmanlarının mikroskopik ve şematik gösterimi [109]

2.2.5. Subkondral Kemik

Subkondral plağın altında subkondral kemik yer alır. Subkondral kemik, trabeküler kemik yapısındadır ve boşluklarında yağlı bir kemik iliği bulunur. Subkondral kemik bölgesinde çok sayıda arteriyel uç dallar bulunur. Bu dallar düzensiz dağılım gösteren ve çapları eşit olmayan sinüzoidlerde sonlanır. Bu sinüzoidler de çok sayıdaki venöz

kökçüklerle bağlantılıdır. Venöz kökçükler ayrı bir transvers sinus oluşturur; bu sinus ince venöz dallara dik konumlanmıştır [103].

Eklem kıkırdağı ve altında bulunan subkondral kemik beraberce fonksiyonel bir osteokondral birim olarak değerlendirilir [105]. Tidemark'ın ve osteokondral bileşkenin kıvrımları oblik yükleri (yırtma stresleri) baskı ve gerilim streslerine dönüştürür. Fizyolojik eklem yüklenme ve serbestleşmelerinde kıkırdak ve subkondral bölge deformasyona uğrar. Bu durum, beslenmenin sağlanması için gereklidir. Diğer yandan proteoglikan, fibril, kemik trabekülü ve kortikal son plakların üretiminin artırılması için tetik görevi görür [103].

2.2.6. Eklem Kıkırdağının Histobiyokimyasal Özellikleri

Artiküler (eklem) kıkırdağın diğer kıkırdaklara nazaran farklı histolojik ve biyokimyasal özellikleri vardır. Artiküler kıkırdak, eklemlerde ağrısız ve rahat hareket sağlamak amacıyla sürtünmesi az, aşınmaya dayanıklı bir yüzey sağlar. Hücreden fakir, lenfatik ve vasküler yapılardan yoksun ancak kondrositler tarafından üretilmiş bol miktarda ekstraselüler matriks içeren bir yapıya sahiptir [110].

Hiyalin kıkırdak yapısına sahip olsa da artiküler kıkırdağı diğer hiyalin kıkırdaklardan (nazal ya da trakea kıkırdakları gibi) ayıran bazı özellikleri vardır. Diğer kıkırdak yapılarında bulunmayan kalsifiye kıkırdaktan başlayarak, artiküler yüzeye doğru ilerleyen ve yüzeyde açılanarak paralel seyreden tip II kollajen lifleri organizasyonuna ve bu liflerin arasında, kolonlar halinde yerleşmiş sferik hücreler ile yüzeyde yassılaşmış kondrositler şeklindeki bir mimariye sahiptir. Bu mimari, eklem yükünün taşınabilmesi için özgün bir yapı olup, çeşitli yöntemlerle sağlanan tamir dokusunda bu mimarinin tekrar edinilmesi günümüz şartlarında olası görülmemektedir.

Sağlıklı yetişkin bir kıkırdakta, sentez faaliyetleri arasında bir denge söz konusu olup bu faaliyetlerden kıkırdaktaki tek hücre tipi olan kondrositler sorumludur [76, 111, 112]. Fetal hayatta kıkırdak enkondral ossifikasyon yoluyla kemik gelişiminde önemli role sahiptir. Erişkin kıkırdakta ise kondrositler genelde durgun haldedir ve kıkırdak matriks döngüsü yavaştır. Replikasyon daha çok derin tabaka ile sınırlanmıştır. Kondrogenez sürecinde (gerek embriyogenez gerekse erişkin kıkırdakta) homeostatik dengenin korunmasında çeşitli büyüme ve transkripsiyon faktörleri [TGF- β , BMPs, IGF-1, FGF-2, GDF-5, PTHrP (paratiroid hormon ilişkili peptid); SOX, RUNX2, Cart-1 ve Ets ailesi], sinyal ve düzenleyici moleküller (Wnt; hedgehog ailesi, CD-RAP) önemli

rollere sahiptirler [113]. İlerleyen, yaşla birlikte kıkırdaki koruyucu bir mekanizma olan otofajinin azaldığı ve yerine altta yatan patolojiye bağlı hücre ölümü ve apoptozise giden yolların aktifleştiği gösterilmiştir [114-116].

Dejeneratif süreçte yıkılan dokunun yerine konulması amacıyla hızlanan kıkırdak döngüsü ile birlikte dokunun ana bileşenlerinden olan kollajenlerin (tip II başta olmak üzere tip VI, IX ve XI) ve aggrekanın sentezi artar.

Dejeneratif eklem hastalıkları ve travmatik yaralanmalar gibi patolojik süreçlerde kondrojeniz için gerekli homeostatik koşullar katabolik yolların lehine bozulur [111, 117]. Kıkırdakta, dokunun avasküler yapısı diğer dokulardan farklı olarak, kanlanmaya bağlı inflamasyon ve onarım ile seyreden klasik iyileşme yanıtını sınırlar. Kısmi hasarlanmalarda doku yerleşik kondrositlerin göç etme kapasitelerindeki sınırlılık ve kan yoluyla taşınan progenitör hücrelerin olmaması nedeniyle kolaylıkla onarılamaz. Kıkırdak rejenerasyonunda sınırlamalara neden olan diğer biyolojik etkenler arasında kıkırdak dokunun sınırlı sayıda hücreye sahip olması ve erişkin kondrositlerin düşük bölünme kapasitesi (mitotik aktivite) sayılabilir [10]. Kıkırdak hasarının doğal yollardan onarımında dokunun tüm özelliklerinin tamamının geri kazanılması mümkün olmayıp tam bir rejenerasyon gerçekleşmez. Kıkırdakın yalnızca bazı yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin geri kazanması söz konusudur [118].

Kıkırdak hasarının endojen onarımı lezyonun derinliği ve hasarın subkondral kemiğe nüfuz edip etmediği ile bağlantılıdır [119]. Örneğin yüzeysel kıkırdak hasarlarında ve canlı kondrositlerin varlığında FGF-2 ve BMP gibi büyüme ve farklılaşma faktörlerinin artışına yanıt olarak kıkırdaka özel matriks bileşenlerinin sentezi ile hasarın tamiri bir dereceye kadar mümkündür [112]. Derin kıkırdak lezyonlarında ise hasar subkondral kemiğe kadar ulaşır. Altta yatan kemik dokudan gelen kanlanma ile kıkırdak dokuya hücre göçü, fibrin pıhtı oluşumu ve inflamasyon süreci ile birlikte granülasyon dokusu oluşur. Kıkırdak rejenerasyonunda periostiumun önemi uzun dönemden beri bilinmektedir. Periostiumda bulunan mezenkimal kök hücrelerin kondrositlere farklılaştığı in vivo ve in vitro çalışmalarla gösterilmiştir [120]. Ancak iyileşme çoğunlukla hyalin kıkırdak dokunun yerine tip I kollajenden zengin, daha az miktarda glikozaminoglikan (GAG) içeren fibrokartilaj bir yapının oluşması ile sonuçlanır [118].

Mezenkimal orijine sahip kondrositlerin fenotipik özelliklerini korumaları ürettikleri ve içinde bulundukları hücre dışı matriks kompozisyonu ile yakından ilişkilidir. Kıkırdak matriksinin önemli yapı taşlarından biri olan proteoglikanlardaki kayıpların kondrosit fenotipi üzerine etkileri bilinmektedir [121]. Proteoglikanlar tarafından devam ettirilen ozmotik dengenin bozulması ve kollajen fraksiyonundaki azalma, dokuda su tutulumu ve şişmeye neden olarak kondrosit etrafındaki rijid, periselüler bölge dahil olmak üzere kıkırdağın mekanik özelliklerini bozar [121]. Kıkırdakta oluşan mekanik inflamatuvar strese yanıt olarak kondrosit disregülasyonunda izlenen önemli fenotipik değişikliklerden biri de hipertrofiye gitmeleridir [122]. Hipertrofiye giden kondrositlerin sonraki aşamada otofaji yerine apoptozise gittikleri gösterilmiştir [123].

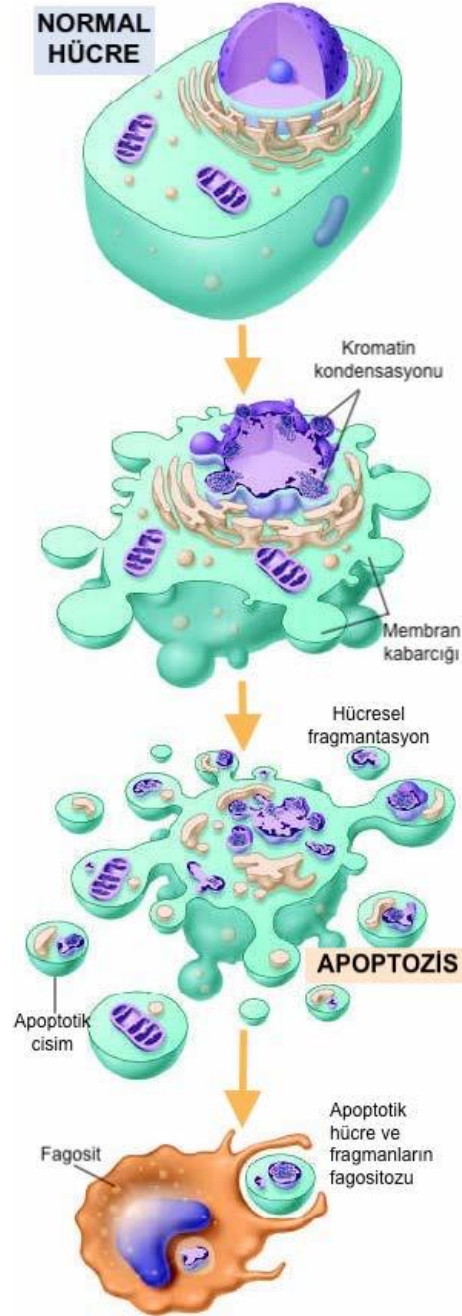
Kıkırdak dejenerasyonunun patogenezinde geri dönüşümsüz hasarlanmada rol oynayan en önemli faktörlerden biri matriks metalloproteinazlardır (MMP). Kıkırdak hasarında gerek kondrositler gerekse bölgeye göç eden hücreler tarafından üretilen matriks metalloproteinazlar (MMP) ve agrekanazlar (ADAMTS) gibi proteazlar katabolik öneme sahiptirler. Bu proteazlar hipertrofik kondrositler tarafından sentezlenir [124]. MMP'ler (örn: MMP1, MMP3, MMP13) ve agrekanazlar (örn: ADAMTS4 ve ADAMTS55) kıkırdak dokunun iki asal molekülü tip II kollajen ve proteoglikan agrekanı yıkarak matriks bütünlüğünde geri dönüşümsüz hasara yol açar [121, 125].

2.3. İnsan Kalçası Biyomekaniği

Kalça eklemi sferoid bir eklemdir. Bu eklem sağlamlığını korurken geniş bir hareket menzili sağlar. Kalçanın dengesinin çoğu, onu saran büyük kaslara kaldıraç görevi sağlamasından ileri gelir. Bu kas hareketleri femur başını asetabulum içine zorlar çünkü orda derinlik vardır. Kapsül diğer eklemlere nazaran gevşektir ve çok yönde daha fazla harekete izin verir.

Femur başı tam bir kürenin yaklaşık 2/3'ünü oluşturur. Baştaki eklem kıkırdağının en kalın olduğu yer medial ve merkez yüzeylerdir. Başın asetabulum içinde aldığı pozisyon femur boynunun normal anteversiyonu tarafından cisim üzerinde 12 derece ve boyun-cisim açısı tarafından ortalama 125 derece etkilenir. Boyun-cisim açısı femuru pelvisten uzak tutarak hareket serbestliği kazandırır. Boyun-cisim açısındaki değişiklik yaygındır ve kalçanın yüklenme şeklini etkileyebilir. Benzer şekilde anteversiyondaki sapma başın asetabulum içindeki pozisyonunu etkiler.

Kalçadan geçen kuvvetler en basit hareketler sırasında bile çok farklıdır ve eklem etrafında hareket eden kasların kuvveti sebebi ile meydana gelir. Çift bacak duruşunda, denge için çok az kasa ihtiyaç duyulduğundan dolayı, eklem tepki kuvveti yaklaşık olarak vücut ağırlığının üçte biri kadardır. Bu normal yürüyüş pozisyonundan farklıdır. Çünkü yürüyüş pozisyonunda eklem tepki kuvveti vücut ağırlığının 6 katına çıkabilir. Kalça eklemi yaralanmalı olgularının rehabilitasyonunda bu nokta çok önemlidir. Çünkü bacak



Şekil 17. Apoptozun hücresel özellikleri
[132]

ağırlığı nedeniyle sallama fazında kalça üzerindeki eklem tepki kuvveti vücut ağırlığından fazla olabilir [2]. Yaralı veya hastanedeki hastanın sürgü alma hareketi sırasında da aynı şekilde eklemden vücut ağırlığının iki misli kuvvet geçirir. Kalçadan geçen en az kuvvet parmak ucuna dokunulan yüklenmedir, bu hareketle bacağın ağırlığına destek kalça yapısından değil yerden sağlanır. Kalça çıkığının biyomekaniği yaralanma kuvvetlerinin faktörlerini, anteverسیون gibi doğal kalça anatomisini ve vuruş sırasında kalçanın pozisyonun içerir. Darbe sırasında daha az anteverسیون ve içe dönük pozisyon kırıklı çıkık değil sadece çıkık oluşturmaya meyillidir.

2.4. Apoptozis

Programlanmış hücre ölümü terim olarak ilk kez 1965 yılında kullanılmıştır. Apoptozis terimi ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır [126-128]. Hücrelerin doğru yer, zaman ve sayıda olmasını sağlayan apoptozis mitozis ile dokuda sürekli bir denge halindedir [129]. Programlanmış hücre ölümü, hücre intiharı, fizyolojik hücre ölümü apoptozis ile aynı anlamda kullanılan terimlerdir [130, 131].

Hücrelerin belirli bir komuta göre hareket etmeleri apoptozisin nekrozdan ayrıldığı noktadır [133, 134]. Apoptoziste ana morfolojik olay, nukleusun yoğunlaşması ve daha sonra parçalara ayrılmasıdır. Normalde bir hücrede birbirini takip eden 7 kırılma onarılırken, apoptoziste yaklaşık 300.000 kırılma meydana gelir ve hücre onarımı yapılamaz [135]. Apoptozis, tek bir hücrede, büzüşme ve çevre hücrelerle olan temasın kaybolması ile karakterizedir. Hücresel büzüşmenin nedeni Na, K, Cl taşıyıcı sistemin durması nedeniyle hücre içi ve dışı arasındaki sıvı hareketinin olmamasıdır. Apoptotik uyarımı alan hücre, hacminin yarısına düşer, çevre ile olan bağlantılarını keser ve mikrovillusları kaybolur [126, 136].

Apoptotik hücre komşu hücreye göre daha küçük ve sitoplâzması daha yoğundur. Endoplazmik retikulum dışında diğer hücre organelleri yapılarını korur [137]. Elektron mikroskopunda gözlenen değişikliklerde, öncelikle plazma membranının şekli bozulur ve kabarcıklanmalar oluşur ki bu yapı 'zeiozis' olarak tanımlanır [127]. Sitoplâzma yoğunluğu arttığı için organeller kalabalık görünür. Hücre zarı sağlam olduğundan nekrozda olduğu gibi bir inflamatuvar reaksiyon gözlenmez [136]. Apoptozis için morfolojik değişimler hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, hücre membran tomurcuklanması olurken sağlıklı hücrelerde plazma membranının içinde bulunan fosfotidilserin açığa çıkar [128, 136, 137]. Fosfotidilserin apoptotik hücrelerde plazma membranının dış yüzünde bulunur ve fagositik hücreler için sinyal görevi görür. Zardaki tomurcuklanma ve parçalara ayrılma olayında transglutaminaz enzimi etkili olmaktadır [127]. Kromatin çok yoğun bir hale gelir ve parçalar halinde bir araya toplanır. Çekirdek porları seçilemez. Çekirdek şekli düzensizleşir ve ileri evrede küçük çekirdek parçalarına bölünür. Çekirdekçik genişler ve granülleri kaba granüller halinde dağılır [138]. Sitoplâzma parçacıkları içeren ve sıkı biçimde paketlenmiş organellerden oluşan zarla sarılı apoptotik cisimcikler, sitokin salgılanmasını ve inflamasyon oluşumunu uyarmaksızın, makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosit edilirler [128, 136, 137].

Apoptotik hücrede kromatin nukleus membranı agregasyon gösterir ve kondanse olur ancak nekroziste kromatin paterni normal hücredekine benzerdir. Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder ve hücre içinden dışına hücre içi materyallerinin çıkışı gerçekleşir. Oysa apoptotik hücre membranı intaktır ve üzerinde küçük cepcikler "membrane blebs" oluşur. Apoptozis ile ölen bir hücrede hücre membranı sağlamdır ve

enflamasyon gözlenmez; nekrozda ise, enflamasyon, hücresel şişme ve hücre zarının bozulması gözlenir [139]. Apoptozis bir hücre hasarına yanıt olarak meydana gelir oysa nekroz genelde hasar sonucu gelişir. Apoptozis önceden belirlenen bir yol ile koordineli olarak meydana gelirken, nekroz birçok biyokimyasal olaydan bağımsız olarak gerçekleşir ve hücrede enerji stoklarının tükenmesi ile aktive olur [140, 141].

Programlı hücre ölümü olgun dokularda intrinsek intihar programının aktivasyonu ile hasarlı, infekte ya da değişime uğramış hücreleri ortadan kaldırmak için hem gelişimde hem de homeostazisde önemli bir mekanizmadır. Apoptozisin başlamasına neden olan ve soy hakkında bilgi içeren sinyaller viral yangı sinyali ya da ekstrasellüler sinyallerdir. Ekstrinsik sinyaller apoptozisi başlatır, ya da baskılar, intihar edecek olan hücrelere yardımcı olabilir ve aynı sinyaller bir hücre tipinde kurtulmayı başlatabilir. İntihar programının aktivasyonu spesifik mRNA molekülerinin sentezini translasyonunu gerektirir. Programlı hücre ölümü bazen hücre ölümünü intrinsek mekanizmalar yoluyla transkripsiyon ya da translasyonu, kısıtlama ile de baskılayabilir.

2.4.1. Apoptozis Mekanizmaları

Apoptoz, kaspaz adı verilen enzimlerin (bu enzimlere proteinleri aspartik residülerin ardından parçalayan sistein proteazlar olmaları nedeniyle bu ad verilmiştir) aktivasyonu ile gerçekleşir. Kaspaz aktivasyonu, pro- ve anti-apoptotik proteinlerin üretim ve yıkımları arasındaki hassas bir dengeye bağlıdır. Kaspaz aktivasyonu ile sonuçlanan iki farklı yolak mevcuttur: mitokondrial yolak ve ölüm reseptörü yolağı. Birbirleriyle kesişebilmelerine rağmen bu iki yol genellikle farklı koşullar altında harekete geçen, farklı moleküllerin işe karıştığı ve fizyolojide ve hastalık durumunda farklı roller oynayan yolaklardır [142].

2.4.1.1. Apoptozun Mitokondri (İntrensek) Yolağı

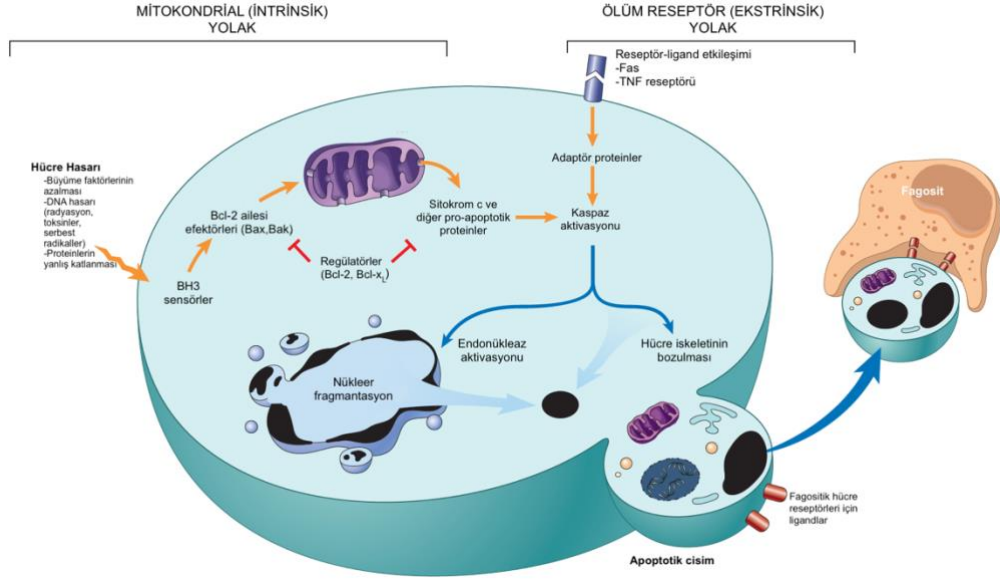
Mitokondrilerde apoptozu başlatabilen çeşitli proteinler vardır. Bunlar sitokrom c ve endojen apoptoz inhibitörlerini nötralize eden proteinlerdir. Hücrenin ölmesi veya yaşamaya devam etmesi arasındaki tercih, prototipi Bcl-2 olan 20'den fazla sayıda protein tarafından denetlenen mitokondri geçirgenliği ile belirlenir. Hücreler büyüme faktörlerinden ve diğer yaşam sinyallerinden yoksun kaldıklarında veya DNA'ya zarar verecek etkenlerle karşılaştıklarında ya da hatalı katlanmış proteinleri çok miktarda biriktirdiklerinde, çok sayıda sensör aktif duruma geçer. Bu sensörler Bcl-2 ailesinin, "BH3 proteinleri" olarak adlandırılan üyeleridir. (Çünkü bunlar Bcl-2 ailesinin korunmuş

domainlerinden üçüncüsünü içerirler.) BH3 proteinleri, ailenin Bax ve Bak adı verilen, pro-apoptotik iki üyesini aktive eder. Bunlar da dimerize olup mitokondri membranına girer ve sitokrom c ile diğer mitokondri proteinlerinin sitozole geçebileceği kanallar oluştururlar. Yine aynı sensörler Bcl-2 ve Bcl-xL adlı anti-apoptotik molekülleri inhibe ederek mitokondri proteinlerinin sitozole geçmesini kolaylaştırır. Sitokrom c, diğer bazı kofaktörlerle birlikte kaspaz-9'u aktive eder. Mitokondriden sitozole geçmiş olan diğer proteinler, apoptozun fizyolojik inhibitörleri olarak iş gören kaspaz antagonistlerini bloke eder. Tüm bu etkileşimlerin net sonucu, hücre çekirdeğinin parçalanmasıyla sonuçlanan kaspaz olaylar dizisinin aktivasyonudur. Oysa hücreler büyüme faktörlerini ve diğer yaşam sinyallerini almaya devam ettiklerinde Bcl-2 ailesinin anti-apoptotik üyelerini sentez ederler. Bunların iki ana tipinden biri Bcl-2'nin bizzat kendisi, diğeri Bcl-xL'dir. Bu proteinler Bax ve Bak proteinlerini antagonize ettiklerinden, pro-apoptotik proteinlerin mitokondriden çıkışını sınırlar. Büyüme faktörlerinden yoksun kalan hücreler yalnızca Bax ve Bak proteinlerini aktive etmekle kalmaz. Ayrıca Bcl-2 ve Bcl-xL düzeylerini de azaltarak dengenin, hücre ölümü yönünde daha fazla değişmesine yol açarlar. Mitokondri yolağı, daha sonra da anlatılacağı gibi, çoğu durumdaki apoptozdan sorumlu gibi görünmektedir [142].

2.4.1.2. Apoptozun Ölüm Reseptörü (Ekstremsk) Yolağı

Birçok hücrenin yüzeyinde, ölüm reseptörleri adı verilen ve apoptozu tetikleyen moleküller vardır. Hücre yüzeyi ölüm reseptörleri Tümör Nekrozis Faktör Reseptör (TNFR) süperaillesine ait transmembran proteinlerinin bir ailesidir. Bu reseptörler hücre dışındaki bölgelerde tekrar eden sistein zengin alanlarında yer alırlar. Ölüm reseptörleri sitoplazmanın iç kısmında 'ölüm bölgesi' (death domain) denen protein zincirleri taşırlar. Ölüm bölgeleri, ölüm reseptörlerine ligand bağlandığı zaman apoptotik mekanizmayı uyarırlar ve hücre dışından gelen uyarıyı hücre içine iletirler [143]. Tip 1 TNF reseptörü ve Fas (CD95), ölüm reseptörlerinin prototipidir. Fas ligandı (FasL), öncelikle aktive T lenfositlerinin yüzeyinde eksprese edilen bir membran proteindir. Söz konusu T hücreleri Fas-taşıyan hedefleri tanıyınca, Fas molekülleri FasL ile çapraz bağlar yapar ve ölüm bölgesi aracılığı ile adaptör proteinlere bağlanır. Bu bağlanma, kaspaz-8 enzimini bölgede toplayarak aktive eder. Kaspaz-8, birçok hücre tipinde, Bcl-2 ailesinin pro-apoptotik Bid adlı üyesini bölüp aktive ederek mitokondriyal apoptoz yolağını besler. Her iki apoptoz yolağının beraberce aktif duruma geçmesi, hücrelere ölümcül bir darbe

vurur. Hücre proteinleri, özellikle de FLIP adıyla bilinen bir kaspaz antagonisti, ölüm reseptörünün kaspaz tarafından aktivasyonunu önler. İlginç olarak, bazı virüsler FLIP homologlarını üretir. Virüslerin bu mekanizmayı, enfekte hücreleri canlı tutmak amacıyla kullandığı öne sürülmektedir. Ölüm reseptörü yolağı kendi kendilerine karşı reaktif (self reactive) lenfositlerin ortadan kaldırılmasında ve hedef hücrelerin, sitotoksik T lenfositleri tarafından öldürülmesinde rol oynamaktadır [142].



Şekil 18. Apoptozis mekanizmaları [132]

2.4.1.3. Kaspazların Aktivasyonu ve Fonksiyonu

İntrensek ve ekstrinsek apoptoz yolları, sırasıyla kaspaz-9 ve -8 adlı, öncü kaspazları aktive eder. Bu enzimlerin aktif şekilleri, infazcı kaspazlar adı verilen, başka bir seri kaspazı bölerek aktive eder. Bu aktive kaspazların çok sayıda hedefi etkilemesi DNA'yı ve nükleer proteinleri parçalayan nükleaz enzimlerinin aktivasyonu ile sonuçlanır. Kaspazlar ayrıca çekirdek matriksinin ve hücre iskeletinin diğer bileşenlerinin yıkımına da neden olarak hücrenin parçalanmasına yol açarlar [142].

Apoptozisi başlatan yolların kesiştiği kavşak noktanın mitokondri olduğu görülmüştür. Bu yüzden mitokondrinin aktivasyonu ile sitokrom c'nin mitokondriden sitoplazmaya salıverilmesi sonucu apoptotik süreçte geri dönülemez noktayı gösterir. Mitokondrinin aktivasyonuna yol açan en önemli faktör Bcl-2 ailesidir. Hem pro-apoptotik hem de anti-apoptotik üyeleri olan bu ailenin üyelerinin mitokondri üzerindeki etkileriyle ya sitokrom c'nin sitoplâzmaya salıverilmesi gerçekleşir veya sitokrom c'nin sitoplazmaya salıverilmesi baskılanır. Apoptozis indükleyici faktörün mitokondriden çe-

kirdeğe geçmesi, apoptozis başlatıcı faktörün (AIF) salınımındaki artışı, mitokondrial transmembran potansiyelinin kaybolması, periferel kromatin kondenzasyonu ve plazma membranında fosfolipidlerin ortaya çıkmasına neden olur [144]. Bunun sonucunda yüksek moleküler ağırlıklı (50 kbp [kilobase pair]) DNA fragmentasyonu gerçekleşir. Bu etkiler kaspazlardan ve AIF'nin oksidoredüktaz aktivitesinden bağımsızdır [145]. Kaspaz aktivasyonundan bağımsız olan EndoG aktivasyonu, nükleozomal DNA fragmentasyonuna neden olabilir [145]. EndoG'nin salınımı, kaspaz aktivasyonuna paralel olarak apoptotik programı başlatabilir. Bax ve Bak, BH3-only proteinlerin mitokondriye hareket etmeleri [146] ve sitokrom c salınımının düzenlenmesi için gereklidir. Hücrenin yaşayabilirlik durumu pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyelerinin rölâtif oranına bağlıdır.

Kaspazlar apoptozis mekanizmasında yer alan önemli protein grubudur. Hücre sitoplâzmasında inaktif (zimojen) olarak bulunurlar ve proteolitik olarak birbirlerini aktifleştirirler. Böylece bir kaskad şeklinde işlerler. Aktif merkezlerindeki sisteinden dolayı sistein proteaz olarak adlandırılan enzim grubudur. Apoptoziste hücreyi parçalayan yani apoptotik morfolojinin oluşumunu sağlayan etkenler “effectors” olarak bilinirler. Bu güne kadar tanımlanan 14 kaspaz bulunmaktadır. Bunun haricinde kaspaz ailesi fonksiyonlarına göre iki alt kategoriye ayrılır:

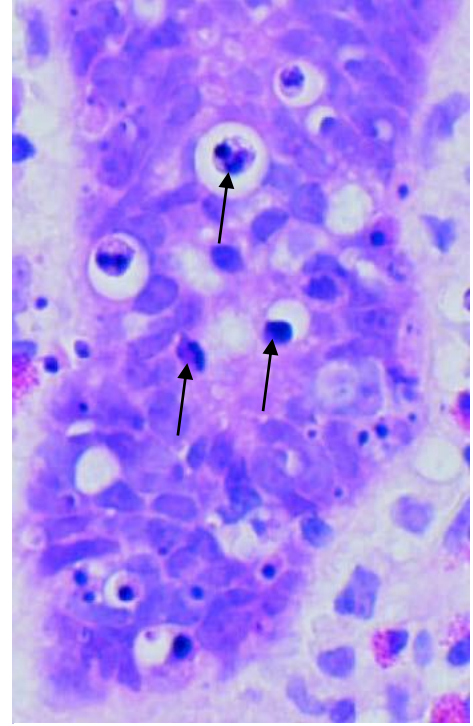
- Başlatıcı kaspazlar
- İlerletici kaspazlar

Başlatıcı kaspazlar, 90 aminoasitten fazla aminoasit içeren Kaspaz-gerektiren domain (CARD) bölümü ile ölüm domaini (DD) ve ölüm efektör domaini (DED) içeren N-terminal domain öncülü ile karakterizedir. Apoptotik sinyal yolunun erken safhasında etki gösterirler ve apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini ilerletici kaspazlara iletirler [147]. Kaspaz İnhibitörlerinden bazılarının önemli olduğu durumlar nöro-dejeneratif hastalıklar, iskemi-reperfüzyon zedelenmesi ve otoimmün hastalıklardır. Kaspazlar potansiyel hedefleri oluşturarak bu hastalıkların tedavisinde inhibitör tedavide kullanılabilirler. Reseptörler aracılığıyla kaspaz aktivasyonuna ve apoptozise yol açarlar. Diğer yol mitokondriden Sitokrom-c sitozol içerisine bırakılır ve kaspaz aktivasyon proteinine (Apaf 1) bağlanır. Ardından Apoptozom olarak adlandırılan multiprotein yapısındaki kaspaz aktive eden kompleksin toplanmasına neden olur.

2.4.2. Apoptotik Proteinler

2.4.2.1. Sitokrom c

Sitokrom c, apoptozis sırasında mitokondriden salındığında kaspaz aktivasyonunu başlatan, mitokondrial elektron zincirinin bir bileşenidir [148, 149]. Mitokondriyal yolla tetiklenen apoptotik yolun erken fazında mitokondrial membran potansiyelinin bozulması ve ardından sitokrom c'nin salınması genel olarak önemli rol oynar. Sitokrom c normalde iç mitokondri zarına anyonik fosfolipid olan 'kardiolipin' ile birlikte bağlıdır. Kardiolipin mitokondriye özeldir, iç mitokondri zarında predominant olarak bulunur. Kardiolipin ile sitokrom c'nin ayrılması ve sitozole salınması apoptozisin başlaması için ilk adımdır. Mitokondrial elektron transport zinciri ile reaktif oksijen radikallerinin ortaya çıkması; sitokrom c'nin harekete geçmesi ve kardiolipinden ayrılması ile sonuçlanır [150].



Resim 1. Apoptotik hücrelerin morfolojik görünümü (oklarla gösterilmiştir) [132]

2.4.2.2. Apoptozis Başlatıcı Faktör (AIF)

AIF mitokondrinin iç membranında bulunur. AIF 57 kD ağırlığında bir flavoprotein olup apoptozis başlangıcında mitokondriden çekirdeğe geçerek kromatin kondensasyonu yoluyla DNA fragmentasyonunu sağlar. AIF oksidoredüktaz aktivitesi gösterir [151]. Bu etkiler kaspazlardan ve AIF'nin oksidoredüktaz aktivitesinden bağımsızdır. AIF'nin çok fazla salınımı sonucunda, periferik kromatin kondensasyonu, mitokondrial transmembran potansiyelinin kaybolması ve plazma zarında fosfolipidlerin ortaya çıkması ile yüksek moleküler ağırlıklı (50 kbp) DNA fragmentasyonu meydana gelir [145].

2.4.2.3. Anti-Apoptotik Proteinler

2.4.2.3.1. p53

Apoptozun düzenlenmesi, p53 ile başlayan ve kaspazlara kadar devam eden bir süreçtir. Bir tümör süpresör gen olarak çalışan p53 mutasyona uğradığı ya da bulunmadığı zaman hücre yaşamı uzar. Genotoksik olaylarla oluşan hücre hasarı, bir transkripsiyon

regülatör geni olan p53'ü aktive eder. p53 protein ürünü, DNA'ya doğrudan bağlanarak hasarı tanıdıktan sonra, ya G1'de hücre siklusunun durmasını indükleyerek tamir için gerekli zamanı kazanır ya da hasar fazlaysa apoptozise yönlendirir. Ayrıca p53'ün Bax/Bax, Bax/Bcl- 2, Bcl- 2/Bcl- 2 gruplarının oranlarını düzenlediği düşünülmektedir [127, 152].

2.4.2.3.2. Bcl-2

Bcl-2 ailesi apoptotik kaskadın kontrolünde en önemli gruptur ve bir düzineden fazla üyesi vardır [153, 154]. Bunlardan bazıları apoptotik aktivitenin öncüleri iken (bax ve bad), diğerleri antiapoptotik (hücre koruyucu) proteinlerdir [154]. Bu proteinlerin seviyeleri hücrenin öleceğine veya yaşayacağına karar verir. Bcl-2 ailesi proteinlerinin etki yeri mitokondridir ve bcl-2 güçlü bir ölüm inhibitörüdür [154]. Antioksidan yolda mitokondriden sitokrom-c salınımını engellemede rol oynar. Bcl-2 mitokondri membran dışında, endoplazmik retikulum ve nükleer membranlarda bulunur. Bcl-2 ayrıca Raf 1 ve kalsinörine bağlanır [154-157].

2.4.2.3.3. Bcl-xL

Bcl-xL mitokondri membran dışında lokalizedir. Bcl-xL ve Bcl-2 beraberce mitokondri membran geçirgenliğini korurlar. Pro-apoptotik proteinleri (Bax ve Bad) inhibe ederek apoptozisi engeller [158]. Bcl-xL kaspaz aktivasyonunu, Apaf-1 üzerinden önler [153, 159, 160]. Bax ve bad proteinleri etkilerini diğer bir protein ailesi; kaspazlar üzerinden gerçekleştirir. Bunların sayısı da bir düzineden fazladır. Kaspazlar sistein proteazlardır, aktiviteleri hücre ölüm yolunda ortaya çıkar. Kaspaz-9, bcl-2 ailesi tarafından stimüle veya inhibe edilir. Kaspaz-2 ve kaspaz-8, TNF- α gibi sitokinler tarafından aktive edilir.

2.4.2.3.4. c-myc

Bir transkripsiyon düzenleyici faktör olan c-myc proteini, ortamda bazı faktörlerin bulunmasına bağlı olarak hücrenin proliferasyonuna ve apoptozise uğramasına neden olur [161]. c-myc protoonkogeni bir hücrenin büyümesini programlar. Eğer hücrede hem c-myc hem de uygun büyüme faktörleri yoksa büyüme durur, her ikisi de yeterli ise çoğalma olur, c-myc olduğu halde büyüme faktörleri yoksa apoptozis görülür.

2.4.2.4. Pro-Apoptotik Proteinler

2.4.2.4.1. Bid Protein

Yaşayan hücrelerde sadece sitoplâzmada bulunur. Aktivasyonları sitokrom c'nin sitoplazmaya salınımını sağlar [149].

Tablo 1. Apoptozis tanı yöntemleri

Apoptozis Tanı Yöntemleri					
	Morfolojik görüntüleme	İmmuno-histokimyasal	Biyokimyasal	İmmünolojik	Molkeüler Biyoloji
Işık	Hematoksilen	Anneksin-V	Agaroz Jel	ELISA	DNA
Miroskobu	Boyama	Yöntemi	Elektroforez		Microrrays
Kullanımı	Giemsa Boyama				
Floresan		TUNEL	Western	Fluorimetrik	
Miroskobu/Lazerli		Yöntemi	Blotting	Yöntem	
Konfokal Mikroskop					
Elektron Mikroskobu		M30 Yöntemi	Flow Sitometri		
Faz Kontrast Mikroskobu		Kaspaz-3 Yöntemi			

2.4.2.4.2. Bad Protein

Bad, birçok normal hücrede bulunmaktadır. Bad'ın apoptotik veya yaşam sinyal yolağındaki etkisi proteinin fosforilasyon-defosforilasyon mekanizması ile düzenlenir [162].

2.4.2.4.3. Bim ve Bmf Proteinleri

Bim, normalde mikrotübüllerle ilişki içinde olan dynein motor kompleksi ile birlikte bulunur. Apoptozis indüksiyonu esnasında mitokondriye göç eder. Pro-apoptotik aktiviteye sahiptir ve Bmf, apoptozisin tetiklenmesi sırasında mitokondriye göç eder ve Bcl- 2 ailesi ile etkileşime girerler [163].

2.4.3. Apoptozis Tanı Yöntemleri

Apoptozis tanı yöntemleri içerisinde apoptotik hücre morfolojisinin değerlendirilmesinde kullanılan ışık, floresan, lazerli konfokal, elektron ve faz kontrast mikroskobu ile inceleme yer alır. DNA fragmentasyonlarının belirlenmesinde agaroz Jel elektroforezi, enzimatik yolla DNA fragmentasyonlarının belirlenmesi ISEL, TUNEL, in

situ hibridizasyon tekniği ve anneksin-V yöntemi ile apoptozise özgü proteinlerin saptanması ve flow sitometri yöntemi kullanılır [141, 164, 165].

2.4.3.1. TUNEL Yöntemi

DNA'nın 180- 200 baz çifti ve bunun katları şeklinde kırılması olarak ifade edilen DNA fragmentasyonu programlı hücre ölümünün belirleyici özelliğidir [166]. DNA'nın bu özelliği agoroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir. Fakat bu yöntemlerle apoptozisin kesinliği değil DNA'nın fragmentasyonunun anlaşılması için tanımlayıcıdır. Enzimatik yolla DNA fragmentasyonunun tespiti de TUNEL yöntemi ile olmaktadır.

Terminal deoksi-nükleotidil transferaz (Tdt) kökenli dUTP-biotin nick-end labelling adının kısaltılması olan TUNEL metodu, apoptozise giden hücrelerdeki DNA fragmentasyonlarının enzimatik yolla belirlenmesiyle apoptozise giden hücreleri tespit etmektedir.

TUNEL yöntemi 1992 yılında Gavrieli ve arkadaşları tarafından doku kesitlerinde ve hücrelerde ilk defa kullanılmıştır [167]. TdT enziminin aktivitesi için DNA'nın 3' ucu biotinlenmiş dUTP ile birleşir. İn situ olarak DNA fragmentasyonlarının belirlenmesinde ise (ISEL), çoğunlukla Kornberg polimeraz (E. Coli'den elde edilen DNA polimeraz) DNA polimeraz I'in Klenow fragmenti ve TdT kullanılmaktadır [168]. Bu yöntemler, tek ya da çift iplikli DNA kırıklarına işaretlenmiş nükleotidlerin bağlanması esasına dayanır. DNA fragmentasyonunda DNA iplikleri internükleozomal bölgelerde kırılma olur ve DNA'nın 3'-OH ucu ortaya çıkar. Avidin peroksidaz tekniği için 3,3'-diaminobenzidine (DAB) veya 3-amino- 9-ethylcarbazole (AEC) gibi kromojenler kullanılarak biotinlenmiş nükleotidler belirlenir. Dioksijenin işaretli nükleotidler, alkalen fosfataz, biotin ya da peroksidaz işaretli sekonder antikorlar kullanılarak belirlenebilir. Hematoksilen, metilgreen ya da DAPI ile rutin artalan boyaması kullanılarak TUNEL veya ISEL reaksiyonları belirgin hale getirilebilir. Ancak bu iki metodun zayıf tarafları vardır. Bunlardan birincisi apoptozis altındaki hücrelerde internükleozomal DNA fragmentasyonunun ölçülememesi, ikincisi ise DNA fragmentasyonunun apoptozisle mi ilişkili olduğu yoksa DNA'nın rasgele olarak nekrozis ile mi parçalandığı fark edilemeyebilir. O nedenle apoptotik DNA fragmentasyonu biyokimyasal analizler ile desteklenmelidir.

2.5. Trombositden Zengin Plazma (Platelet Rich Plasma)

TZP (Trombositden zengin plazma), küçük hacimdeki plazma içine sıkıştırılmış otolog trombosit konsantrasi olarak tanımlanabilir. TZP içerisinde yüksek seviyede trombosit, büyüme faktörleri ve pıhtılaşma faktörleri bulunmaktadır [12, 13].

TZP 3 farklı teknikle elde edilebilir:

- Tromboferez: Bu teknikle yüksek konsantrasyonlarda trombosit ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü elde edilirken, lökosit sayısı azdır. Ama uygulama giderleri yüksektir.
- Tek-döndürme (Single-spin): Uygulama gideri daha azdır. Kandaki düzeyinin 3 katı kadar trombosit elde edilirken, lökosit varlığı engellenmiş olur.
- Çift-döndürme (Double-spin): Sekiz kat fazlaya kadar trombosit elde edilirken yüksek oranda lökosit varlığı mevcuttur.

TZP ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçlarını değerlendirirken hangi tip TZP kullanıldığını bilmek önemlidir. Dohan Ehrenfest ve ark. kullanılan TZP ürünlerini dört kategoriye ayırmıştır (kıkırdak bölüm 27 8):

- Saf TZP (P-PRP): düşük miktarda lökosit veya lökositten fakir trombosit zengin plazma. Sıvı solüsyon veya aktive jel formunda elde edilebilir.
- Lökosit zengin TZP (L-PRP): Saf TZP'den daha fazla lökosit ve trombosit içerir. P-PRP gibi L-PRP'de jel ve sıvı olarak kullanılabilir.
- Saf trombosit zengin fibrin (P-PRF veya PRFM, platelet rich fibrin matrix)
- Lökosit ve trombosit zengin fibrin (L-PRF)

İşlenmemiş pıhtı bünyesinde %94 kırmızı kan hücreleri, %5 trombosit ve %1 beyaz küre hücreleri bulunmaktadır. TZP tarafından oluşturulan pıhtıda ise bu oran % 94 trombosit, %5 kırmızı kan hücreleri ve % 1 beyaz kan hücreleri olarak değişir [16]. TZP'nin çeşitli klinik kullanım şekilleri mevcuttur. TZP direk lezyon bölgesine enjekte edilerek, içerisine kalsiyum eklenerek jelleştirildikten sonra başka hücreler için taşıyıcı olarak ya da greft materyelleri ile karıştırılarak kullanılabilir [17]. TZP'nin etkinliğini kaybetmeden 8 saat içerisinde uygulanması önerilmektedir; fakat ilk 1 saatte büyüme faktörlerinin %95'i salınır bu nedenle en hızlı şekilde kullanımı önerilmektedir. Etkinliği uygulanan bölgede 7 güne kadar devam etmektedir [14].

TZP ayrıca makrofaj hücrelerinin aktivasyonunu sağlayarak defans mekanizmasının harekete geçmesini, içerdiği lökositler ve lökositlerden salgılanan

interlökinler sayesinde spesifik olmayan immün cevabın oluşmasını sağlamaktadır. 2010 yılında Kathleen ve ark. tarafınca yapılan çalışmada TZP'nin Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Candida albicans ve Cryptococcus neoformans gibi bakterilere karşı antimikrobial özellik taşıdığı ve konak dokuda bu etkinliğin sürdüğü gösterilmiştir [15].

TZP klinikte birçok alanda kullanım bulmaktadır. Bunların başlıcaları; oral maksillofasiyal cerrahi, baş-boyun cerrahisi, otolaringoloji, kardiyovasküler cerrahi, plastik cerrahi, oftalmoloji, yanık tedavisi, yumuşak doku lezyonlarının tedavisi, ortopedi ve travmatolojik cerrahi pratik uygulamalarıdır [12-17]

2.5.1. Trombositler ve Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörleri

Trombositler 2-4 µm çapında, disk şeklinde, mitokondri ve mRNA içermesine rağmen çekirdek içermeyen sitoplazma parçacıklarıdır. Yapısal olarak çekirdekleri yoktur ancak mitokondri, mikrotübül ve granüller (α , δ ve λ) içerirler. Trombositlerin aktive olması durumunda içerdikleri birçok protein ve büyüme faktörlerini ortama salgırlar. Trombositler, hemostazis, hücre membranı adherensi, agregasyon, pıhtı oluşumu ve anjiogeneziste rol oynarlar [169]. Yapısal olarak trombositler, organizasyon ve fonksiyonlarına göre 4 bölgede incelenebilir. Bunlar:

- a. Periferik bölge
- b. Membran bölge
- c. Yapısal bölge
- d. Organel bölge

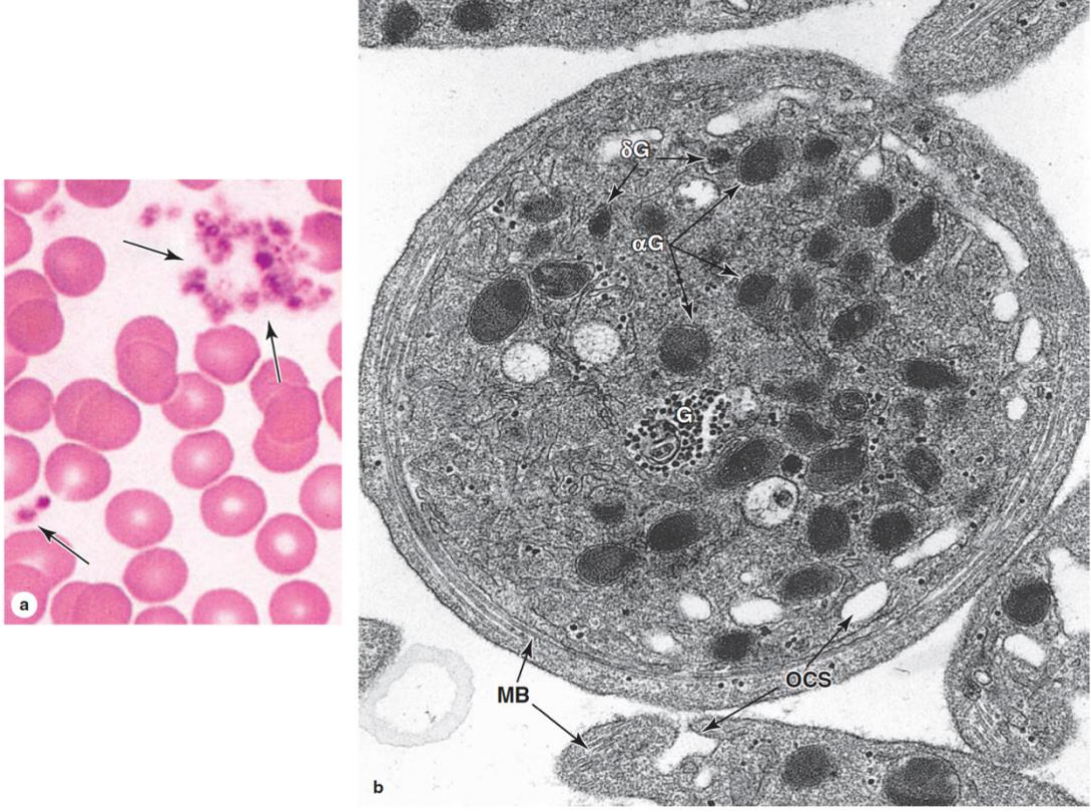
Bu bölgelerden organel bölge kısmında mitokondri, peroksizomları, glikojen partiküllerini ve granülleri (α , δ ve λ) içerir.

α (alfa) granüller, hem megakaryositik dönemden beri sentezlenmeye başlanan proteinlerin paketlenildiği, hem de doğal iyileşme potansiyeli olan proteinlerin depolandığı granüllerdir [170]. α granüllerde PDGF, TGF- β , ECGF, EGF, VEGF, IGF, İnterlökin- β gibi hücrel mitojenler bulunmaktadır [170].

2.5.1.1. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)

PDGF'ler, hücrel düzeydeki etkilerini, iki yapısal tirozin kinaz reseptörü olan PDGF- α ve PDGF- β üzerinden sağlayan, disülfid köprülü dimerik büyüme faktörü ailesindendir ve beş farklı PDGF ligandı bulunmaktadır. Hem homodimer hem de heterodimer formları (PDGF-AB) bulunmaktadır [170]. PDGF, fibroblastlar, vasküler

düz kas hücreleri, glomerüler mezengial hücreler gibi mezenkimal hücreler için potent bir mitojen ve kemotaktik ajandır [12].



Resim 2. Agrege olmuş trombositlerin periferik kan yayma morfolojik görüntüsü (a), α granül (αG) ve δ granülün (δG) elektron mikroskop görüntüsü [36]

2.5.1.2. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

EGF ve EGF reseptörleri tirozin kinaz reseptörlerine bağlanarak etki gösterirler. Etkileri deri ve müköz membranların bazal hücreleri ile sınırlıdır [171].

2.5.1.3. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

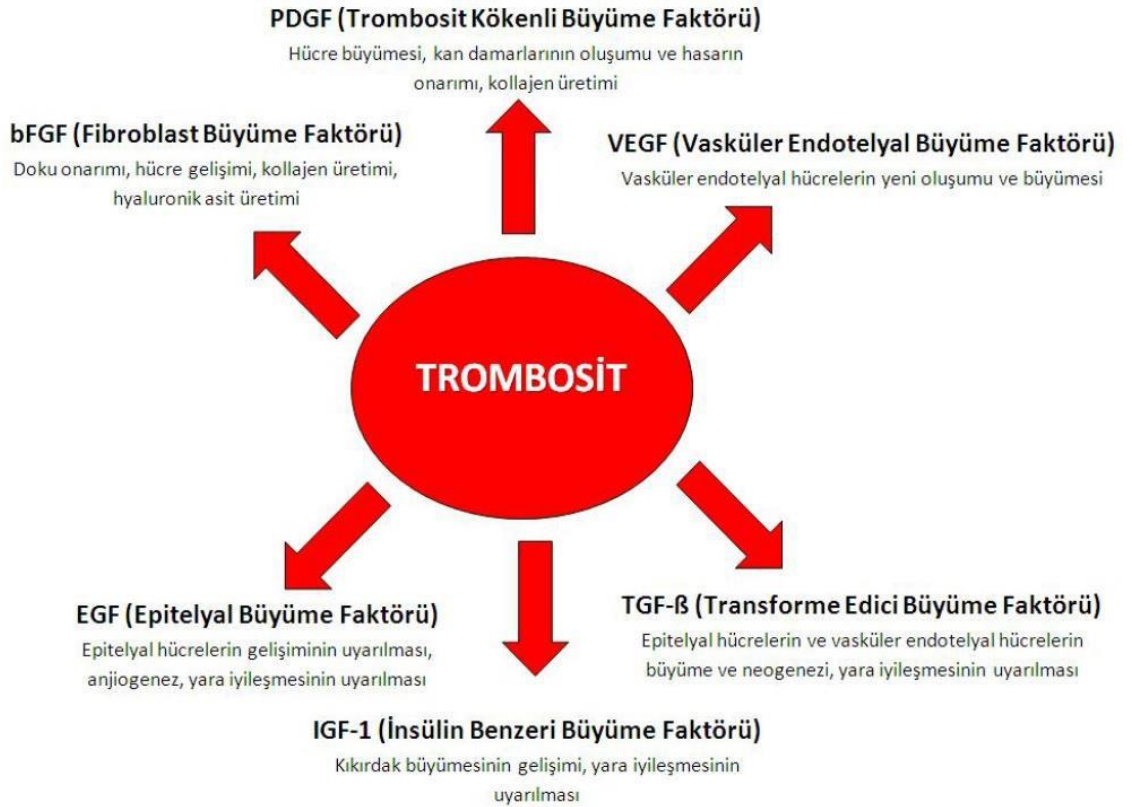
VEGF, tirozin kinaz reseptör ailesinden 2 reseptöre bağlanarak etki gösterir: VEGFR-1 ve VEGFR-2. VEGFR-2, VEGF'nin bağlandığı ana reseptördür ve VEGF'nin vasküler endotelial hücreler üzerindeki proliferatif etkisini indükler. VEGFR-2'ye bağlanan VEGF, intrasellüler kinazlar aracılığı ile reseptörlerini otofosforiller ve bu da mitojenik ve proliferatif sinyalini oluşturmaya sağlar [172].

VEGF en kuvvetli fizyolojik ve patolojik anjiogeneze uyarıcısı olduğu tespit edilmiştir [173, 174]. Yara bölgesinde meydana gelen hipoksi VEGF'nin en önemli uyarıcısıdır. Yara iyileşmesinde önemli rol oynayan fibroblast, inflamatuvar ve endotelial hücrelerin proliferasyonu ve göçünün uyarılmasında görevlidir ve vasküler geçirgenliği artırır [175, 176].

2.5.1.4. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

FGF, asidik FGF (aFGF veya FGF-1) ve bazik FGF (bFGF veya FGF-2) gibi 20'den fazla büyüme faktörünü içeren bir aileden oluşmaktadır. FGF'ler sinyali 4 adet tirozin kinaz reseptörü aracılığı ile iletirler (FGFR 1-4).

FGF-2 anjiogenezise önemli katkılarda bulunur. Ayrıca iskelet ve kardiyak kasların gelişimi, akciğer olgunlaşması, karaciğerin endodermal hücrelerden özelleşmesinde ve kırıldak gelişiminde önemli rol oynamaktadır FGF-2 ya da diğer adıyla bilinen bazik FGF, FGF ailesinin üyesi olup birçok hücre tipi için güçlü bir mitojendir. FGF-2 aynı zamanda embriyogenezde, hücre farklılaşmasında ve pluripotent kök hücrelerin kök hücre olarak kalmasını sağlamada önemli bir role sahiptir [177]. Önceki çalışmalar göstermiş ki FGF-2 tek tabaka kültürlerindeki insan mezenkimal kök hücrelerinin proliferasyonunda ve sonrasındaki kondrojenik diferansiasyonu düzenlemektedir [178-181]



Şekil 19. Trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin görevleri [182]

2.5.1.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-1)

İnsülin benzeri büyüme faktörleri tümör hücreleri dahil birçok hücrenin farklılaşması ve çoğalması için pozitif düzenleyici ajanlardır. Hücre koruyucu özellikte olan sitokinler hücreler için çoğalma mediatörleri olmakla beraber hücre apoptozisini de

*Tablo 2. TGF- β süper ailesi
Belirlenen Aktiviteleri*

<i>İsimleri</i>	
<i>BMP-2 alt grubu</i> BMP-2 [DppD] BMP-4	Gastrulasyon, nörogenez, kondriogenez, interdijital apoptozis; kurbağada mezoderm oluşumu; sinekte dorsalizasyon, gözler ve kanat oluşumu
<i>BMP-5 alt grubu</i> BMP-5 [60 AD] BMP-6/Vgr1 BMP-7/OP-1 BMP-8/OP-2	BMP-2 ve 4 ile birlikte bu alt grup hemen hemen bütün organların gelişimine katılırlar; nörogenezis
<i>GDF-5 alt grubu</i> GDF-5/CDMP-1 GDF-6/CDMP-2 GDF-7	Kol ve bacakların oluşumunda kondriogenez
<i>BMP-3 alt grubu</i> BMP-3/osteogenin GDF-10	Osteojenik farklılaşma, encondral kemik oluşumu, monosit kemotaksisi
<i>Ara Üyeler</i> Nodal [Xnr 1-3x] Dorsalin GDF-8 GDF-9	Aksiyel mezoderm indüksiyonu, sağ-sol asimetrisi Nöral tipte hücre farklılaşmasının düzenlenmesi İskelet kası büyümesinin inhibisyonu
<i>Aktivin alt grubu</i> Aktivin β A Aktivin β B Aktivin β C Aktivin β D	Hipofiz hormonu olan folikül stimüle edici hormonun (FSH) üretimi, eritroid hücre farklılaşması; kurbağada mezoderm indüksiyonu
<i>TGF-β alt grubu</i> TGF- β 1 TGF- β 2 TGF- β 3	Epitel ve hemopoietik hücrelerde hücre döngüsünün tutulması, mezenşimal hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının kontrolü, ekstraselüler matriks üretimi, immün baskılama
<i>Diğer Üyeler</i> MIS/AMH İnhibin α GDNF	Müller kanalının gerilemesi FSH üretiminin inhibisyonu ve aktivinin diğer faaliyetleri Dopaminerjik nöronların sürekliliği, böbrek gelişimi

düzenleyici etkiye sahiptirler [183]. IGF-1 kırıkta matriksi sentezi ve kırıkta tamiri ile ilişkili majör büyüme faktörlerinden biridir. Tip 2 kollajen, proteoglikan ve diğer matriks komponentlerinin sentezini düzenlemektedir [184].

2.5.1.6. Transforme Edici Büyüme Faktörü (TGF- β)

TGF- β ve benzer faktörler, 2 tip reseptör olan serin/treonin protein kinazları bir araya getirerek gen ekspresyonunu düzenlerler. Transforming Growth Factor- β (TGF- β) ailesi, gelişimi çok yönlü kontrol eden ekstrasellüler büyüme faktörlerinin büyük bir grubunu oluşturur [185]. Kemik morfojenik proteini (BMP) de bu ailenin bir alt üyesidir [49, 186].

TGF- β alt grubundan olan TGF- β 1 en geniş dağılıma sahip olanıdır. BMP-2 kondrosit differansiasyonu ve matriks maturasyonunda rol oynamaktadır. BMP-7 ya da diğer adıyla osteojenik protein-1 (OP-1) kondrositlerde kırıkta spesifik ekstrasellüler proteinlerden; tip 2 ve 4 kollajen, aggregan [ACAN=kartilaj spesifik proteoglikan kor protein (CSPCP) veya kondoritin sülfat proteoglikan 1], dekorin, fibronektin, hyaluronat vb proteinleri stimule etmektedir [38, 187-189]. In vitro olarak kemik yakınına enjekte edildiğinde, yeni kırıkta ve kemik oluşumunu arttırdığı ancak kemik alanının uzağına enjekte edildiğinde yeni kemik oluşumunu azalttığı gösterilmiştir [190].



Resim 3. Travmatik kalça çıkığının klinik görüntüsü [192]

2.6. Travmatik Kalça Çıkıkları

Kalça eklemi yapısı dolayısıyla stabildir, yerinden çıkması için ciddi miktarda güç uygulanmalıdır. Sadece kalça çıkığı veya femur başı kırığı ile birlikte kalça çıkığı genelde yüksek enerjili travma sonrası meydana gelir ve çoğunlukla incelenmesi gereken eşlik eden kırıklarla birlikte olur

[191]. Motorlu taşıt kazasından sonra kalça çıkığına maruz kalan olguların %95'inde yatarak tedaviyi gerektiren eşlik eden yaralanmalar vardır [6]. Yaralanmaları gözden kaçırmamak için standart travma değerlendirilmesine ek olarak, detaylı bir kas iskelet sistemi ve nörolojik muayane ve detaylı röntgen değerlendirmesi gereklidir.

Kalçaya olan travma sırasında kırıkta zedelenmesi, femur başı beslenmesinin bozulması, cerrahın kontrolü dışındadır. Redüksiyonun zamanlaması ve doğruluğu gibi diğer faktörler ise çıkığı bir acil durum olarak görüp doğru değerlendirmeye pozitif

olarak etkilenir. Kalça travmaları sonrası komplikasyonlar yaygındır ve bunların arasında avasküler nekroz (AVN), artroz, sinirsel yaralanma, heterotopik ossifikasyon ve tekrar çıkık sayılabilir [193-201]. Eklem faresi aşındırması ve AVN gibi kısa dönem komplikasyonlardan kaçınılsa bile, kalça çıkığının uzun dönem sonucu tahmin edildiği kadar iyi değildir. Tatmin etmeyen sonuçların sıklığı çoğunlukla dejeneratif artrit nedeniyledir ve bu oran %50 kadardır [197, 202]. Kalça çıkıkları ve femur başı kırıklarının tedavisi acil redüksiyon ile komplikasyonların engellenmesi, tutarlı ve stabil bir eklem sağlanması yönündedir.

2.6.1. Travmatik Kalça Çıkığının Yaralanma Mekanizması



Resim 4. Travmatik kalça çıkığı [192]

Kalça çıkıklarının çoğu yüksek enerjili motorlu taşıt travması sonucu meydana gelir. Emniyet kemeri takmamış sürücülerde kalça çıkığı olasılığı daha yüksektir [203]. Diğer yaralanma mekanizmaları arasında düşmeler, yayaların taşıt çarpmasına maruz kalması, endüstriyel kazalar ve spor yaralanmaları vardır [2-7].

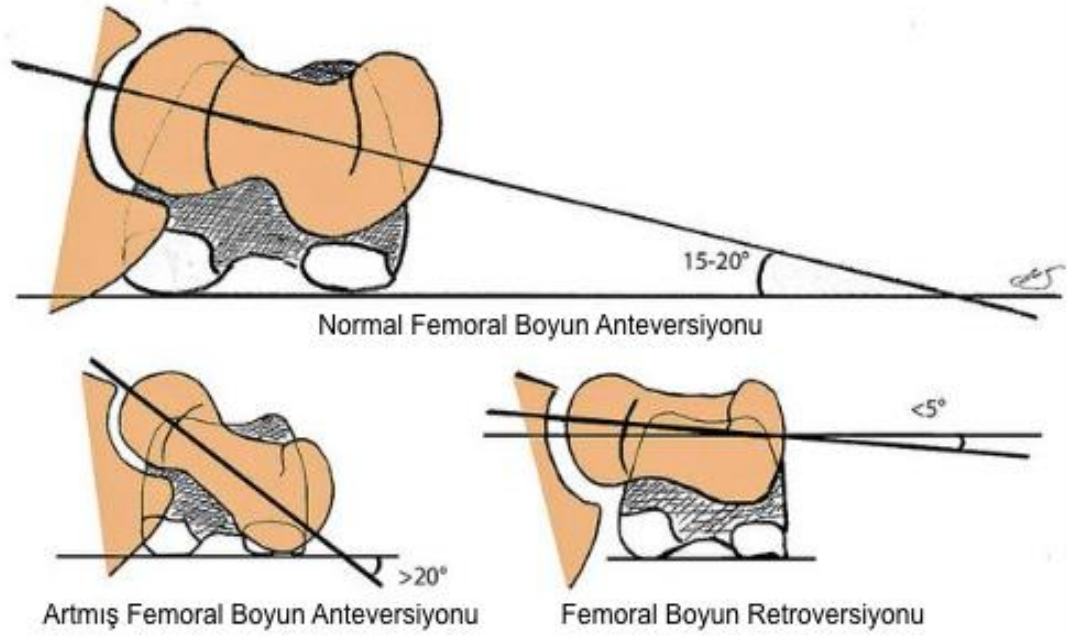
Kırıklı çıkık veya sadece çıkık durumlarında çıkığın yönünü etkileyen faktörler kalçanın pozisyonu, etki eden kuvvetin vektörü ve bireyin anatomisidir. Arkaya çıkıklar öne çıkıkların neredeyse 9 katıdır [7, 197, 200, 202]. Arkaya çıkık oluşması için tipik bir mekanizma da olgunun dizi, diz ve kalça fleksiyonda iken ön panele

çarpar. Femur boyunca uzunlamasına bir kuvvet uygulandığında, kalça ne kadar fazla fleksiyon ve addüksiyonda ise, oluşacak çıkığın tam olacağı Letournel tarafından vektör analizi kullanılarak açıklanmıştır [204]. Daha az addüksiyon ve iç rotasyon kırıklı çıkığa neden olur, bu durumda femur başı asetabulum arka duvara vuracağından asetabulum arka duvar kırığı ya da femur başında yırtılmaya neden olur. Yırtılma yaralanması Pipkin tarafından açıklanmış bir tipte yaralanmadır ve bu durumda femur başının bir parçası asetabulumda kalır sağlam kısmı arkaya çıkar.



Şekil 20. Dashboard (gösterge paneli) yaralanması [192]

Başın vurma anındaki pozisyonunun yaralanmanın tipinde büyük rolü olduğu kavramı Upadhyay ve arkadaşları tarafından desteklenmiştir [205]. Bu çalışmada çıkıklı ve kırıklı çıkıklı olgularda femoral anteversiyon incelenmiştir. Kırıklı çıkık olgularında normal popülasyona göre daha fazla kalça anteversiyonu gözlenmiştir. Azalan anteversiyon, başı daha arka pozisyona getirerek sadece çıkık oluşturur. Bunun tersi olarak da daha büyük anteversiyon ve daha az içe dönme kırıklı çıkığa neden olur. [206]



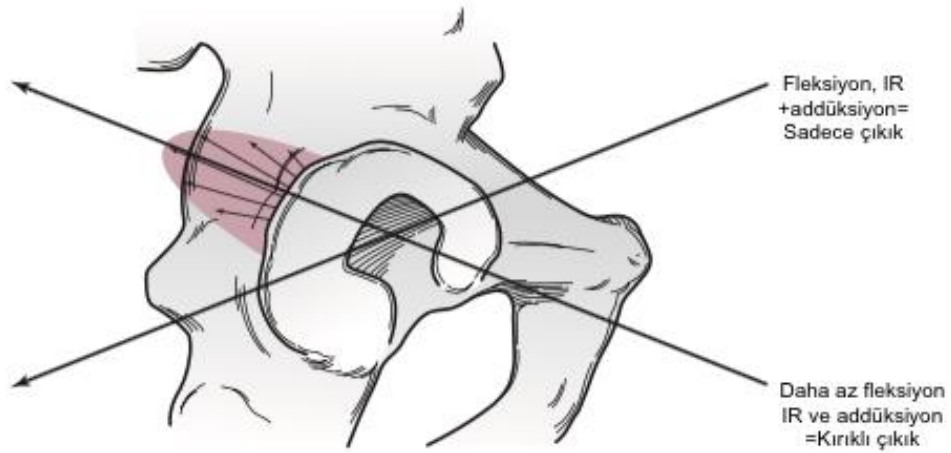
Şekil 21. Femur boyun versiyonunun şematik gösterimi [206]

Daha az görülen öne çıkıklar hiperabduksiyon ve ekstansiyon sonucudur [7, 207]. Bu mekanizma frene basılan yaralanmalarda görülür, olgu bu durumda rahat bir pozisyonudadır ve vuruş anında bacaklar fleksiyonda abduksiyonda ve dışa dönük durumdadır. Aynı mekanizma bacakların sıkı hiperabduksiyonda olduğu motorsiklet kazalarında da görülür. Kadavra kullanılarak yaptıkları çalışmada Prinyle ve Edward 128 hiperabduksiyon ve dış rotasyonla öne kalça çıkığı oluşturmuşlardır. Kalça fleksiyonun derecesi öne çıkığın tipini belirler, ekstansiyon superior pubik çıkığa yol açarken fleksiyon sonucunda inferior obturator çıkığı meydana gelir.

2.6.2. Travmatik Kalça Çıkığı Deneyisel Modeli

Büyük çoğunluğu (%45-85) yüksek enerjili travmaların neden olduğu uzun dönem morbidite ile sonuçlanabilen travmatik kalça çıkıkları ciddi bir yaralanma şeklidir. Travmatik kalça çıkıkları ortopedik acillerden olup erken redüksiyon ile komplikasyonlar

azaltılabilir. Her şeye rağmen, %40–80 hastada iyi veya mükemmel sonuç görülebilmektedir. Travmatik eklem çıkıklarının uzun dönem sonuçları bulunmaktadır. Bu çıkıklara bağlı kalça ekleminde çeşitli mekanizmalarla oluşan patolojik sekeller görülmektedir. Bu mekanizmalar çıkık sırasında mekanik etkiyle oluşan kıkırdak hasarı ve kemiği besleyen damarlardaki kan akımının azalmasına bağlı olarak oluşabilmektedir. Bu değişiklikler Papavasiliou tarafından tavşanlarda gösterilmiştir. Papavasiliou asetabulumun şeklinde düzensizleşme ve fibrotik değişiklikler gösterdiğini, sığlaştığını buna karşılık femur başında makroskopik ve mikroskopik olarak kaliteli kıkırdak yapısı bulunduğunu göstermiştir [9]. D'Lima ve arkadaşları in vivo ve in vitro hayvan türleri arasında değişik birçok yaralanma modelleri kullanarak kondrosit apoptozisi hakkında çalışmalar yapmışlardır [208-210]. Osteoartrit gibi dejeneratif kıkırdak hastalıklarıyla korele olan kondrosit apoptozisi [208, 211-213] kıkırdak hasarı [208-210, 212] ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir.



Şekil 22. Aksiyel yüklenme sırasında oluşacak travmatik kalça çıkığının kalça pozisyonuna göre meydana gelecek yaralanma tipi [21]

Kalça eklemi çıkığı femur başı avasküler nekrozu için risk faktörüdür. Bu avasküler nekrozun kalçanın çıkık olarak kaldığı süre ile alakalı olduğu 2000 yılında Mehlman ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir [214]. Mehlman'ın çalışması ışığında avasküler nekroz riskini azaltmak için çıkık oluştuktan sonraki 6 saat içinde redüksiyon önerilmiştir [215]. Çıkık oluştuktan sonra çıkığın redüksiyonunun geciktirilmesi femur başı hücrelerinde apoptozis kaskadın başlamasına neden olacaktır [20].

Trombositten zengin plazma (TZP) içerisinde birçok büyüme faktörü bulunmaktadır [12, 13]. TZP içerisindeki trombositlerin α (alfa) granüllerinde bulunan

bu büyüme faktörleri PDGF, TGF- β , ECGF (epitelyal hücre büyüme faktörü) , EGF, VEGF, IGF, İnterlökin- β gibi hücresel mitojenlerdir [170].

Eklem travmasına bağlı kıkırdak hasarı sonucu, kıkırdakta meydana gelen iyileşme süreci dokunun avasküler yapıda olması kanlanmaya bağlı inflamasyon ve onarım ile seyreden klasik iyileşme yanıtını sınırlamakta ve kartilaj dokunun avasküler yapısı nedeniyle kandaki progenitor hücreler hasarlı bölgeye ulaşamamaktadır. Kıkırdak rejenerasyonunda sınırlamalara neden olan diğer biyolojik etken ise kıkırdak dokunun sınırlı sayıda hücreye sahip olması ve erişkin kondrositlerin düşük bölünme kapasitesi (mitotik aktivite) sayılabilir [10].

Travmatik kalça çıkığı kalça (femoroasetabular) eklemine olumsuz yönde etkileyen bir hastalıktır ve her iki kıkırdak yüzeyinde uzun ve kısa dönemde çeşitli dejenaratif durumlara yol açtığı bilinmektedir. Bu dejenaratif sürecin tedavisi tam olarak yüz güldürücü sonuçlar vermemektedir. Bu amaçla çalışmamızda kıkırdak dahil pluripotent hücrelerin diferansiyasyon ve olgunlaşmasını sağlayan büyüme faktörlerince zengin otolog yollarla sıçan kanından elde edilen TZP'nin izolasyonu yapılacak olup, bu TZP'nin deneysel travmatik kalça çıkığı modeli oluşturulan sıçanlarda femur başı kıkırdağının iyileşmeye olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu inceleme kıkırdak dokunun histopatolojik olarak değerlendirmesi şeklinde olup; apoptozise giden kondrositler TUNEL yöntemi ile tespit edilecektir. Literatürde benzer bir çalışmaya rastlanmamış olması bu çalışmanın planlanmasında dikkate alınmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Gaziantep Üniversitesi tarafından desteklenen TF.DT.19.47 proje numaralı bu deneysel çalışma, Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığının (HADYEK) 24/10/2019 tarih, 99 protokol no ve 2019/20 karar nolu izni ile uygun görülmesini takiben deneye başlandı. Denekler Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden (GAÜNDAM) temin edildi. Çalışmadaki örnek sayısı biyoistatistiksel olarak ön değerlendirme ile yapılmış olup; ağırlıkları 324 ile 617 gr arasında 20-24 haftalık erişkin 24 adet Sprague-Dawley (SD) cinsi sağlıklı erkek sıçanlar kullanıldı. Deney GAÜNDAM laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada; travmatik



Resim 5. GAÜNDAM ameliyathane odası

kalça çıkığı modeli oluşturulan sıçanlarda trombositden zengin plazmanın (TZP) sıçan femur başı kondrositlerine olan etkisi araştırıldı.

3.1. Deney Dizaynı

Cerrahi işlemler sırasında 24 adet sıçan 3 ana gruba; her ana grup da 2 alt gruba ayrıldı (Tablo 3). Bunlar:

- **Grup 1a;** Sağ kalçası disloke edilip 1 saat süre ile disloke halde beklenildikten sonra kalça eklemının redüksiyonu sonrası eklem kapsülü dikilip kapsül içine 30 µl TZP ve 20 µl fosfat tamponlu salin (PBS) verilen grup. (50 µl, TZP+PBS)
- **Grup 1b;** 1a grubunda kullanılan hayvanların sağ kalçası çıkartıldıktan hemen sonra sol kalçası disloke edilip 1 saat süre ile disloke halde beklenildikten sonra sol kalça eklemının redüksiyonu sonrası eklem kapsülü dikilip, içine sadece PBS verilen grup. (50 µl, PBS)
- **Grup 2a;** Sağ kalçası disloke edilip 2 saat süre ile disloke halde beklenildikten sonra kalça eklemının redüksiyonu sonrası eklem kapsülü dikilip kapsül içine 30 µl TZP ve 20 µl PBS verilen grup. (50 µl, TZP+PBS)
- **Grup 2b;** 2a grubunda kullanılan hayvanların sağ kalçası çıkartıldıktan hemen sonra sol kalçası disloke edilip 2 saat süre ile disloke halde beklenildikten sonra sol kalça eklemının redüksiyonu sonrası eklem kapsülü dikilip, içine sadece PBS verilen grup. (50 µl, PBS)
- **Grup 3a;** Sağ kalçası disloke edilip 8 saat süre ile disloke halde beklenildikten sonra kalça eklemının redüksiyonu sonrası eklem kapsülü dikilip kapsül içine 30 µl TZP ve 20 µl PBS verilen grup. (50 µl, TZP+PBS)
- **Grup 3b;** 3a grubundan kullanılan hayvanların sağ kalçası çıkarıldıktan hemen sonra sol kalçası disloke edilip 8 saat süre ile disloke halde beklenildikten sonra sol kalça eklemının redüksiyonu sonrası eklem kapsülü dikilip, içine sadece PBS verilen grup. (50 µl, PBS)

Tablo 3. Çalışmamızdaki denek gruplarının tablo ile gösterimi

		1 Saat Boyunca Her İki Kalçanın Çıkık Olarak Tutulduğu Grup 1 (n=8)	2 Saat Boyunca Her İki Kalçanın Çıkık Olarak Tutulduğu Grup 2 (n=8)	8 Saat Boyunca Her İki Kalçanın Çıkık Olarak Tutulduğu Grup 3 (n=8)
Aynı	Hayvanın	Grup 1a (n=8)	Grup 2a (n=8)	Grup 3a (n=8)
Sağ	Kalçası			
(Deney Grubu)				
Aynı	Hayvanın	Grup 1b (n=8)	Grup 2b (n=8)	Grup 3b (n=8)
Sol	Kalçası			
(Kontrol Grubu)				

3.2. Deney Hayvanlarının Bakımı

Tüm deney hayvanlarına, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık olacak şekilde standart oda koşulları sağlandı. Oda ısısı 18-20 °C arasında tutuldu. Sıçanlar ad libitum olarak beslendi. Hipotermi oluşmasını engellemek için sıçanlar hem ışık kaynağı hem de ısıtıcı altında ameliyat edildi ve uyanma esnasında da vücut ısıtması uygulamaya devam edildi.

Sıçanlar kafese sekizerli şekilde randomize dağıtıldılar. Tüm sıçanların kulaklarına kulak küpesi takılarak numaralandırma yapıldı. Deney modeli yapıldıktan sonra cerrahi alan katları usulüne uygun suture edildi. Sütur hattına % 0,2 nitrofurazon (Furacin® Merhem, Zentiva a.s.) topikal olarak tatbik edildi. Çalışma sonunda tüm sıçanlara, anestezisi altında servikal dislokasyon ile ötenazi uygulandı.

Tablo 4. Çalışmamızda kullanılan farmakolojik ajanlar

Kullanılan Farmakolojik Maddeler	Uygulama Yolu	Uygulama Dozu - Amacı
İzofluran (İsoflurane-USP®, Piramal Critical Care Inc.)	İnhaler	% 3-4 (indüksiyon anestezisi) % 1-2 (idame konsantrasyon)
% 0,2 Nitrofurazon (Furacin® Merhem, Zentiva a.s.)	Haricen	Yara yeri enfeksiyon profilaksisi
% 10 Povidon-iodür	Haricen	Cerrahi alan sterilizasyonu

3.3. Deneyde Kullanılan Malzemeler

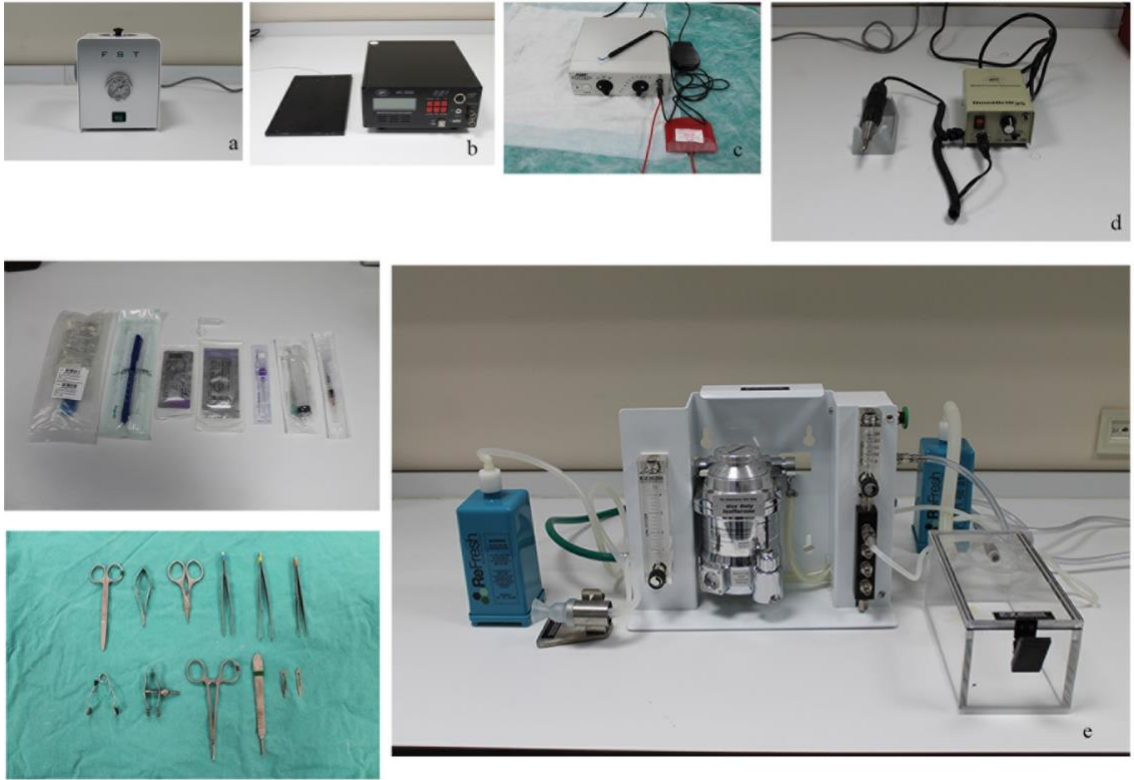
Kullanılan alet, malzeme, farmakolojik ve kimyasal ajanlar tablo 5, 6 ve 7’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Patoloji spesmenlerinin hazırlanması ve TUNEL metodu ile bu spesmenlerin boyanmasında kullanılan kimyasal ajanlar (TUNEL Chromogenic Apoptosis Detection Kit, ABP Bioscience®)

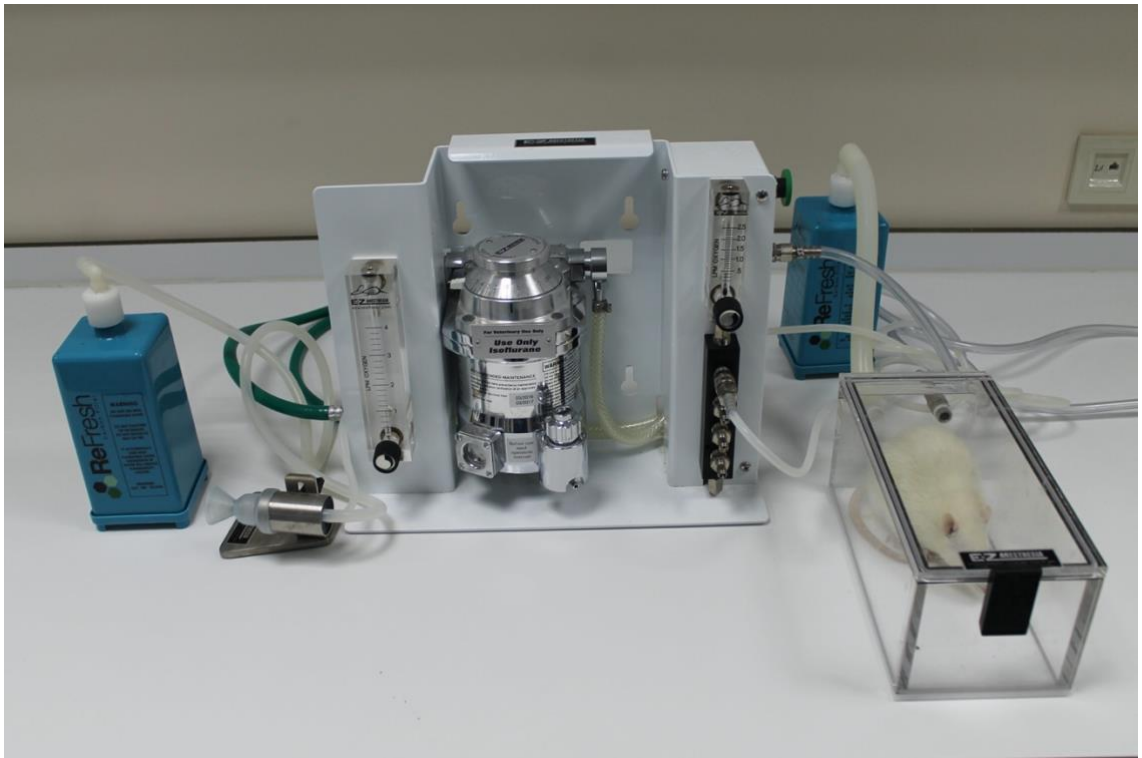
%10’luk Tamponlu formaldehit	Salin sodium sitrat tampon (SSC buffer)
Epandorf	Hematoksilen zıt boyama
%20’lik Formik asit	Mounting medium
Fosfat tamponlu salin (PBS)	Staining buffer (0,6 M NaCl, 60 mM sodium sitrat, %0,1 TritonX-100, %1 BSA, pH 7,4)
%4 Formaldehid	Proteinaz Kb (isteğe bağlı)
%0,2 TritonX-100	Deparaffinize solüsyon (isteğe bağlı)
%3 Bovine serum albumin (BSA)	
%2 Hidrojen peroksit	

Tablo 6. Çalışmamızda kullanılan sarf malzemeler

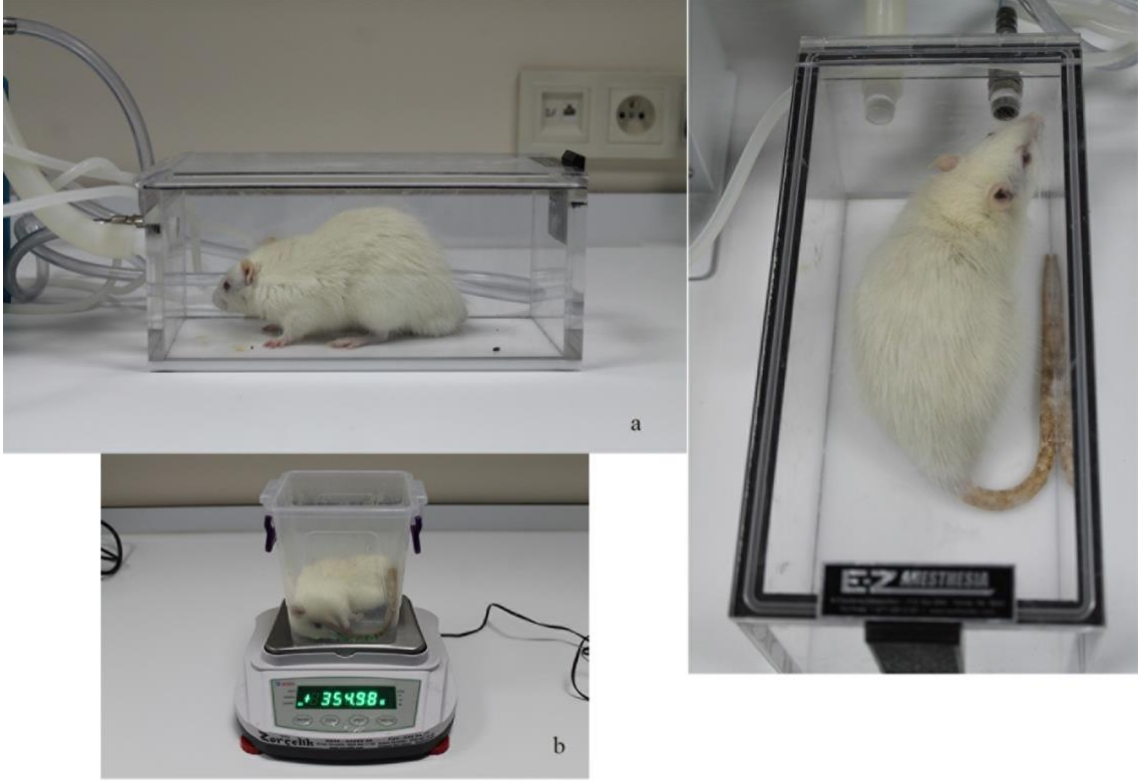
Kullanılan Malzemeler	
Hassas tartı	Steril gazlı bez
Tıraş makinesi	Vaporizatör
Kronometre	Doku makası
Mini otoklav cihazı	Penset
Hayvan termoregülasyon cihazı	Portegü
Enjektör (10-20 ml)	Koter cihazı
İnsülin enjektörü	Drill cihazı
Hamilton enjektörü	Sitratlı tüp
Çizim kalemi	Dikiş (4/0 vicryl, 2/0 PGA, 2/0 vicryl)
Steril eldiven	Bistüri (15 no)
Steril örtü seti	Otomatik ekartör



Resim 6. Sarf malzemeleri (a. Mini otoklav, b. Termoregülasyon cihazı ve ısıtıcı plak, c. Monopolar koter, d. Drill cihazı, e. İzofluran uyumlu vaporizatör)



Resim 7. Uyutma kafesine alınmış sıçan



Resim 8. Travmatik kalça çıkığı modeli yapılacak sıçanın preop hazırlıkları
(a. Uyutma kafesi, b. İndüksiyon anestezi yapılmış sıçanın preop ağırlık ölçümü)

3.4. Travmatik Kalça Çıkığı Modeli ve Cerrahi İşlemler

3.4.1. Travmatik Kalça Çıkığı Modelinin Oluşturulması

Denek genel anestezi altında prone (yüz üstü) pozisyonda yatırılıp her iki kalça cerrahi alanındaki tüyler traş makinesi ile traşlandı. Her iki alt ekstremité kalça manipülasyonu amaçlı serbest bırakıldı. Ameliyat alanı %10 povidon-iodin ile temizlenip; steril örtü seti ile cerrahi alanın sterilizasyon koşullarına azami şekilde dikkat edilirdi. Her iki trokanter majoru içine alacak şekilde horizontal 3 cm insizyonla posterior yaklaşım kullanıldı. Cilt, cilt altı yağ doku ve gluteal kasların diseksiyonu sonrası siyatik sinir korunarak kalça eklem kapsülüne ulaşıldı. Kapsül kesimi (kapsülotomi) asetabulumu paralel şekilde uygulanıp sonrasında ligamentum teres kesildi. Sonra kalça fleksiyon ve addüksiyonda iken kıkırdak dokuda mekanik hasarı engellemek için hafif bir güçle iç rotasyona alınarak kalça posteriora disloke edildi. Daha sonra gluteal kaslar acetabulum ve femur başı arasına yerleştirilerek spontan redüksiyon engellendi. Sol kalçaya da sağ kalçadaki modelleme bittikten hemen sonra aynı işlemler uygulandı. Hayvanların bulundukları gruplara göre belirlenen sürelerde her iki kalça çıkık vaziyette anestezi altında bekletildi.



Resim 9. Deneğin cerrahiye hazırlanması (a. Cerrahi alanın traş makinesi ile kıllardan temizlenmesi, b. Deneğin ısıtıcı plağa yerleştirilmesi, c. Cerrahi alanın steril hale getirilmesi, d. Sıçanın maske ile inhaler anesteziye alınması

3.4.2. Trombositten Zengin Plazmanın Hazırlanması

TZP eldesi için her sıçanın femoral ven kanülasyonu ile yaklaşık 1 ml kan elde edildi. Elde edilecek kanın pıhtılaşmaması için 2 cc trisodyum sitratlı [0,3 mL, 0,109 M (%3,2) $C_6H_5Na_3O_7$] tüplere konuldu. Toplanan kan 2 aşamalı santrifüj protokolüne uygun şekilde santrifüj için hazırlandı [16]. 22°C sıcaklıkta 3000 rpm devirde santrifüj cihazında 13 dakika santrifüje tabi tutulmasının ardından eritrositlerin tüpün en alt kısmında toplandığı ve plazma, trombosit vb. kan elemanlarının ayrıldığı gözlemlendi. Üstte kalan plazma ile beraber bu ara tabaka ayrı bir tüpe alındı. Plazma ve trombositleri içeren bu tüp ikinci kez 5000 rpm devirde 17 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu işlem sonucunda trombositlerin üzerinde yine beyaz ince bir tabaka oluşturduğu ve trombosit-

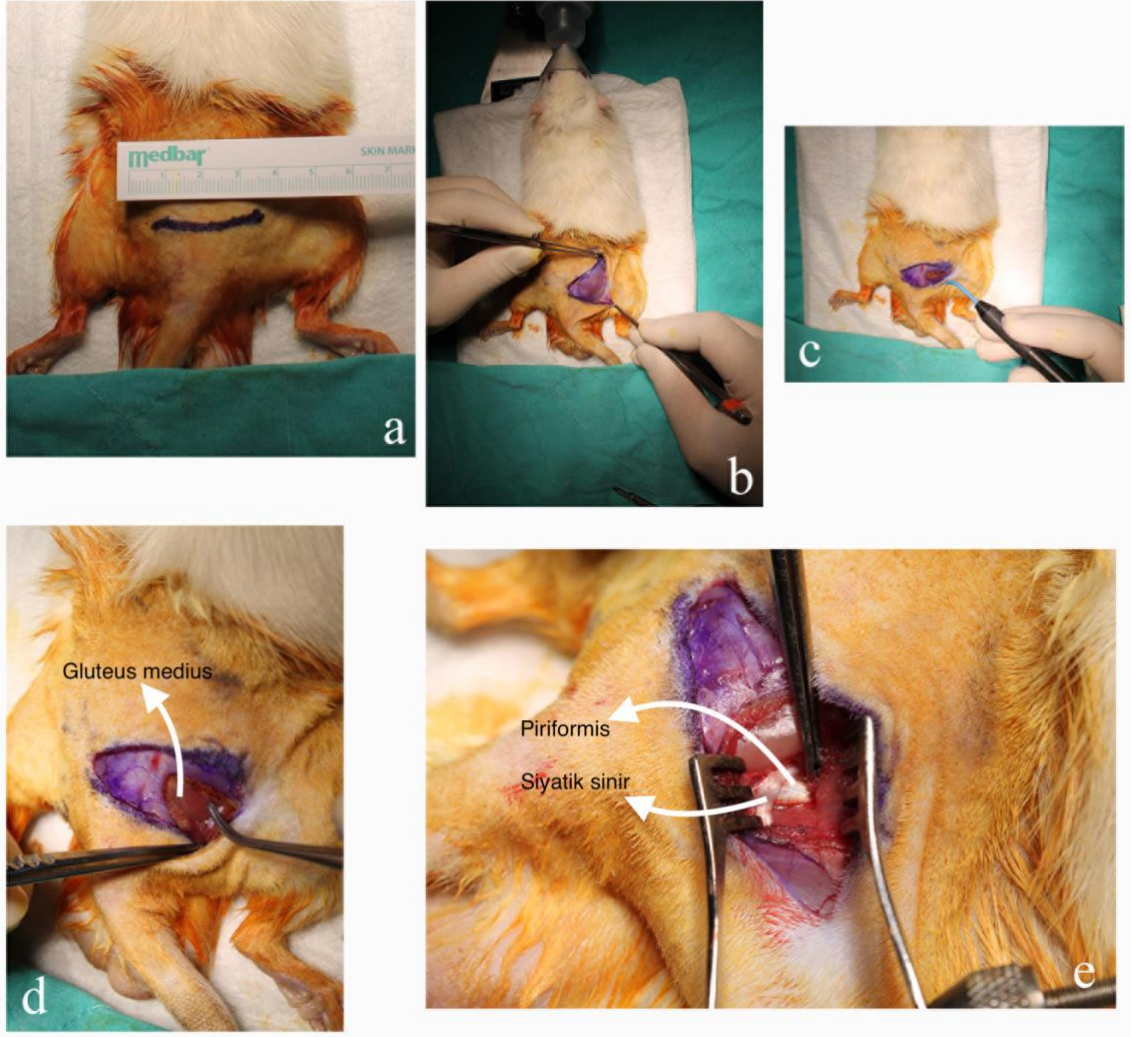
lerden fakir plazmanın en üstte toplandığı görüldü. Oluşan trombosit konsantrasyonunun trombositten zengin kısmı, cerrahi olarak eklem kapsülü açılarak travmatik kalça çıkığı modeli oluşturulan ve gruplara göre belirlenen süre boyunca çıkık vaziyette bekletilen sağ kalçalarına eklem redükte edilip eklem kapsülü sütüre edildikten sonra eklem içine hamilton enjektörü ile enjekte edildi.



Resim 10. TZP'nin hazırlanışı

3.5. Deneysel Çalışma Dizaynı

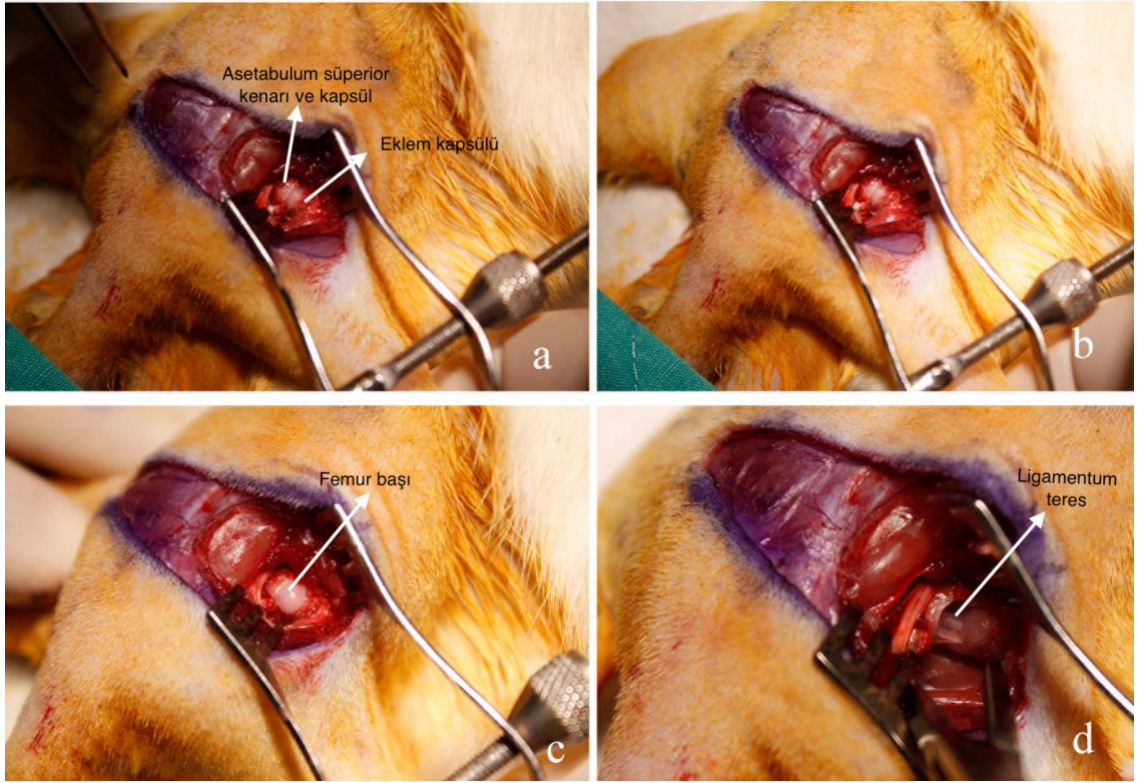
Genel anestezi uygulanan sıçanlara izofluran inhaler yolla verildi. Uyutma kafesinde %5'lik indüksiyon anestezi uygulandı. Operasyon öncesi hayvanların ağırlıkları gram cinsinden; yaşı ise haftalık cinsinden kaydedildi. Cerrahi yapılacak alan traş makinesi ile traşlandı. Sonrasında deneklere %1-2 idame dozunda inhaler anestezi maske yardımıyla tatbik edildi. Anestezi derinliği ekstremite çekme yanıtı ile değerlendirildi. Her denekten TZP eldesi için femoral ven kanülasyonu ile yaklaşık 1 ml kan elde edildi ve bu kanlar +4°C de bekletildi. Cerrahi alan %10'luk povidon-iodür ile sterilize edildi. Ardından sıçana travmatik kalça çıkığı modeli oluşturuldu. Hayvanlar gruplara göre belirlenen sürelerde kalçaları çıkık vaziyette bekletilip sonrasında sağ kalça redükte edilip kapsül dikildikten sonra intrakapsüler 30 mikrolitre (µl) TZP ve 20 µl PBS solüsyonu uygulandı. Sonrasında sol kalça redükte edilip kapsül dikildikten sonra sadece 50 µl PBS enjekte edildi. İlk insizyona başlama anı ile her iki kalçanın da çıkık hale getirildiği zaman dilimi ve çıkığın yerine oturulduğu an ile son cilt süturunun atıldığı zaman dilimi dakika cinsinden kaydedildi. Bu her iki zaman dilimi ameliyat süresi olarak



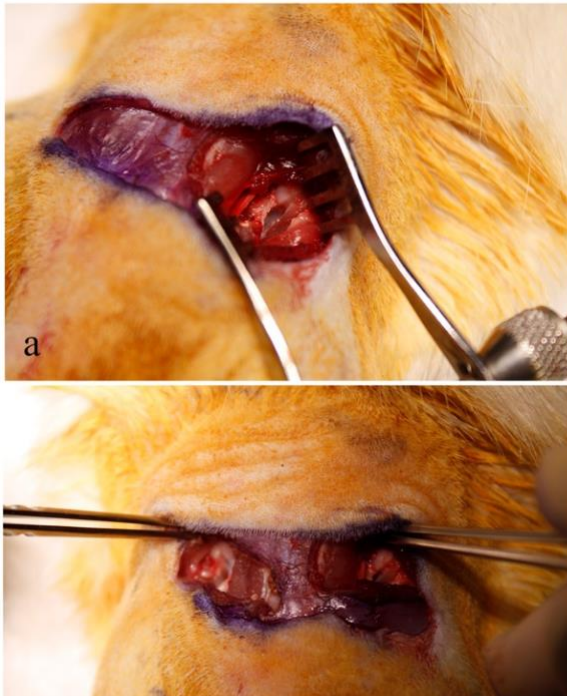
Resim 11. Sıçan sağ kalça diseksiyon görüntüsü (a. Cilt insizyon hattının cerrahi kalemle işaretlenmesi, b. Gluteus superficialisin görülmesi, c. Gluteus superficialisin kesilmesi, d. Gluteus medius ve piriformis intervali, e. İntervalin diseksiyonu sonrası siyatik sinir ve piriformisin görülmesi

kayıt altına alındı. Her iki insizyon hattındaki kesi katları usulüne uygun olarak dikilip hayvanın anestezisi sonlandırıldı. Cerrahi işlem sonrası (postoperatif) yara yerine %0,2 nitrofurazon krem haricen uygulandı.

Tüm denekler travmatik kalça çıkığı modeli oluşturulduktan sonra 7 gün boyunca gözetim altında takip edildi. Denekler tekli kafeslerde tutuldu ve ad libitum beslendi. Yedinci günün sonunda hayvanların sakrifikasyon öncesi ağırlıkları kaydedildi. Genel anestezi altında sıçanın femur başı eksize edilmeden önce hem sağ hem sol kalça bölgesinde cilt altı yumuşak doku enfeksiyonu olup olmadığı kaydedildi. Histopatolojik çalışmalar için gerekli sağ ve sol femur başları genel anestezi altında burr yardımı ile alındı.



Resim 12. Sıçan femoroasetabuler kapsülün diseksiyonu (a. Piriformisin insersiyosunun muskulotendinöz bileşken kesilmesi sonrası kalça kapsülü, b. Kapsülün kesilmesi, c. Kalça eklemine distraksiyon yapılması, d. Ligamentum teresin görülmesi



Resim 13. Kalça çıkığının gösterimi (a. Sağ kalça çıkık vaziyette, b. Bilateral kalça çıkık vaziyette)



Resim 14. Eklem kapsülü dikildikten sonra TNP'nin hamilton enjektörü ile sağ kalçaya verilmesi

3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Her sıçanın alınan her iki femur başı %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonu içerisinde 4°C'de 7-10 gün süresince saklandıktan sonra dekalsifikasyon için örnekler %20'lik formik asit çözeltisinde 2-3 hafta süresince 4°C'de bekletildi. Dekalsifikasyon çözeltisi haftada 2 kez değiştirildi. Örnekler incelenip dekalsifikasyonun tam olduğuna kanaat getirilip; kesildikten sonra parafin içerisinde gömülüp bloklandı. Hazırlanan bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler elde edildi ve hematoxilen-eozin (HE) boyası ile boyandı. TUNEL boyası ile apoptozise giden femur başındaki kondrositler tespit edilip; incelenen her spesmenin apoptotik indeksleri (AI) hesaplandı.



Resim 15. Cerrahi alanın usüline uygun kapatılması

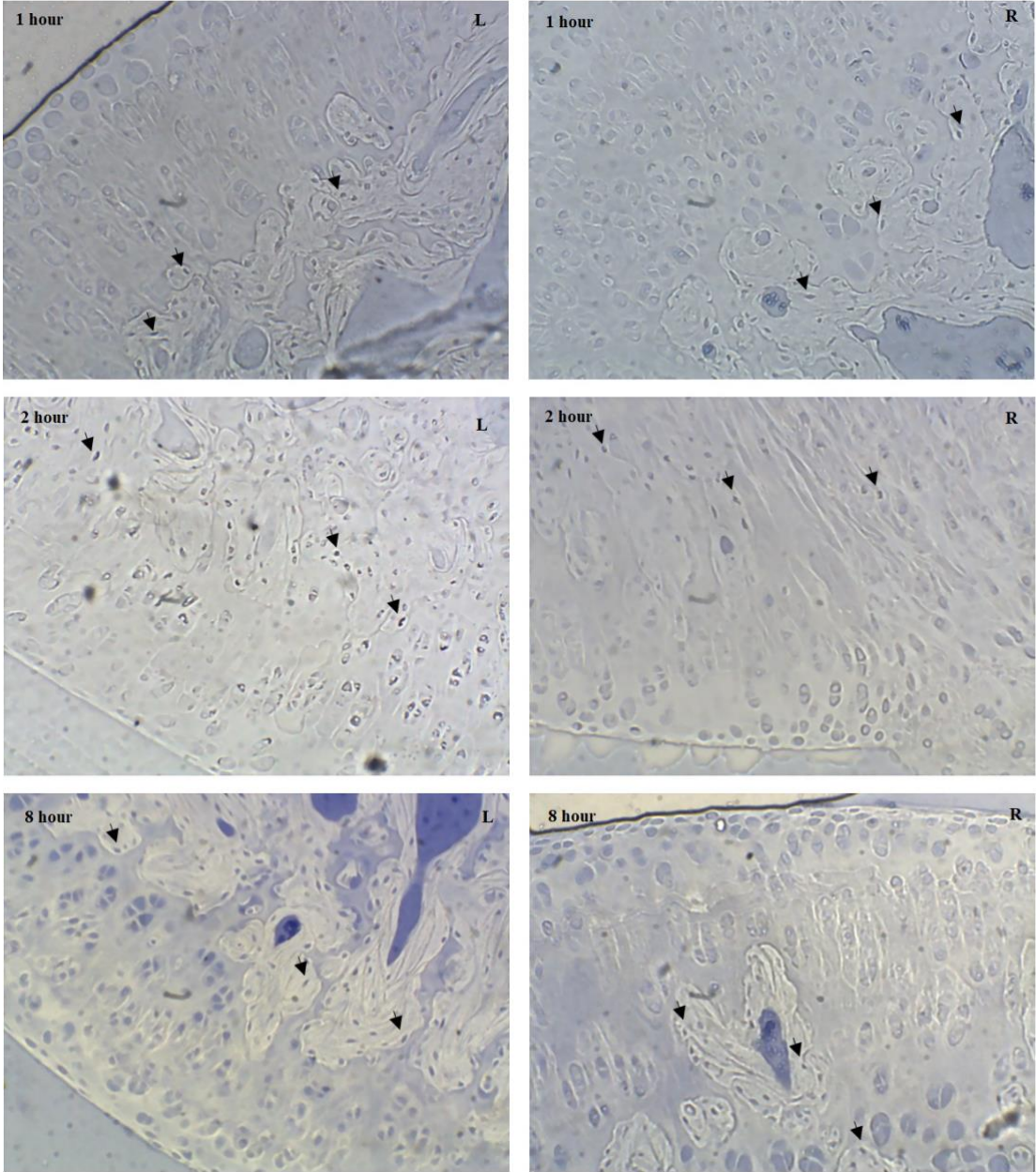


Resim 16. Yedi gün sonra yapılan işlemler (a. Femur başının drill yardımı ile eksize edilmesi, b. Eksize edilmiş femur başı, c. Spesmenin %10'luk formole konulması)

3.6.1. TUNEL Boyaması Çalışma Protokolü

3.6.1.1. Kültür Hücrelerinin veya Doku Parçalarının Hazırlanması

Kültür hücreleri veya doku parçaları PBS ile 2 kere yıkandı. Hücreler veya doku parçaları %4 formaldehit içerisinde +4 °C, 30 dk fikse edildi. Daha sonra PBS ile 2 kere yıkandı. Oda sıcaklığında 30 dakika boyunca %0,2 Triton X-100 içeren PBS içinde edildi. %0,2 TritonX-100 içeren PBS içerisinde 30 dakika oda ısısında inkübe edildi. PBS’de iki kez yıkandı.



Resim 17. Çalışmamızda apoptozise giden hücreler (oklarla gösterilmiştir)

3.6.1.2. Parafin Dokuların Hazırlanması

Aşağıdaki tabloda gösterilen şartlara göre dokular deparafinize ve rehidrate edildi.

Tablo 7. Parafinize dokulara uygulanan özel solüsyonlar

Xylenes	%100 EtOH	%95 EtOH	%85 EtOH	%75 EtOH	1X PBS
5 dk.	5 dk.	5 dk.	3 dk.	5 dk.	5 dk.

100 µl Proteinaz K (20 µg/mL) ile 30 dk oda sıcaklığında bekletildi. PBS de 2X5dk yıkandı.

3.6.1.3. TUNEL Reaksiyonu

Bütün örnekler endojen peroksidaz inaktivasyonu için %2'lik H₂O₂ karışımı ile muamele edildi. 2x5 dk PBS'le yıkama yapıldı. Örnekleri 100 µl TdT Reaction Buffer ile 10 dk. boyunca inkübe edildi. Örnek başına 47 µl TdT Reaction Buffer, 2 µl TdT enzim ve 1 µl Biotin 11-dUTP eklenerek TdT Reaction Coctail karışımı hazırlandı. TdT Reaction Buffer uzaklaştırılır ve 50 µl TdT Reaction Coctail eklendi. Hücrenin boyanması için 37°C de 60 dk inkübe edildi. 2X SSC'de 2X10 dk. inkübe edilerek reaksiyon durduruldu. 2x10 dk. %3 BSA ile örnekler yıkandı. Örnek başına 1 µl HRP ve 99 µl Staining Buffer eklenerek HRP streptavidin solution hazırlandı. Her bir örneğe 100 µl solutiondan eklendi. 30 dk. oda ısısında inkübe edildi. 2x5 dk. %3 BSA ile örnekler yıkandı. Örnek başına 3 µl DAB stock solution ve DAB dilüent karıştırılarak DAB staining solution hazırlandı. Her bir örneğe 100 µl solutiondan eklendi. 10-60 dk. sonra renklenme gözlenince reaksiyon PBS ile durduruldu. Mounting medyum ile kapatılıp ışık mikroskopunda sonuçlar incelendi.

3.6.2. Apoptotik İndeks

Apoptotik indeks hesaplanırken 7 adet büyük büyütme alanındaki apoptotik hücrelerin kondrositlere oranı esas alınıp; her preparat için 829-840 arası hücre sayıldı.

3.7. Biyoistatistik Değerlendirme

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro wilk testi ile test edilmiş, normal dağılıma sahip değişkenlerin 2'den fazla bağımsız grupta karşılaştırılmasında ise tek yönlü ANOVA-LSD çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır. Ayrıca normal dağılan ölçümlerin 2 farklı zamanda değerlendirilmesinde eşleştirilmiş t testi kullanılmıştır. Sayısal değişkenler arasındaki ilişkilerin test edilmesinde Pearson korelasyon katsayısı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistik olarak sayısal değişkenler için ortalama±standart

sapma değerleri verilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS for Windows version 24.0 paket programı kullanılmış ve $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmada 24 adet Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Grup 1’de yer alan 485 denek numaralı sıçanın sol kalça spesmeni ve 486 denek numaralı sıçanın sağ kalça spesmeni TUNEL boyası ile boyama işleminde boya tutulumu gözlemlenmediğinden; Grup 2’de yer alan 478 denek numaralı sıçanın ise sol femur başı eksize edilirken örneğin çalışma alanından yere düşmesi sonucu bulunamadığı için çalışma dışı bırakılmıştır. 493 denek numaralı sıçanda model oluşturulurken sağ siyatik sinirde kesi meydana gelmiştir.

4.1. Ağırlık Değerlendirilmesi

Deneyin başlangıcı ile 7. gününde hayvanların ağırlıkları ölçülmüş; her hayvanın ağırlık değişimleri kaydedilmiş ve ortalama, standart sapma değerleri hesaplanmıştır. Tüm hayvanların başlangıç kilo ortalaması ve standart sapma değerleri $489,79 \pm 72,14$ gram olarak bulunmuştur.

Tablo 8. Grup 1’in ağırlık değerleri

	Denek No	0. Gün Ağırlık (gr)	7. Gün Ağırlık (gr)	Ağırlık Değişimi (gr)
Grup 1	497	524	500	24
	493	480	445	40
	490	400	361	39
	489	490	454	36
	488	503	466	37
	487	500	468	32
	486	442	405	37
	485	432	395	37
Ortalama		471,38	436,75	34,63
Standart Sapma		$\pm 42,29$	$\pm 45,81$	$\pm 4,75$

$p < 0.05$

Grup 1’de en fazla ağırlık değişimi 493, en az ağırlık değişimi 497 nolu denekde meydana gelmiştir.

Tablo 9. Grup 2'nin ağırlık değerleri

	Denek No	0. Gün Ağırlık (gr)	7. Gün Ağırlık (gr)	Ağırlık Değişimi (gr)
Grup 2	484	503	462	41
	483	440	391	49
	498	479	434	45
	482	474	436	38
	481	617	557	60
	480	604	549	55
	479	408	368	40
	478	560	505	55
Ortalama		510,63	462,75	47,88
Standart Sapma		±75,96	±69,46	±8,15

$p < 0.05$

Grup 2'de en fazla ağırlık değişimi 481, en az ağırlık değişimi 484 nolu denekte meydana gelmiştir.

Tablo 10. Grup 3'ün ağırlık değerleri

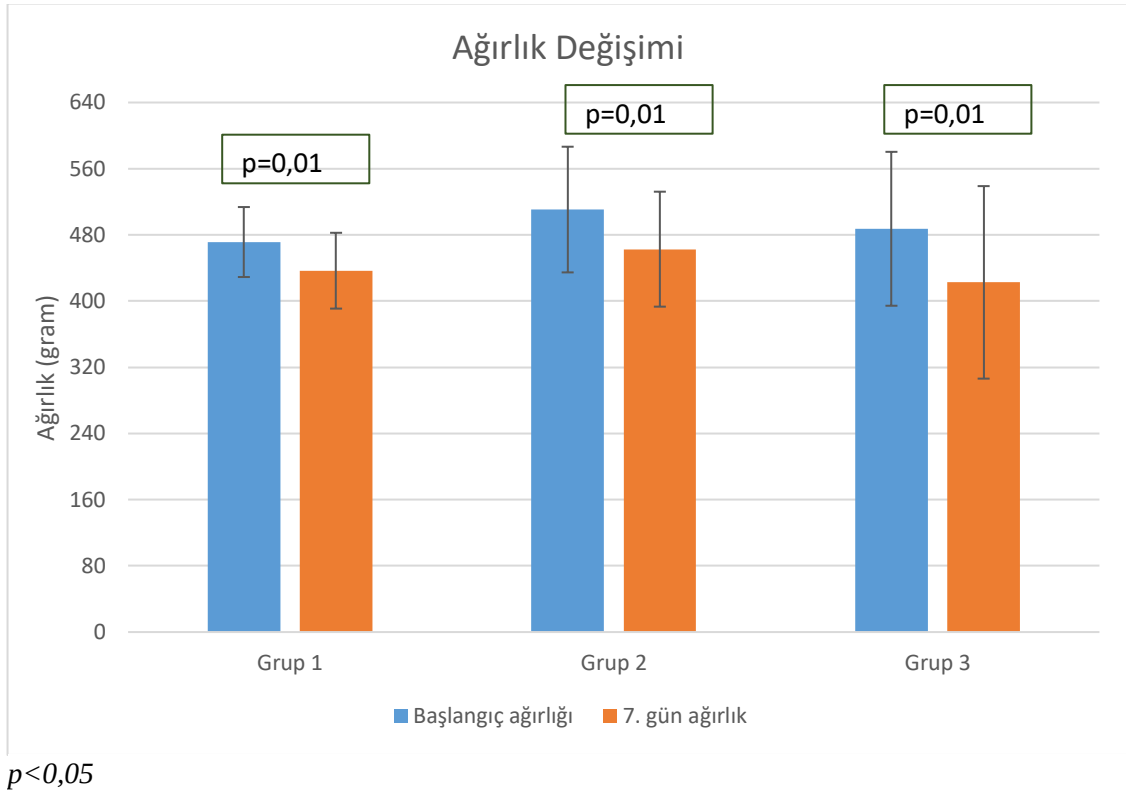
	Denek No	0. Gün Ağırlık (gr)	7. Gün Ağırlık (gr)	Ağırlık Değişimi (gr)
Grup 3	51	578	521	57
	53	568	510	58
	54	425	396	29
	56	604	556	48
	57	479	444	35
	58	469	435	34
	59	452	209	243
	60	324	310	14
Ortalama		487,38	422,63	64,75
Standart Sapma		±93,01	±116,34	±73,53

$p < 0.05$

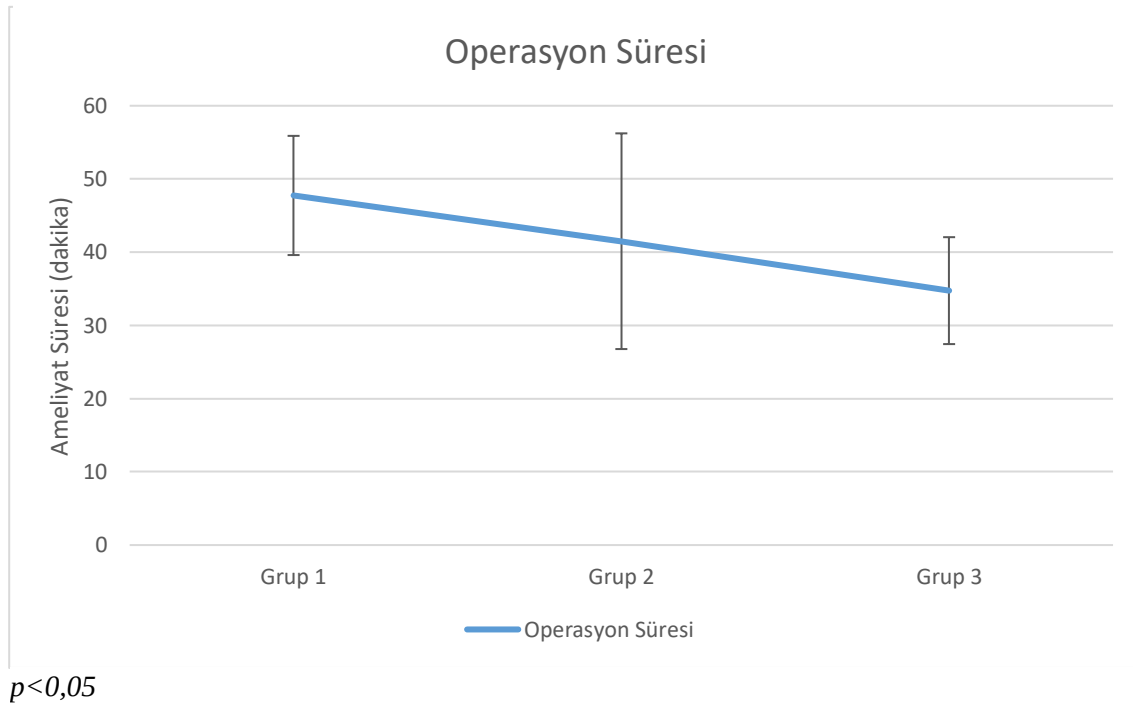
Grup 3'de en fazla ağırlık değişimi 59, en az ağırlık değişimi 60 nolu denekte meydana gelmiştir.

Deneklerin başlangıç ağırlıkları, 7. gün ağırlıkları ve bu günler arasındaki ağırlık değişimleri apoptotik indeks (Aİ) açısından istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Grafik 1. Tüm grupların başlangıç ve 7. gün ağırlıklarının grafiksel gösterimi.



Grafik 2. Operasyon süresinin gruplara göre değişimi



Her ana grubun kendi arasındaki ağırlık azalışları istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. ($p < 0,05$)

Tablo 11. 0. gün ile 7. gün ağırlıklarının Aİ açısından ve kendi aralarında değerlendirilmesi

	Grup 1 Ortalama±SS	Grup 2 Ortalama±SS	Grup 3 Ortalama±SS	pgruplar arası
0. Gün Ağırlık (gr)	471,38±42,29	510,63±75,96	487,38±93,01	0,570
7. Gün Ağırlık (gr)	436,75±45,81	462,75±69,46	422,63±116,34	0,622
pgrup içi	0,001	0,001	0,042	

$p < 0,05$

Tablo 12. Ağırlık değişiminin Aİ üzerine etkisi

	Grup 1 Ortalama±SS	Grup 2 Ortalama±SS	Grup 3 Ortalama±SS	p
Ağırlık değişimi (gr)	34,63±4,75	47,88±8,15	64,75±73,53	0,386

$p < 0,05$

Tüm grupların başlangıç ağırlıkları, 7. gün ağırlıkları ve ağırlık değişimleri ile Aİ arasında anlamlı korelasyon gözlenmemiştir (Tablo 13).

Tablo 13. Pearson korelasyon testi sonucuna göre 0. gün, 7. gün ve ağırlık değişimlerin değerlendirilmesi

	Deney Grubu			Kontrol Grubu		
	r	p	n	r	p	n
Başlangıç Kilo	0,276	0,203	23	0,304	0,169	22
7. Gün Kilo	0,078	0,723	23	0,087	0,699	22
Ağırlık Değişimi	0,341	0,144	23	0,334	0,128	22

$p < 0,05$

r: korelasyon değeri n: Örneklem sayısı

4.2. Ameliyat Süresi ve Denek Yaşının Değerlendirilmesi

Tüm hayvanların yaş ortalama ve standart sapması 23,37±1,21 hafta olarak hesaplanmıştır. Ameliyat sürelerinin ortalama ve standart sapması 41,33±11,48 dakika olarak bulunmuştur. Denek yaşı ve ameliyat süresi ile Aİap arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. ($p > 0,05$)

Tablo 14. Denek yaşı ile ameliyat süresinin Aİ üzerine etkisi

	Grup 1 Ortalama±SS	Grup 2 Ortalama±SS	Grup 3 Ortalama±SS	p
Denek Yaşı (hafta)	23,5±1,41	23,75±0,46	22,88±1,46	0,344
Ameliyat Süresi (dk)	47,75±8,14	41,5±14,73	34,75±7,3	0,071

$p < 0,05$

Tablo 15. Ameliyat süresi ve denek yaşı değerleri

	Denek No	Ameliyat Süresi (Dakika)	Denek Yaşı (Hafta)
Grup 1	497	55	24
	493	53	24
	490	36	20
	489	40	24
	488	60	24
	487	50	24
	486	43	24
	485	45	24
Ortalama		47,75	23,5
Standart Sapma		±8,14	±1,41
Grup 2	484	63	24
	483	60	23
	498	40	24
	482	29	24
	481	23	23
	480	47	24
	479	28	24
	478	42	24
Ortalama		41,5	23,75
Standart Sapma		±14,73	±0,46
Grup 3	51	33	24
	53	38	24
	54	36	24
	56	46	24
	57	42	20
	58	32	22
	59	26	22
	60	25	23
Ortalama		34,75	22,88
Standart Sapma		±7,3	±1,46

 $p < 0.05$

Ameliyat süresi ile apoptotik indeks arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır. (Deney grubu $r=-0,455$, $p=0,029$; kontrol grubu $r=-0,472$, $p=0,026$) Denek yaşı ile Aİ arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır (Tablo 15), ($p < 0,05$).

Tablo 16. Pearson korelasyon testi sonucuna göre ameliyat süresi ve denek yaşının değerlendirilmesi

	Deney Grubu			Kontrol Grubu		
	r	p	n	r	p	n
Ameliyat süresi	-0,455	0,029	23	-0,472	0,026	22
Denek yaşı	-0,087	0,694	23	0,072	0,748	22

$p < 0,05$

r: korelasyon değeri n: Örneklem sayısı

4.3. Yumuşak Doku Enfeksiyonunun Değerlendirilmesi

Yumuşak doku enfeksiyonu hangi tarafta saptanmışsa o tarafın Aİ'si istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Grup 1'de yer alan 490 nolu deneğin sol, 480 nolu deneğin sağ; Grup 2'de yer alan 483 nolu deneğin sol, Grup 3'de yer alan 59 nolu deneğin hem sağ hem de sol kalçasının yumuşak dokusunda enfeksiyon saptanmıştır.

Hem sağ hem de sol taraftaki yumuşak doku enfeksiyon varlığının Aİ üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. ($p > 0,05$)

4.4. Apoptotik İndeks Değerlendirilmesi

Her ana grubun ve alt gruplarının Aİ'leri hesaplanmıştır. Ortalama ve standart sapmaları tablo 17, tablo 18 ve tablo 19'da belirtilmiştir.

Tablo 17. Grup 1'in Aİ değerleri

Grup 1a				Grup 1b			
Denek No	Apoptozise Giden Kondrosit Sayısı	Toplam Kondrosit Sayısı	Apoptotik İndeks	Apoptozise Giden Kondrosit Sayısı	Toplam Kondrosit Sayısı	Apoptotik İndeks	
497	19	838	0,023	13	835	0,016	
493	7	835	0,008	20	836	0,024	
490	11	830	0,013	15	835	0,018	
489	11	837	0,013	40	832	0,048	
488	6	839	0,007	23	840	0,027	
487	8	840	0,010	24	839	0,029	
486	-	-	-	28	837	0,033	
485	9	837	0,011	-	-	-	
Ortalama			0,01	Ortalama			0,03
Standart Sapma			±0,01	Standart Sapma			±0,01

$p < 0,05$

Tablo 18. Grup 2'nin Aİ değerleri

Grup 2a				Grup 2b			
Denek No	Apoptozise Giden Kondrosit Sayısı	Toplam Kondrosit Sayısı	Apoptotik İndeks	Apoptozise Giden Kondrosit Sayısı	Toplam Kondrosit Sayısı	Apoptotik İndeks	
484	24	829	0,029	55	839	0,066	
483	10	838	0,012	46	837	0,055	
498	8	837	0,010	67	839	0,080	
482	15	832	0,018	72	840	0,086	
481	39	837	0,047	65	838	0,078	
480	19	835	0,023	89	839	0,106	
479	13	840	0,015	58	835	0,069	
478	27	829	0,033	-	-	-	
Ortalama			0,02	Ortalama			0,08
Standart Sapma			±0,01	Standart Sapma			±0,02

$p < 0,05$

Tablo 19. Grup 3'ün Aİ değerleri

Grup 3a				Grup 3b			
Denek No	Apoptozise Giden Kondrosit Sayısı	Toplam Kondrosit Sayısı	Apoptotik İndeks	Apoptozise Giden Kondrosit Sayısı	Toplam Kondrosit Sayısı	Apoptotik İndeks	
51	34	836	0,041	95	845	0,112	
53	39	839	0,046	82	839	0,098	
54	44	840	0,052	87	840	0,104	
56	49	835	0,059	107	836	0,128	
57	18	833	0,022	62	839	0,074	
58	52	839	0,062	77	840	0,092	
59	42	837	0,050	89	838	0,106	
60	30	839	0,036	70	840	0,083	
Ortalama			0,05	Ortalama			0,1
Standart Sapma			±0,01	Standart Sapma			±0,02

$p < 0,05$

Deney grubu ve kontrol grubu Aİ açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p < 0,05$)

Grup 1'in deney grubu kontrol grubuna göre Aİ'deki azalışı istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. ($p > 0,05$)

Grup 2 ve Grup 3'ün deney grupları kontrol gruplarına göre Aİ'deki azalışları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p < 0,05$)

Tablo 20. Deney grubu ile kontrol grubunun Aİ açısından ve kendi aralarında değerlendirilmesi

	Grup 1 Ortalama±SS	Grup 2 Ortalama±SS	Grup 3 Ortalama±SS	pgruplar arası
Deney Grubu (a alt grubu)	0,01±0,01	0,02±0,01	0,05±0,01	0,001
Kontrol Grubu (b alt grubu)	0,03±0,01	0,08±0,02	0,1±0,02	0,001
pgrup içi	0,056	0,001	0,001	

$p < 0,05$

Her ana grup kendi alt grupları arasında kalça çıkık kalma sürelerine göre Least Significant Difference (LSD) çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır. Deney gruplarından grup 1a ile grup 2a arasında anlamlı bir fark bulunmazken ($p = 0,66$); grup 1a ile grup 3a ve grup 2a ile grup 3a arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. Kontrol grubunda da tüm zamanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. ($p < 0,05$)

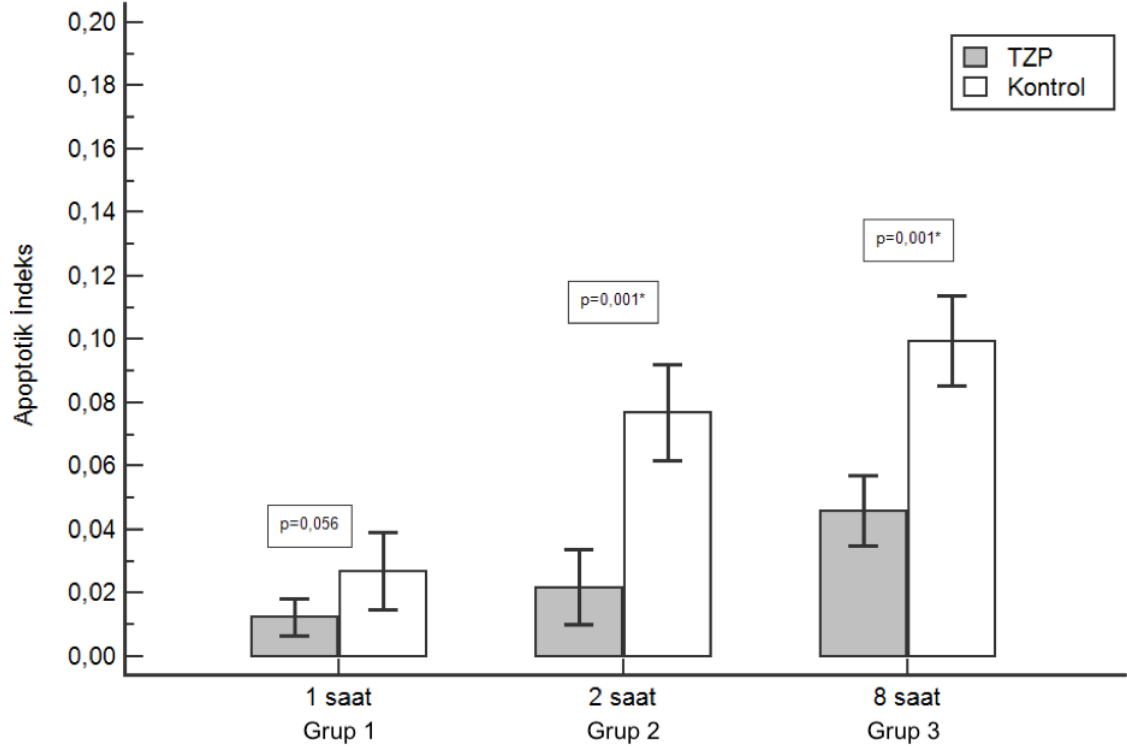
Tablo 21. LSD çoklu karşılaştırma testi sonucu deney ve kontrol gruplarının kendi aralarında değerlendirilmesi

			p
Deney grubu (a alt grubu)	Grup 1a	Grup 2a	0,066
		Grup 3a	0,001
	Grup 2a	Grup 1a	0,066
		Grup 3a	0,001
	Grup 3a	Grup 1a	0,001
		Grup 2a	0,001
Kontrol Grubu (b alt grubu)	Grup 1b	Grup 2b	0,001
		Grup 3b	0,001
	Grup 2b	Grup 1b	0,001
		Grup 3b	0,011
	Grup 3b	Grup 1b	0,001
		Grup 2b	0,011

$p < 0,05$

AI'nin tüm ana grup ve alt gruplara göre grafiksel olarak gösterimi aşağıda gösterilmiştir.

Grafik 3. AI'nin tüm gruplar arasındaki değişiminin grafiksel gösterimi



$p < 0,05$

5. TARTIŞMA

Günümüzde teknolojinin ilerlemesi ve araç endüstrisindeki hızlı gelişmelerle insanların bir bölgeden başka bir bölgeye ulaşımı çok hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir.

Sedanter ve amatör bireyler için sağlıklı yaşam, eğlenceli vakit geçirme, serbest zaman aktivitesi, profesyonel sporcular için son derece rekabetçi ve finansal olarak kazançlı bir endüstri haline gelen spor sektörü de tüm dünyada popülaritesini arttırmaktadır.

Hem popülaritesini arttıran spor sektörü, hem endüstriyel gelişmenin baş döndürücü hızı hem de ulaşım ve araç endüstrisinin bireyleri daha kısa sürede bir bölgeden başka bir bölgeye ulaştırmak için yaptıkları olağanüstü çalışmalar beraberinde ortopedi ve travmatolojiyi ilgilendiren sorunlara yol açmaktadır. Bu sorunları irdelediğimizde ise yumuşak doku, kemik, eklem ve ligaman hasarı gibi sorunlarla birlikte çalışmamızı da ilgilendiren eklem çıkıkları karşımıza çıkmaktadır.

Travmatik eklem çıkığı içerisinde travmatik kalça çıkığına neden olan durumları incelediğimizde ilk sırada gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin birçoğunda motorlu araç kazaları yer almaktadır [1]. Motorlu araç kazalarının yanı sıra travmatik kalça çıkığına neden olabilecek diğer yaralanma mekanizmaları arasında düşmeler, yayaların taşıt çarpmasına maruz kalması, endüstriyel kazalar ve spor yaralanmaları vardır [2-7].

Tüm travmatik eklem çıkıklarında olduğu gibi travmatik kalça çıkığı da ortopedik acillerden olup; gerekli müdahale yapılmadığı zaman hasta morbiditesini önemli oranda arttırmakta ve hastanın günlük yaşam kalitesini ileri düzeyde negatif yönde etkilemektedir.

Travmatik kalça çıkığı hem çıkığın oluşma mekanizmasına hem de gerekli müdahalenin yapılmamasına bağlı patolojik sekelleri karşımıza çıkarmaktadır. Bu sorunların patofizyolojisini inceleyecek olursak çıkık sırasında mekanik etkiyle oluşan kırıkta hasarı ve subkondral kemiği besleyen damarlardaki kan akımının azalmasına bağlı oluşabilmektedir [9]. Çıkık esnasında femur başını besleyen damarlarda hasarlanma sonucu da femur başının avasküler nekrozu (AVN) gelişmektedir [214]. Tüm

bu patofizyolojik nedenlere ek olarak; kıkırdakta meydana gelen iyileşme süreci dokunun avasküler yapıda olması kanlanmaya bağlı inflamasyon ve onarım ile seyreden klasik iyileşme yanıtını sınırlamakta ve kartilaj dokunun avasküler yapısı nedeni ile kandaki progenitor hücreler hasarlı bölgeye ulaşamamakta ve bunula birlikte kıkırdak dokunun sınırlı sayıda hücreye sahip olması ve erişkin kondrositlerin düşük bölünme kapasitesi (mitotik aktivite) gibi tüm bu faktörlerin birlikteliği nedeni ile femur başı kondrositlerinde geri dönüşümsüz hasarlar ve kondrosit apoptozisi meydana gelmekte; sonuç olarak ileri dönemde koksartroz dediğimiz kalça eklemının osteoartrinin gelişmesi kaçınılmaz olmaktadır.

Kalçaya olan travma sırasında kıkırdak zedelenmesi, femur başı beslenmesinin bozulması, cerrahın kontrolü dışındadır. Redüksiyonun zamanlaması ve doğruluğu gibi diğer faktörler ise çıkığı bir acil durum olarak görüp doğru değerlendirmeye pozitif olarak etkilenir. Erken redüksiyon ile komplikasyonlar azaltılabilir ve her şeye rağmen iyi veya mükemmel sonuç görülebilmekle beraber [8]; kalça travmaları sonrası komplikasyonlar yaygındır ve bunların arasında AVN, artroz, sinirsel yaralanma, heterotopik ossifikasyon ve tekrar çıkık sayılabilir [193-201].

Kalça çıkıklarında erken redüksiyonun zaman dilimi için klasik öğreti ilk 12-24 saat içerisinde olması gerektiğini söyleyen çalışmalar olmakla birlikte [200, 216-219]; Hougaard ve arkadaşları ile Jasulka ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda bu sürenin ilk 6 saat içerisinde olması gerektiğini söylemişlerdir [220, 221]. Ancak ilk 6 saat içerisinde kalça redüksiyonu sağlansa bile uzun dönemde femur başı AVN'nin geliştiğini Dreinhofer ve arkadaşları çalışmalarında göstermiştir [197].

Tüm bu komplikasyonların sonucu olarak ileri dönemde hastalar karşımıza kalça eklemi hareketinde kısıtlılık ve kasık bölgesinde ağrı şikatiyle gelmekte ve nihai tedavisinde dejenere olmuş her iki eklem yüzeyinin ortadan kaldırılıp yerine yapay bir eklem yüzeyinin konulduğu total kalça artroplastisi (TKA) uygulanmaktadır. Dünya üzerinde hasta memnuniyetinin en fazla olduğu cerrahi prosedürlerden biri olan TKA [222]; bu durumda olan hastalardaki nihai tedavi yöntemi olmasına rağmen; hem tedavi maliyetinin yüksek olması, hem cerrahi komplikasyonları az yaşansa bile gerçekleştiğinde hastada yıkıcı sonuçlar doğurması nedeniyle hem de Dreinhofer ve ark. yapmış olduğu çalışma da göz önünde tutularak travmatik kalça çıkığı ile gelen hastalara erken redüksiyondan hemen sonra maaliyeti ucuz ve TKA kadar etkili bir tedavi yöntemi

bulunabilir mi? Çalışmamızda bunun arayışına girdik. Bu yöntemin de günümüzde primer veya sekonder nedenlerle osteoartrit gelişmiş hasta gruplarının tedavilerinde kullanılan TZP'nin etkisini değerlendirmek şeklinde bir hipotez ortaya koyduk.

TZP küçük hacimdeki plazma içine sıkıştırılmış otolog trombosit konsantresi olarak tanımlanabilir. TZP içerisinde yüksek seviyede trombosit, büyüme faktörleri ve pıhtılaşma faktörleri bulunmaktadır [12, 13]. Trombositlerin organel kısmında yer alan α granülü içinde PDGF, TGF- β , ECGF, EGF, VEGF, IGF, İnterlökin- β gibi hücrel mitojenler bulunmaktadır [170]. Bu mitojenlerden IGF-1 kırık matrisi sentezi ve kırık tamiri ile ilişkili majör büyüme faktörlerinden biridir. Tip 2 kollajen, proteoglikan ve diğer matrisi komponentlerinin sentezini düzenlemektedir [184]. Diğer bir büyüme faktörü olan TGF- β alt grubundan olan TGF- β 1, BMP-2 kondrosit differansiasyonu ve matrisi maturasyonunda rol oynamaktadır. BMP-7 ya da diğer adıyla osteojenik protein-1 (OP-1) kondrositlerde kırıkta spesifik ekstraselüler proteinlerden; tip 2 ve 4 kollajen, aggrekan [ACAN=kartilaj spesifik proteoglikan kor protein (CSPCP) veya kondroitin sülfat proteoglikan 1], dekorin, fibronektin, hyaluronat vb proteinleri stimule etmektedir [38, 187-189]. Tüm bu çalışmalar bize çalışmamızda TZP'nin kondrosit apoptozisini azaltacağı konusunda bir hipotez ortaya koymamıza neden oldu.

TZP'yi ortopedik açıdan hem insan hem de hayvan kaynaklı prospektif çalışmalarda destekleyen çalışmalar bulunmakla birlikte TZP'nin etkisiz olduğunu savunan çalışmalar da mevcuttur. Güner ve arkadaşlarının sıçanlarda yaptığı dizde osteoartrit (OA) modelinde TZP'nin OA üzerine etkisinin olmadığını göstermişlerdir [11]. Sampson ve arkadaşlarının insanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada, çalışmalarındaki hasta popülasyonunun az olması ile birlikte TZP'nin dizde osteoartriti olan hastalarda semptomlarının gerilettiği sonucuna varmışlardır [223]. Kon ve arkadaşlarının insanlar üzerinde klinik olarak yaptığı kanıt seviye düzeyi 2 prospektif karşılaştırmalı deneysel çalışmada TZP'ye karşı hyaluronik asit viskosüplementasyonun (HA) kırık iyileşmesi üzerine etkisini araştırmışlar ve sonuç olarak PRP'nin HA'ya göre ağrı ve semptomlarda azalmaya ve eklem fonksiyonlarında iyileşme yönünden daha etkili olduğunu saptamışlardır [224]. Peerbooms ve arkadaşlarının yaptığı çift-kör randomize klinik çalışmada lateral epikondiliti olan hastalarda tedavi olarak TZP ile kortikosteroidin (KS) etkinliğini karşılaştırmışlar ve TZP'nin kronik epikondilitli hastalarda KS'ye göre uzun dönemde ağrı ve relapsı azalttığı dirsek ve el bileği fonksiyonunu hızlı bir şekilde

arttırdığını bulmuşlardır [225]. Bunlar gibi PRP hakkında birçok çalışma halen yapılmakta ve ortopedi camiası içinde bu konu hakkında tam bir konsensüs sağlanamamaktadır.

Bu projede birçok çalışmada insanlarda etkinliği kanıtlanmış olan TZP'nin, travmatik kalça çıkığı meydana gelmiş bireylerde meydana gelecek sekelleri minimize edeceği beklendi. Böyle bir hipotezi seçmemizdeki bir diğer sebep ise çalışmamızın özgün olmasıydı. Literatürde yaptığımız çalışmaya benzer bir yayın olmamakla beraber çalışmamızı Elliott ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmayı modifiye ederek oluşturduk. Elliott ve arkadaşlarının Avustralya'da yaptıkları çalışmada 27 adet SD sıçanda, femur başı ve asetabulumdaki kondrositlerin travmatik kalça çıkığı modeli oluşturduktan sonra apoptozise gitme durumları histopatolojik olarak incelenmiş; yaptıkları çalışmaya göre eklem çıkıklarının kondrosit apoptozisine neden olduğu ve çıkık süresi uzadıkça Aİ'nin progresif olarak arttığını bulmuşlardır [20]. Bizim çalışmamızda ise 24 adet SD sıçanın sadece femur başları incelenerek PRP'nin apoptozise etkisi araştırılmıştır. Bununla birlikte Elliott ve arkadaşları denek kalçalarını çıkık vaziyette tuttuktan hemen sonra sakrifiye etmişler biz ise çıkık vaziyette tuttuktan sonra 7 gün boyunca hayvanları yaşatıp sonrasında sakrifiye etmiştik. Çalışmamızdaki denekleri hemen sakrifiye etmememizin nedeni TZP'nin etkinliğini araştırmak olduğundan Matsumoto ve arkadaşları ile Okazaki ve arkadaşlarının deneysel femur başı AVN modellemesi yaptıkları çalışmalar göz önünde tutularak denekleri 7 gün boyunca yaşatmıştık. Bu iki çalışmada AVN yapıldıktan sonraki 7 günlük dönemde apoptotik dokularla tamir dokularının görüldüğü ancak apoptozisin 7 günlük dönemde devam edip 7. günden sonra apoptotik dokuların görülmesinde azalma saptamalarıydı [226, 227]. Bir diğer neden de Hammond ve ark.'larının yaptığı çalışmada TZP'nin etkinliğinin 4 ila 6 hafta boyunca devam etmesi yani 7 günden daha kısa etki süresinin olmamasıydı [228].

Çalışmamızda Aİ'nin deneklerin başlangıç ağırlığına, 7. gündeki ağırlığına, bu her iki dönemdeki ağırlık değişimine, yaşına, model oluşturulurken ameliyatta geçen süreye ve yumuşak doku enfeksiyonuna göre istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Her grup başlangıç ve 7. gün ağırlıkları Aİ açısından anlamlı bulunmamıştır. Ağırlık değişimlerinin ise Aİ'ye anlamlı bir etkisi saptanmamıştır. Biz bu sonuçlara göre hayvan kilosunun Aİ üzerinde bir etkisinin olmadığı sonucuna vardık. Osamu ve arkadaşlarının tavşanlarda yapmış oldukları çalışmada kas içine malign tümör ekimi

yapılmış apoptozisin kilo kaybı üzerine etkisi araştırılmıştı [229]. Bu çalışma sonucunda malign tümörlerin büyümesinden kaynaklanan kilo kaybının erken evrede apoptozise bağlı olduğu geç evrede ise kasta metabolik anormalliğe bağlı olduğu hipotezini koymuşlardı. Osamu ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmanın sonucu bizim sonuçlarımızla çelişmiş olmakla beraber biz çalışmamızda ağırlığın Aİ üzerine etkisinin olmadığını savunmaktayız. Bunun nedeni Osamu ve arkadaşları deneklere kanser modeli uygulamışken biz travmatik kalça modeli uygulamıştık. Malign hücrelerin vücutta meydana getirdiği metabolik değişikliklerle; yapmış olduğumuz modellemenin vücutta meydana getirdiği metabolik değişikliklerin vücut kitlesindeki etkilerinin farklı olacağı ve bu durumun daha fazla irdelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda her ana grup kendi alt grupları içinde karşılaştırıldıklarında başlangıç ağırlığı ile 7. gündeki ağırlıklarındaki azalış miktarı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu anlamlı azalışın cerrahiye bağlı olduğu düşüncesindeyiz. Hovens ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışma da çalışmamızı destekler nitelikteydi [230]. Hovens ve arkadaşları bu azalışın nedeni olarak pro-inflamatuar bir sitokin olan IL-6'nın cerrahi sonrası artışını gösterdi.

Deneklerin yaşları haftalık cinsinden değerlendirilmişti ve Aİ üzerine anlamlı bir etkisi saptanmamıştı. Literatürde bu konuyla ilgili birçok çalışma bulunmaktadır ve çoğu çalışmada yaşla apoptozisin arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Adams ve arkadaşları ile Ariga ve arkadaşlarının yapmış oldukları deneysel hayvan çalışmalarında yaş ile Aİ arasında anlamlı bulgular saptamışlardır [231, 232]. Tüm bu sonuçlardan yola çıkarak çalışmamızda sadece TZP'nin Aİ üzerine etkisini araştırmak ve Aİ'nin yaş üzerine etkisini elimine etmek istediğimizden; deneklerimizin yaş grubunu çalışmaya başlamadan önce 20-24 hafta arasında olmasına karar kılmıştık. İstatistiksel açıdan yaş ile apoptozisin anlamlı çıkmaması bu çalışmada bizim beklediğimiz bir sonuç olmuştur.

Ameliyat süresi 1. Grupta en uzun iken 3. Grupta en kısa olarak kaydedilmiştir. Bunun nedeninin artan cerrahi deneyimimiz olduğunu düşünmekteyiz. Ameliyat süresi ile Aİ arasında negatif yönde ilişki (korelasyon) saptanmıştır; ancak bu iki değişken arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır. Bu durumun istatistik bilimi ile alakalı olduğunu düşünmekteyiz. Çünkü korelasyon bize iki değişken arasındaki ilişkinin büyüklüğünü gösterirken neden-sonuç ilişkisinden bahsedemez. Korelasyon değerine bakarak neden-sonuç ilişkisinden bahsedemememizin bir başka

sebebi de üçüncü bir değişkenin etkisidir [233].

Deney ve kontrol grupları Aİ açısından değerlendirildiğinde anlamlı sonuçlar almış olduğumuzu gördük. Kontrol gruplarının kendi alt grupları içerisinde Aİ açısından LSD çoklu karşılaştırma testi ile yapılan sonuçlarına göre anlamlı sonuçlar bulduk.

Bu sonuçlar bize bir eklem uzun süre çıkık kalması kondrosit hücrelerinin apoptozis formunda ölümüne sebep olduğunu göstermiştir. Bulduğumuz bu sonuç literatür ile uyumluydu [20]. Hem kontrol hem de deney grubunda daha uzun süre çıkık olarak kalan grubun Aİ oranları daha kısa süre çıkık vaziyette bekleyen gruba oranla daha yüksek Aİ'lere sahipti. Bu bilgiler ışığında travmatik kalça çıkıklarında çıkık süresinin artması uzun dönemde hasta morbiditesi açısından ciddi sorunlara yol açacağı kaçınılmaz bir gerçek olduğunu savunmaktayız [193-201]. TZP uygulamasının Aİ'yi düşürdüğünü buna bağlı olarak eklem dejenerasyonunda azalma ve klinik olarak anlamlı bir iyileşmenin olacağını düşünmekteyiz.

Travmatik kalça çıkıklarında çıkığın erken redükte edilmesi kısa dönemde semptomatik iyileşme sağlamaktadır. Yalnız uzun dönem sonuçları tahmin edildiği kadar iyi değildir ve bu oran %50'yi bulmaktadır [197, 202]. Bu nedenle biz travmatik kalça çıkığı ile gelen bir hastada erken redüksiyon uygulamasının vazgeçilmez bir tedavi yöntemi olduğunu belirtmekle beraber TKÇ'li hastaların uzun dönem komplikasyonlarından sakınmak için TZP'nin kalça redüksiyonu yapıldıktan sonra alternatif bir tedavi yöntemi olarak verilmesini önermekteyiz.

Grup 2 ve grup 3'deki deney ve kontrol gruplarının kendi aralarındaki Aİ düşüşleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken grup 1'deki kontrol ve deney gruplarındaki düşüşler anlamlı değildi. Deney gruplarının kendi alt grupları içerisinde LSD çoklu karşılaştırma testi ile yapılan sonuçlarına göre grup 1a ile grup 2a arasında Aİ açısından anlamlı bir fark bulunmazken, grup 1a ile grup 3a ve grup 2a ile grup 3a arasında anlamlı fark saptanmıştı. Bu bulguları şu şekilde yorumlamamızın uygun olacağı düşüncesindeyiz: TKÇ'nin meydana geldiği an ile sonraki ilk 1 saatlik dönemde apoptozisin fazla olmadığını o yüzden grup 1'e verilen TZP'nin de Aİ düşüşüne anlamlı ölçüde katkıda bulunmadığını savunmaktayız. Bununla birlikte ilk 1 saatlik dönemde TKÇ'nin uzun dönem komplikasyonlarının diğer gruplara nazaran daha az olabileceğini düşünmekteyiz. Bu hipotezimizi destekleyecek literatürde benzer bir çalışma bulunmadığından bu bulgular çalışmamızın dikkat çeken yanını oluşturmuştur. Bu

nedenle bu çalışmanın ileri dönem komplikasyonlarının tespit edilmesi için deneklerin uzun dönem takibinin yapıldığı bir çalışmanın yapılmasının daha uygun olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda denek sayısının az olması, TKÇ'nin uzun dönem komplikasyonlarının gözlenmemesi çalışma grubumuzun yetersizlikleridir; ancak çalışmamız trombositden zengin plazma tedavisinin femur başı kondrosit apoptotik indeks değerlerini anlamlı şekilde azalttığını göstermiştir. Trombositden zengin plazmanın apoptotik indeks üzerine etkisinin gerekli mali ve etik problemler aşıldığı takdirde insanlar üzerinde, daha geniş vaka serileriyle, çok merkezli olarak, gözlemciler arası ve gözlemci içi değişkenliği ve güvenilirliğini değerlendiren ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda travmatik kalça çıkıklarında otolog yolla elde edilen trombositden zengin plazmanın femur başı kondrositlerine olan etkisini araştırdık. 24 adet sıçanda yaptığımız bu deneysel çalışma sonucunda:

Travmatik kalça çıkıkları acil redüksiyon gerektiren ortopedik acillerden biri olduğunu düşünmekteyiz.

Deneklerin ağırlık değişimi ile Aİ arasında anlamlı bir ilişki saptanmamakla birlikte bu durumun daha fazla araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Cerrahinin postoperatif dönemde meydana gelen metabolik değişikliklerle ilişkili olduğunu düşünmekteyiz.

Literatürde denek yaşının apoptozis ile yakından ilişki bulunduğuna dair birçok çalışma gösterilmiş olmasına rağmen bizim çalışmamızda apoptozis ile yaş arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bunun nedeni olarak da yaptığımız çalışmada apoptozisin yaş üzerine etkisini olduğunu kabul ettiğimizden yaş faktörünü elimine etmek amaçlı denek yaşlarını 20-24 hafta arasında seçmemizdi. Yani bu parametrenin çalışmamıza etki etmemesini deney başlamadan önce planlamıştık. Tüm bu faktörler ışığında bizim çalışmamızda denek yaşının apoptozise etkisinin olmadığını düşünmekteyiz.

Bir eklemin uzun süre çıkık kalması kondrosit hücrelerinin apoptozis formunda ölümüne sebep olduğunu düşünmekteyiz.

Apoptozisin şiddeti ile çıkık kalma süresi arasında kuvvetli ilişki olduğu kanaatindeyiz. Bu sebeple travmatik kalça çıkıklarında çıkık süresinin artması hem kısa dönem hem de uzun dönemde hasta morbiditesini arttıracakını düşünmekteyiz.

TZP uygulamasının AI'yi düşürdüğünü buna bağlı olarak eklem dejenerasyonunda azalma ve klinik olarak anlamlı bir iyileşmenin olacağını düşünmekteyiz. Bu nedenle TKÇ ile gelen bir hastada erken redüksiyon uygulamasının vazgeçilmez bir tedavi yöntemi olduğunu belirtmekle beraber TKÇ'li hastaların uzun dönem komplikasyonlarından sakınmak için TZP'nin de kalça redüksiyonu yapıldıktan sonra alternatif bir tedavi yöntemi olarak verilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

TKÇ'nin meydana geldikten sonraki ilk 1 saatlik dönemin uzun dönem komplikasyonların (kısa dönem değil) görülme sıklığını değiştirmesi bakımından en önemli zaman dilimi olduğu kanaatindeyiz. Böyle düşünmemizdeki neden TKÇ'nin meydana geldiği an ile sonraki ilk 1 saatlik dönemde apoptozisin fazla olmadığını o yüzden grup 1'e verilen TZP'nin de AI düşüşüne anlamlı ölçüde katkıda bulunmadığını savunmaktayız.

Tüm bu veriler ışığında TZP ortopedi ve travmatolojide birçok hastalığın tedavisi için umut ışığı yakmakta ancak bazı ortopedik problemlerde TZP'nin kesin bir tedavi yöntemi olarak görülmemesi gerektiği kombine tedavilerle birlikte etkisinin olabileceğini savunmaktayız.

7. KAYNAKLAR

1. Al-Bahlool AM, Bubshait DA, Sadat-Ali M. Outcome of traumatic hip dislocation. *Ulusal travma ve acil cerrahi dergisi = Turkish journal of trauma & emergency surgery : TJTES*. 2009;15:463-6.
2. Frankel VH, Nordin M. Basic biomechanics of the musculoskeletal system. (2). Philadelphia, PA, Lea & Febiger, 1989.
3. Moorman CT, 3rd, Warren RF, Hershman EB, Crowe JF, Potter HG, Barnes R, et al. Traumatic posterior hip subluxation in American football. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2003;85-a:1190-6.
4. Pallia CS, Scott RE, Chao DJ. Traumatic hip dislocation in athletes. *Current sports medicine reports*. 2002;1:338-45.
5. Stewart MJ, Milford LW. Fracture-dislocation of the hip; an end-result study. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1954;36:315-42.
6. Suraci AJ. Distribution and severity of injuries associated with hip dislocations secondary to motor vehicle accidents. *The Journal of trauma*. 1986;26:458-60.
7. Thompson VP, Epstein HC. Traumatic dislocation of the hip; a survey of two hundred and four cases covering a period of twenty-one years. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1951;33-a:746-78; passim.
8. Özdemir H, Dabak TK. Asetabulum Kırıklarında Radyojik Değerlendirme. *TOTBİD Dergisi*. 2012;11:120-32.
9. Papavasiliou VA. The fate of articular cartilage in traumatic dislocation of the hip. *Clinical orthopaedics and related research*. 1982:287-9.
10. Meyer U, Wiesmann HP. Bone and Cartilage. (eds). *Bone and Cartilage Engineering*. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg, 2006: 25-9.
11. Guner S, Buyukbebeci O. Analyzing the effects of platelet gel on knee osteoarthritis in the rat model. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2013;19:494-8.
12. Middleton KK, Barro V, Muller B, Terada S, Fu FH. Evaluation of the effects of platelet-rich plasma (PRP) therapy involved in the healing of sports-related soft tissue injuries. *The Iowa orthopaedic journal*. 2012;32:150-63.

13. Sunitha RV, Munirathnam NE. Platelet-rich fibrin: Evolution of a second-generation platelet concentrate. *Indian Journal of Dental Research*. 2008;19:42-6.
14. Arıkan F, Özçaka Ö, Bıçakçı N. Trombositten zengin plazma ve kemik grefti ile kombinasyonunun dar kemik içi defektlerde başarısının karşılaştırılması. *Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*. 2007;28:151-61.
15. Lacci KM, Dardik A. Platelet-rich plasma: support for its use in wound healing. *The Yale journal of biology and medicine*. 2010;83:1-9.
16. Dhurat R, Sukesh M. Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *Journal of cutaneous and aesthetic surgery*. 2014;7:189-97.
17. Pallua N, Wolter T, Markowicz M. Platelet-rich plasma in burns. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*. 2010;36:4-8.
18. Wu W, Zhang J, Dong Q, Liu Y, Mao T, Chen F. Platelet-rich plasma - A promising cell carrier for micro-invasive articular cartilage repair. *Medical hypotheses*. 2009;72:455-7.
19. Moreta J, Foruria X, Sanchez A, Aguirre U. Prognostic factors after a traumatic hip dislocation. A long-term retrospective study. *Revista espanola de cirugia ortopedica y traumatologia*. 2017;61:367-74.
20. Elliott J, Ng de J, Tham SK. Chondrocyte apoptosis in response to dislocation of the hip in the rat model. *ANZ journal of surgery*. 2006;76:398-402.
21. Court-Brown CM, Heckman JD, McQueen MM, Ricci WM, Tornetta III P, McKee MD. *Rockwood and Green's fractures in adults*. (8). Philadelphia, PA, Wolters Kluwer Health, 2015: 1919-2030.
22. Dere F. *Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*. (6. Baskı). Adana, Nobel Tıp Kitabevi, 2010: 315-41.
23. Putz R, Pabst R. In: Elhan A (eds). *Sobotta İnsan Anatomi Atlası*. (6. baskı [22. baskıdan çeviri]). İstanbul, Beta Basım Yayım Dağıtım, 2006: 10.
24. Putz R, Pabst R. In: Elhan A (eds). *Sobotta İnsan Anatomi Atlası*. (6. baskı [22. baskıdan çeviri]). İstanbul, Beta Basım Yayım Dağıtım, 2006: 267-322.
25. Netter FH. *The Netter Collection of Medical Illustrations*. (2th ed). İstanbul, Güneş Tıp Kitabevleri, 2009: 18-93.
26. Netter FH. *The Netter Collection of Medical Illustrations*. (2th ed). İstanbul, Güneş Tıp Kitabevleri, 2009: 53.
27. Tonnies D, Heinecke A. Diminished femoral antetorsion syndrome: a cause of pain and osteoarthritis. *J Pediatr Orthop*. 1991;11:419-31.

28. Charnley J, Feagin JA. Low-friction arthroplasty in congenital subluxation of the hip. *Clinical orthopaedics and related research*. 1973;98-113.
29. Byrne DP, Mulhall KJ, Baker JF. Anatomy and Biomechanics of the Hip. *The Open Sports Medicine Journal*. 2010;4.
30. Callaghan JJ, Rosenberg AG. Erişkin Kalça Eklemi. (2. baskı). İstanbul, Hayat Tıp Kitapçılık Yayınları, 2008: 52-824.
31. Paulsen F, Waschke J. Sobotta Anatomy Textbook: English Edition with Latin Nomenclature. (16). Munich, Elsevier Health Sciences, 2018: 312-60.
32. Çakar M. Crowe Tip 3 ve Tip 4 Kalça Displazisine Sekonder Gelişmiş Osteoartritlerde Total Kalça Protezi Uygulamalarımız. [Uzmanlık Tezi], Sağlık Bilimleri Üniversitesi İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi İstanbul 2006, s.6-16
33. <https://triplearat.weebly.com/muscular.html> [erişim tarihi: 9 Ocak 2020]
34. Wingerd BD, Stein G. The Muscular System. (eds). Rat Dissection Manual. Baltimore,MD, Johns Hopkins University Press, 1988: 28-9.
35. Howell AB. Anatomy of the Wood Rat. (1). Baltimore, The Williams & Wilkins Company, 1926: 31-77.
36. Mescher AL. Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas. (15). New York, NY, McGraw-Hill Medical, 2018: 129-251.
37. Goldring MB. Cartilage and Chondrocytes. In: Firestein GS, Budd R, Gabriel SE, McInnes IB, O'Dell JR (eds). Kelley's Textbook of Rheumatology E-Book. (10th ed). Elsevier Health Sciences, 2013: 33-60.
38. Chubinskaya S, Malfait AM, Wimmer MA. Form and function of articular cartilage. In: O'Keefe RJ (eds). Orthopaedic basic science: foundations of clinical practice American Academy of Orthopaedic Surgeons. (4th ed). Rosemont, IL2013: 183-97.
39. Buckwalter JA, Mankin HJ, Grodzinsky AJ. Articular cartilage and osteoarthritis. *Instructional Course Lectures-American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 2005;54:465-80.
40. Lane LB, Villacin A, Bullough PG. The vascularity and remodelling of subchondrial bone and calcified cartilage in adult human femoral and humeral heads. An age- and stress-related phenomenon. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1977;59:272-8.
41. https://www.researchgate.net/figure/Structural-layers-of-articular-cartilage_fig12_241623404 [erişim tarihi: 9 Ocak 2020]

42. Bader D, Lee D. Chapter 4-Structure-Properties of Soft Tissues Articular Cartilage. In: Manuel E (eds). *Structural Biological Materials Design and Structure-Property Relationships*. 2000: 75-103.
43. Maroudas A, Palla G, Gilav E. Racemization of aspartic acid in human articular cartilage. *Connect Tissue Res*. 1992;28:161-9.
44. Little CB, Ghosh P. Variation in proteoglycan metabolism by articular chondrocytes in different joint regions is determined by post-natal mechanical loading. *Osteoarthritis and cartilage*. 1997;5:49-62.
45. Otero M, Goldring MB. Cells of the synovium in rheumatoid arthritis. *Chondrocytes. Arthritis research & therapy*. 2007;9:220.
46. Bywaters EGL, MacKinnon M. The metabolism of joint tissues. *The Journal of Pathology and Bacteriology*. 1937;44:247-68.
47. Rosenthal O, Bowie MA, Wagoner G. Studies in the metabolism of articular cartilage. I. Respiration and glycolysis of cartilage in relation to its age. *Journal of Cellular and Comparative Physiology*. 1941;17:221-33.
48. Heywood HK, Bader DL, Lee DA. Rate of oxygen consumption by isolated articular chondrocytes is sensitive to medium glucose concentration. *J Cell Physiol*. 2006;206:402-10.
49. Lee RB, Urban JP. Evidence for a negative Pasteur effect in articular cartilage. *Biochem J*. 1997;321 (Pt 1):95-102.
50. Heywood HK, Lee DA. Monolayer expansion induces an oxidative metabolism and ROS in chondrocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008;373:224-9.
51. Zhou S, Cui Z, Urban JP. Factors influencing the oxygen concentration gradient from the synovial surface of articular cartilage to the cartilage-bone interface: a modeling study. *Arthritis and rheumatism*. 2004;50:3915-24.
52. Sengers BG, Heywood HK, Lee DA, Oomens CW, Bader DL. Nutrient utilization by bovine articular chondrocytes: a combined experimental and theoretical approach. *J Biomech Eng*. 2005;127:758-66.
53. Coimbra IB, Jimenez SA, Hawkins DF, Piera-Velazquez S, Stokes DG. Hypoxia inducible factor-1 alpha expression in human normal and osteoarthritic chondrocytes. *Osteoarthritis and cartilage*. 2004;12:336-45.
54. Wilkins RJ, Browning JA, Ellory JC. Surviving in a matrix: membrane transport in articular chondrocytes. *J Membr Biol*. 2000;177:95-108.
55. Aydelotte MB, Kuettner KE. Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. I. Morphology and cartilage matrix production. *Connect Tissue Res*. 1988;18:205-22.

56. Aydelotte MB, Greenhill RR, Kuettner KE. Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. II. Proteoglycan metabolism. *Connect Tissue Res.* 1988;18:223-34.
57. Quinn TM, Hunziker EB, Hauselmann HJ. Variation of cell and matrix morphologies in articular cartilage among locations in the adult human knee. *Osteoarthritis and cartilage.* 2005;13:672-8.
58. Stockwell RA. Inter-relationship of articular cartilage thickness and cellularity. *Annals of the rheumatic diseases.* 1972;31:424.
59. Bush PG, Hall AC. The volume and morphology of chondrocytes within non-degenerate and degenerate human articular cartilage. *Osteoarthritis and cartilage.* 2003;11:242-51.
60. Wong M, Wuethrich P, Buschmann MD, Eggli P, Hunziker E. Chondrocyte biosynthesis correlates with local tissue strain in statically compressed adult articular cartilage. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society.* 1997;15:189-96.
61. Cole AA, Kuettner KE. Molecular basis for differences between human joints. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS.* 2002;59:19-26.
62. Eger W, Schumacher BL, Mollenhauer J, Kuettner KE, Cole AA. Human knee and ankle cartilage explants: catabolic differences. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society.* 2002;20:526-34.
63. Brem H, Folkman J. Inhibition of tumor angiogenesis mediated by cartilage. *J Exp Med.* 1975;141:427-39.
64. Kuettner KE, Pauli BU. Inhibition of neovascularization by a cartilage factor. *Ciba Found Symp.* 1983;100:163-73.
65. Moses MA, Sudhalter J, Langer R. Identification of an inhibitor of neovascularization from cartilage. *Science.* 1990;248:1408-10.
66. Moses MA, Wiederschain D, Wu I, Fernandez CA, Ghazizadeh V, Lane WS, et al. Troponin I is present in human cartilage and inhibits angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:2645-50.
67. Pufe T, Petersen WJ, Miosge N, Goldring MB, Mentlein R, Varoga DJ, et al. Endostatin/collagen XVIII--an inhibitor of angiogenesis--is expressed in cartilage and fibrocartilage. *Matrix Biol.* 2004;23:267-76.
68. Henry SE, Deasy BM, Chu CR. Articular cartilage: biology, biomechanics, and healing response. En: Scott WN, editor. *Insall & Scott Surgery of the Knee.* Philadelphia, Elsevier, 2012: 146-52.

69. Goldring SR, Goldring MB. Biology of the normal joint. In: Firestein GS, Budd RC, Gabriel SE, McInnes IB, O'Dell JR (eds). *Kelley's Textbook of Rheumatology Electronic Version*. (6th ed). Saunders, 2013: 1-19.
70. Strangeways TS. Observations ON THE NUTRITION OF ARTICULAR CARTILAGE. *Br Med J*. 1920;1:661-3.
71. Maroudas A, Bullough P, Swanson SA, Freeman MA. The permeability of articular cartilage. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1968;50:166-77.
72. Linn FC, Sokoloff L. Movement and Composition of Interstitial Fluid of Cartilage. *Arthritis and rheumatism*. 1965;8:481-94.
73. Lewis PR, McCutchen CW. Experimental evidence for weeping lubrication in mammalian joints. *Nature*. 1959;184:1285.
74. Eyre DR, Weis MA, Wu JJ. Articular cartilage collagen: an irreplaceable framework? *European cells & materials*. 2006;12:57-63.
75. Dudhia J. Aggrecan, aging and assembly in articular cartilage. *Cell Mol Life Sci*. 2005;62:2241-56.
76. Poole AR, Kojima T, Yasuda T, Mwale F, Kobayashi M, Lavery S. Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair. *Clinical orthopaedics and related research*. 2001:S26-33.
77. Poole AR, Pidoux I, Reiner A, Rosenberg L. An immunoelectron microscope study of the organization of proteoglycan monomer, link protein, and collagen in the matrix of articular cartilage. *J Cell Biol*. 1982;93:921-37.
78. Guilak F, Alexopoulos LG, Upton ML, Youn I, Choi JB, Cao L, et al. The pericellular matrix as a transducer of biomechanical and biochemical signals in articular cartilage. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1068:498-512.
79. Wu JJ, Weis MA, Kim LS, Eyre DR. Type III collagen, a fibril network modifier in articular cartilage. *J Biol Chem*. 2010;285:18537-44.
80. Von der Mark K. Structure, biosynthesis and gene regulation of collagens in cartilage and bone. In: Bilezikian MJSPRP (eds). *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism Principles and Clinical Applications*. (2nd Ed). Burlington, MA, Academic Press/Elsevier, 2006: 3-40.
81. Bruckner P. Supramolecular Structure of Cartilage Matrix. In: Bilezikian MJSPRP (eds). *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism: Principles and Clinical Applications*. (2nd ed). Burlington, Academic Press, 2006: 407-20.
82. Sandell LJ, Heinegard D, Hering TM. Cell Biology, Biochemistry, and Molecular Biology of Articular Cartilage in Osteoarthritis. In: Moskowitz RW, Altman

RD, Hochberg MC (eds). Osteoarthritis: Diagnosis and Medical/Surgical Management. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 73-106.

83. Stanescu V, Stanescu R, Maroteaux P. Differences in distribution of type I and type II collagens in the superficial and intermediary zones of articular cartilage. *C R Acad Hebd Seances Acad Sci D*. 1976;283:279-82.

84. SundarRaj N, Fite D, Ledbetter S, Chakravarti S, Hassell JR. Perlecan is a component of cartilage matrix and promotes chondrocyte attachment. *J Cell Sci*. 1995;108 (Pt 7):2663-72.

85. Knudson CB, Knudson W. Cartilage proteoglycans. *Semin Cell Dev Biol*. 2001;12:69-78.

86. Miosge N, Flachsbarth K, Goetz W, Schultz W, Kresse H, Herken R. Light and electron microscopical immunohistochemical localization of the small proteoglycan core proteins decorin and biglycan in human knee joint cartilage. *The Histochemical Journal*. 1994;26:939-45.

87. Wiberg C, Hedbom E, Khairullina A, Lamande SR, Oldberg A, Timpl R, et al. Biglycan and decorin bind close to the n-terminal region of the collagen VI triple helix. *J Biol Chem*. 2001;276:18947-52.

88. Svensson L, Oldberg A, Heinegard D. Collagen binding proteins. Osteoarthritis and cartilage. 2001;9 Suppl A:S23-8.

89. Hardingham T. Proteoglycans and Glycosaminoglycans. In: Bilezikian MJSPRP (eds). Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism. Burlington, Academic Press, 2006: 85-98.

90. Heinegard D, Lorenzo P, Saxne T. Noncollagenous Proteins. In: Bilezikian MJSPRP (eds). Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism. Burlington, Academic Press, 2006: 71-84.

91. DiCesare PE, Morgelin M, Carlson CS, Pasumarti S, Paulsson M. Cartilage oligomeric matrix protein: isolation and characterization from human articular cartilage. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 1995;13:422-8.

92. Kanbe K, Yang X, Wei L, Sun C, Chen Q. Pericellular matrilins regulate activation of chondrocytes by cyclic load-induced matrix deformation. *J Bone Miner Res*. 2007;22:318-28.

93. Pullig O, Weseloh G, Klatt AR, Wagener R, Swoboda B. Matrilin-3 in human articular cartilage: increased expression in osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*. 2002;10:253-63.

94. Lorenzo P, Bayliss MT, Heinegard D. A novel cartilage protein (CILP) present in the mid-zone of human articular cartilage increases with age. *J Biol Chem*. 1998;273:23463-8.

95. Hirose J, Ryan LM, Masuda I. Up-regulated expression of cartilage intermediate-layer protein and ANK in articular hyaline cartilage from patients with calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition disease. *Arthritis and rheumatism*. 2002;46:3218-29.
96. Lorenzo P, Aspberg A, Onnerfjord P, Bayliss MT, Neame PJ, Heinegard D. Identification and characterization of asporin, a novel member of the leucine-rich repeat protein family closely related to decorin and biglycan. *J Biol Chem*. 2001;276:12201-11.
97. Henry SP, Takanosu M, Boyd TC, Mayne PM, Eberspaecher H, Zhou W, et al. Expression pattern and gene characterization of asporin, a newly discovered member of the leucine-rich repeat protein family. *J Biol Chem*. 2001;276:12212-21.
98. Kizawa H, Kou I, Iida A, Sudo A, Miyamoto Y, Fukuda A, et al. An aspartic acid repeat polymorphism in asporin inhibits chondrogenesis and increases susceptibility to osteoarthritis. *Nat Genet*. 2005;37:138-44.
99. Verzijl N, DeGroot J, Thorpe SR, Bank RA, Shaw JN, Lyons TJ, et al. Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. *J Biol Chem*. 2000;275:39027-31.
100. Maroudas A, Bayliss MT, Uchitel-Kaushansky N, Schneiderman R, Gilav E. Aggrecan turnover in human articular cartilage: use of aspartic acid racemization as a marker of molecular age. *Arch Biochem Biophys*. 1998;350:61-71.
101. Wong M, Carter DR. Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective. *Bone*. 2003;33:1-13.
102. Henrotin Y, Pesesse L, Sanchez C. Subchondral bone in osteoarthritis: pathophysiology: state-of-the art and perspectives. *Biomed Mater Eng*. 2009;19:311-6.
103. Imhof H, Sulzbacher I, Grampp S, Czerny C, Youssefzadeh S, Kainberger F. Subchondral bone and cartilage disease: a rediscovered functional unit. *Invest Radiol*. 2000;35:581-8.
104. Wu JP, Kirk TB, Zheng MH. Study of the collagen structure in the superficial zone and physiological state of articular cartilage using a 3D confocal imaging technique. *J Orthop Surg Res*. 2008;3:29.
105. Mosher TJ. Functional anatomy and structure of the "osteochondral unit". In: Gold MABJME (eds). *Arthritis in Color: Advanced Imaging of Arthritis* Philadelphia, Elsevier Saunders, 2009: 23-32.
106. Brama PA, TeKoppele JM, Bank RA, Barneveld A, van Weeren PR. Biochemical development of subchondral bone from birth until age eleven months and the influence of physical activity. *Equine Vet J*. 2002;34:143-9.

107. Duncan H, Jundt J, Riddle JM, Pitchford W, Christopherson T. The tibial subchondral plate. A scanning electron microscopic study. The Journal of bone and joint surgery American volume. 1987;69:1212-20.
108. Holmdahl DE, Ingelmark BE. The contact between the articular cartilage and the medullary cavities of the bones. Acta Anat (Basel). 1951;12:341-49.
109. <https://www.orthobullets.com/basic-science/9017/articular-cartilage> [erişim tarihi: 9 Ocak 2020]
110. Tibesku CO, Szuwart T, Kleffner TO, Schlegel PM, Jahn UR, Van Aken H, et al. Hyaline cartilage degenerates after autologous osteochondral transplantation. Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society. 2004;22:1210-4.
111. Goldring MB, Marcu KB. Cartilage homeostasis in health and rheumatic diseases. Arthritis research & therapy. 2009;11:224.
112. Mariani E, Pulsatelli L, Facchini A. Signaling pathways in cartilage repair. International journal of molecular sciences. 2014;15:8667-98.
113. Yano F, Hojo H, Ohba S, Fukai A, Hosaka Y, Ikeda T, et al. A novel disease-modifying osteoarthritis drug candidate targeting Runx1. Annals of the rheumatic diseases. 2013;72:748-53.
114. Carames B, Taniguchi N, Seino D, Blanco FJ, D'Lima D, Lotz M. Mechanical injury suppresses autophagy regulators and pharmacologic activation of autophagy results in chondroprotection. Arthritis and rheumatism. 2012;64:1182-92.
115. Danial NN. BCL-2 family proteins: critical checkpoints of apoptotic cell death. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2007;13:7254-63.
116. Del Carlo M, Jr., Loeser RF. Cell death in osteoarthritis. Current rheumatology reports. 2008;10:37-42.
117. Wang M, Shen J, Jin H, Im HJ, Sandy J, Chen D. Recent progress in understanding molecular mechanisms of cartilage degeneration during osteoarthritis. Annals of the New York Academy of Sciences. 2011;1240:61-9.
118. Redman SN, Oldfield SF, Archer CW. Current strategies for articular cartilage repair. European cells & materials. 2005;9:23-32; discussion 23-32.
119. Hunziker EB. Growth-factor-induced healing of partial-thickness defects in adult articular cartilage. Osteoarthritis and cartilage. 2001;9:22-32.
120. Ito Y, Fitzsimmons JS, Sanyal A, Mello MA, Mukherjee N, O'Driscoll SW. Localization of chondrocyte precursors in periosteum. Osteoarthritis and cartilage. 2001;9:215-23.

121. Kozaci DL, Oktay G, Hollander AP. Effects of interleukin 1 (IL1)-induced matrix breakdown on chondrocyte morphology in bovine nasal cartilage explants. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences*. 2005;29:951-7.
122. Fosang AJ, Beier F. Emerging Frontiers in cartilage and chondrocyte biology. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2011;25:751-66.
123. Carames B, Taniguchi N, Otsuki S, Blanco FJ, Lotz M. Autophagy is a protective mechanism in normal cartilage, and its aging-related loss is linked with cell death and osteoarthritis. *Arthritis and rheumatism*. 2010;62:791-801.
124. Cawston TE, Wilson AJ. Understanding the role of tissue degrading enzymes and their inhibitors in development and disease. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2006;20:983-1002.
125. Clark IM, Parker AE. Metalloproteinases: their role in arthritis and potential as therapeutic targets. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2003;7:19-34.
126. Akşit H, Bildik A. Apoptozis. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2008;19:55-63.
127. Tomatır AG. Apoptoz: programlı hücre ölümü. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 2003;23:499-508.
128. Öztürk F. Apoptoz. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2002;9:143-48.
129. Cummings MC, Winterford CM, Walker NI. Apoptosis. *Am J Surg Pathol*. 1997;21:88-101.
130. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol*. 1995;146:3-15.
131. Schwartzman RA, Cidlowski JA. Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocr Rev*. 1993;14:133-51.
132. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology*. (10). Philadelphia, PA, Elsevier Health Sciences, 2018: 38-40.
133. Schwartz LM, Kosz L, Kay BK. Gene activation is required for developmentally programmed cell death. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1990;87:6594-8.
134. Osborne BA. Induction of genes during apoptosis: examples from the immune system. *Semin Cancer Biol*. 1995;6:27-33.
135. Zhang J, Xu M. Apoptotic DNA fragmentation and tissue homeostasis. *Trends Cell Biol*. 2002;12:84-9.

136. Balakumaran A, Campbell GA, Moslen MT. Calcium channel blockers induce thymic apoptosis in vivo in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1996;139:122-7.
137. Cohen JJ. Apoptosis: the physiologic pathway of cell death. *Hosp Pract (Off Ed)*. 1993;28:35-43.
138. Wyllie AH. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature*. 1980;284:555-6.
139. Orrenius S. Mitochondrial regulation of apoptotic cell death. *Toxicol Lett*. 2004;149:19-23.
140. Denecker G, Vercammen D, Declercq W, Vandenabeele P. Apoptotic and necrotic cell death induced by death domain receptors. *Cell Mol Life Sci*. 2001;58:356-70.
141. Krysko DV, Vanden Berghe T, D'Herde K, Vandenabeele P. Apoptosis and necrosis: detection, discrimination and phagocytosis. *Methods*. 2008;44:205-21.
142. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Robbins SL. Robbins Temel Patoloji. In: Tuzlalı S, Güllüoğlu M, Çevikbaş U (eds). *Hücre Hasarı, Hücre Ölümü ve Adaptasyonlar*. (9. baskı). Philadelphia, PA, Elsevier/Saunders, 2013: 18-22.
143. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science*. 1998;281:1305-8.
144. Verhagen AM, Ekert PG, Pakusch M, Silke J, Connolly LM, Reid GE, et al. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing IAP proteins. *Cell*. 2000;102:43-53.
145. Miramar MD, Costantini P, Ravagnan L, Saraiva LM, Haouzi D, Brothers G, et al. NADH oxidase activity of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *J Biol Chem*. 2001;276:16391-8.
146. Ovalı E. Apoptozis. Ankara, Güneş Kitabevi, 1999.
147. Hofmann K, Bucher P, Tschopp J. The CARD domain: a new apoptotic signalling motif. *Trends Biochem Sci*. 1997;22:155-6.
148. Garrido C, Galluzzi L, Brunet M, Puig PE, Didelot C, Kroemer G. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria. *Cell Death Differ*. 2006;13:1423-33.
149. Luo X, Budihardjo I, Zou H, Slaughter C, Wang X. Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell*. 1998;94:481-90.
150. Petrosillo G, Ruggiero FM, Pistolese M, Paradies G. Reactive oxygen species generated from the mitochondrial electron transport chain induce cytochrome c

dissociation from beef-heart submitochondrial particles via cardiolipin peroxidation. Possible role in the apoptosis. *FEBS Lett.* 2001;509:435-8.

151. Yu SW, Wang H, Poitras MF, Coombs C, Bowers WJ, Federoff HJ, et al. Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor. *Science.* 2002;297:259-63.

152. Israels LG, Israels ED. Apoptosis. *Oncologist.* 1999;4:332-9.

153. Lu J, Ashwell KW, Waite P. Advances in secondary spinal cord injury: role of apoptosis. *Spine (Phila Pa 1976).* 2000;25:1859-66.

154. Newton K, Strasser A. The Bcl-2 family and cell death regulation. *Current opinion in genetics & development.* 1998;8:68-75.

155. Cohen JJ. Apoptosis. *Immunology Today.* 1993;14:126-30.

156. Miyashita T, Krajewski S, Krajewska M, Wang HG, Lin HK, Liebermann DA, et al. Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene.* 1994;9:1799-805.

157. Korsmeyer SJ. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood.* 1992;80:879-86.

158. Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, Bethea JR, Krajewski S, Reed JC, et al. Apoptotic and anti-apoptotic mechanisms following spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2001;60:422-9.

159. Hu Y, Benedict MA, Ding L, Nunez G. Role of cytochrome c and dATP/ATP hydrolysis in Apaf-1-mediated caspase-9 activation and apoptosis. *Embo j.* 1999;18:3586-95.

160. Choi WS, Lee EH, Chung CW, Jung YK, Jin BK, Kim SU, et al. Cleavage of Bax is mediated by caspase-dependent or -independent calpain activation in dopaminergic neuronal cells: protective role of Bcl-2. *J Neurochem.* 2001;77:1531-41.

161. Evan GI, Wyllie AH, Gilbert CS, Littlewood TD, Land H, Brooks M, et al. Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein. *Cell.* 1992;69:119-28.

162. Konishi Y, Lehtinen M, Donovan N, Bonni A. Cdc2 phosphorylation of BAD links the cell cycle to the cell death machinery. *Mol Cell.* 2002;9:1005-16.

163. Putcha GV, Moulder KL, Golden JP, Bouillet P, Adams JA, Strasser A, et al. Induction of BIM, a Proapoptotic BH3-Only BCL-2 Family Member, Is Critical for Neuronal Apoptosis. *Neuron.* 2001;29:615-28.

164. Muppidi J, Porter M, Siegel RM. Measurement of apoptosis and other forms of cell death. *Curr Protoc Immunol.* 2004;Chapter 3:Unit 3.17.

165. Tasdemir E, Galluzzi L, Maiuri MC, Criollo A, Vitale I, Hangen E, et al. Methods for assessing autophagy and autophagic cell death. *Methods Mol Biol.* 2008;445:29-76.
166. J. AM, Wyllie AH. Apoptosis: Mechanisms and Roles in Pathology. (eds). *International Review of Experimental Pathology.* Elsevier, 1991: 223-54.
167. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol.* 1992;119:493-501.
168. Hilton DA, Love S, Barber R. Demonstration of apoptotic cells in tissue sections by in situ hybridization using digoxigenin-labeled poly(A) oligonucleotide probes to detect thymidine-rich DNA sequences. *J Histochem Cytochem.* 1997;45:13-20.
169. White JG, Gerrard JM. Ultrastructural features of abnormal blood platelets. A review. *Am J Pathol.* 1976;83:589-632.
170. Harrison P, Cramer EM. Platelet alpha-granules. *Blood reviews.* 1993;7:52-62.
171. Schlessinger J. Ligand-Induced, Receptor-Mediated Dimerization and Activation of EGF Receptor. *Cell.* 2002;110:669-72.
172. Chang J-H, Garg NK, Lunde E, Han K-Y, Jain S, Azar DT. Corneal neovascularization: an anti-VEGF therapy review. *Survey of ophthalmology.* 2012;57:415-29.
173. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nature medicine.* 2000;6:389-95.
174. Currie LJ, Sharpe JR, Martin R. The use of fibrin glue in skin grafts and tissue-engineered skin replacements: a review. *Plast Reconstr Surg.* 2001;108:1713-26.
175. Becker JC, Beckbauer M, Domschke W, Herbst H, Pohle T. Fibrin glue, healing of gastric mucosal injury, and expression of growth factors: results from a human in vivo study. *Gastrointestinal endoscopy.* 2005;61:560-7.
176. Colville-Nash PR, Willoughby DA. Growth factors in angiogenesis: current interest and therapeutic potential. *Molecular medicine today.* 1997;3:14-23.
177. Coutu DL, Galipeau J. Roles of FGF signaling in stem cell self-renewal, senescence and aging. *Aging.* 2011;3:920-33.
178. Cheng T, Yang C, Weber N, Kim HT, Kuo AC. Fibroblast growth factor 2 enhances the kinetics of mesenchymal stem cell chondrogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;426:544-50.
179. Handorf AM, Li WJ. Fibroblast growth factor-2 primes human mesenchymal stem cells for enhanced chondrogenesis. *PloS one.* 2011;6:e22887.

180. Pizzute T, Li J, Zhang Y, Davis ME, Pei M. Fibroblast Growth Factor Ligand Dependent Proliferation and Chondrogenic Differentiation of Synovium-Derived Stem Cells and Concomitant Adaptation of Wnt/Mitogen-Activated Protein Kinase Signals. *Tissue engineering Part A*. 2016;22:1036-46.
181. Solchaga LA, Penick K, Porter JD, Goldberg VM, Caplan AI, Welter JF. FGF-2 enhances the mitotic and chondrogenic potentials of human adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol*. 2005;203:398-409.
182. Utku B. Trombositten zengin plazmanın tedavi edici etkisini meloksikam ve diklofenak değiştirir mi? (eds). Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Spor Hekimliği Anabilim Dalı. Ankara2014.
183. Kingsley CS. Blood coagulation; evidence of an antagonist to factor VI in platelet-rich human plasma. *Nature*. 1954;173:723-4.
184. Loeser RF. Growth factor regulation of chondrocyte integrins. Differential effects of insulin-like growth factor 1 and transforming growth factor beta on alpha 1 beta 1 integrin expression and chondrocyte adhesion to type VI collagen. *Arthritis and rheumatism*. 1997;40:270-6.
185. Soyöz M, Özçelik N. TGF- β (Transforming Growth Factor- β) ve Sinyal Dletimi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2007;27:426-33.
186. Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *Journal of periodontology*. 1997;68:1186-93.
187. Flechtenmacher J, Huch K, Thonar EJ, Mollenhauer JA, Davies SR, Schmid TM, et al. Recombinant human osteogenic protein 1 is a potent stimulator of the synthesis of cartilage proteoglycans and collagens by human articular chondrocytes. *Arthritis and rheumatism*. 1996;39:1896-904.
188. Loeser RF, Chubinskaya S, Pacione C, Im HJ. Basic fibroblast growth factor inhibits the anabolic activity of insulin-like growth factor 1 and osteogenic protein 1 in adult human articular chondrocytes. *Arthritis and rheumatism*. 2005;52:3910-7.
189. Nishida Y, Knudson CB, Eger W, Kuettner KE, Knudson W. Osteogenic protein 1 stimulates cells-associated matrix assembly by normal human articular chondrocytes: up-regulation of hyaluronan synthase, CD44, and aggrecan. *Arthritis and rheumatism*. 2000;43:206-14.
190. Dereka XE, Markopoulou CE, Vrotsos IA. Role of growth factors on periodontal repair. *Growth factors (Chur, Switzerland)*. 2006;24:260-7.
191. Kelly RP, Yarbrough SH, 3rd. Posterior fracture-dislocation of the femoral head with retained medial head fragment. *The Journal of trauma*. 1971;11:97-108.

192. <https://www.orthobullets.com/trauma/1035/hip-dislocation> [erişim tarihi: 27 Aralık 2019]
193. Tornetta P, 3rd, Mostafavi HR. Hip Dislocation: Current Treatment Regimens. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*. 1997;5:27-36.
194. Paus B. Traumatic dislocations of the hip; late results in 76 cases. *Acta orthopaedica Scandinavica*. 1951;21:99-112.
195. Keith JE, Jr., Brashear HR, Jr., Guilford WB. Stability of posterior fracture-dislocations of the hip. Quantitative assessment using computed tomography. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1988;70:711-4.
196. Hougaard K, Lindequist S, Nielsen LB. Computerised tomography after posterior dislocation of the hip. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1987;69:556-7.
197. Dreinhofer KE, Schwarzkopf SR, Haas NP, Tscherne H. Isolated traumatic dislocation of the hip. Long-term results in 50 patients. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1994;76:6-12.
198. DeLee JC. Fractures and dislocations of the hip. In: Rockwood CA, Bucholz RW, Green DP, Court-Brown CM, Heckman JD, Tornetta P (eds). *Rockwood and Green's Fractures in Adults*. Philadelphia, PA, Lippincott-Raven, 1996: 1756-803.
199. Calkins MS, Zych G, Latta L, Borja FJ, Mnaymneh W. Computed tomography evaluation of stability in posterior fracture dislocation of the hip. *Clinical orthopaedics and related research*. 1988;227:152-63.
200. Brav EA. Traumatic dislocation of the hip: army experience and results over a twelve-year period. *J Bone Joint Surg Am*. 1962;44:1115-34.
201. Armstrong JR. Traumatic dislocation of the hip joint; review of 101 dislocations. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1948;30b:430-45.
202. Yang RS, Tsuang YH, Hang YS, Liu TK. Traumatic dislocation of the hip. *Clinical orthopaedics and related research*. 1991:218-27.
203. Beaton LE, Anson BJ. The relation of the sciatic nerve and of its subdivisions to the piriformis muscle. *Anat Rec*. 1937;70:1-5.
204. Letournel E, Judet R. *Fractures of the acetabulum*. (2). New York, NY, Springer-Verlag, 1993.
205. Upadhyay SS, Moulton A, Burwell RG. Biological factors predisposing to traumatic posterior dislocation of the hip. A selection process in the mechanism of injury. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1985;67:232-6.

206. <https://www.orthobullets.com/pediatrics/4059/femoral-anteversion?expandLeftMenu=true> [erişim tarihi: 24 Şubat 2019]
207. Pringle JH. Traumatic Dislocation at the Hip Joint. An Experimental Study on the Cadaver. Glasgow medical journal. 1943;139:25-40.
208. D'Lima DD, Hashimoto S, Chen PC, Colwell CW, Jr., Lotz MK. Impact of mechanical trauma on matrix and cells. Clinical orthopaedics and related research. 2001:S90-9.
209. D'Lima DD, Hashimoto S, Chen PC, Lotz MK, Colwell CW, Jr. Cartilage injury induces chondrocyte apoptosis. The Journal of bone and joint surgery American volume. 2001;83-A Suppl 2:19-21.
210. D'Lima DD, Hashimoto S, Chen PC, Lotz MK, Colwell CWJ. In Vitro and in Vivo Models of Cartilage Injury. The Journal of bone and joint surgery American volume. 2001;83-A:22-4.
211. Hashimoto S, Ochs RL, Komiya S, Lotz M. Linkage of chondrocyte apoptosis and cartilage degradation in human osteoarthritis. Arthritis and rheumatism. 1998;41:1632-8.
212. Kim HT, Lo MY, Pillarisetty R. Chondrocyte apoptosis following intraarticular fracture in humans. Osteoarthritis and cartilage. 2002;10:747-9.
213. Lotz M, Hashimoto S, Kuhn K. Mechanisms of chondrocyte apoptosis. Osteoarthritis and cartilage. 1999;7:389-91.
214. Mehlman CT, Hubbard GW, Crawford AH, Roy DR, Wall EJ. Traumatic hip dislocation in children. Long-term followup of 42 patients. Clinical orthopaedics and related research. 2000:68-79.
215. Yang EC, Cornwall R. Initial treatment of traumatic hip dislocations in the adult. Clinical orthopaedics and related research. 2000:24-31.
216. Epstein HC. Posterior fracture-dislocations of the hip; long-term follow-up. The Journal of bone and joint surgery American volume. 1974;56:1103-27.
217. Hunter GA. Posterior dislocation and fracture-dislocation of the hip. A review of fifty-seven patients. The Journal of bone and joint surgery British volume. 1969;51:38-44.
218. Pietrafesa CA, Hoffman JR. Traumatic dislocation of the hip. Jama. 1983;249:3342-6.
219. Stewart MJ, McCarroll HR, Jr., Mulhollan JS. Fracture-dislocation of the hip. Acta orthopaedica Scandinavica. 1975;46:507-25.

220. Hougaard K, Thomsen PB. Traumatic posterior dislocation of the hip--prognostic factors influencing the incidence of avascular necrosis of the femoral head. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1986;106:32-5.
221. Jaskulka RA, Fischer G, Fenzl G. Dislocation and fracture-dislocation of the hip. *The Journal of bone and joint surgery British volume.* 1991;73:465-9.
222. Lau RL, Gandhi R, Mahomed S, Mahomed N. Patient satisfaction after total knee and hip arthroplasty. *Clin Geriatr Med.* 2012;28:349-65.
223. Sampson S, Reed M, Silvers H, Meng M, Mandelbaum B. Injection of platelet-rich plasma in patients with primary and secondary knee osteoarthritis: a pilot study. *Am J Phys Med Rehabil.* 2010;89:961-9.
224. Kon E, Mandelbaum B, Buda R, Filardo G, Delcogliano M, Timoncini A, et al. Platelet-rich plasma intra-articular injection versus hyaluronic acid viscosupplementation as treatments for cartilage pathology: from early degeneration to osteoarthritis. *Arthroscopy.* 2011;27:1490-501.
225. Peerbooms JC, Sluimer J, Bruijn DJ, Gosens T. Positive effect of an autologous platelet concentrate in lateral epicondylitis in a double-blind randomized controlled trial: platelet-rich plasma versus corticosteroid injection with a 1-year follow-up. *Am J Sports Med.* 2010;38:255-62.
226. Matsumoto H, Minowa Y, Nishitani Y, Fukui Y. An allometric model for predicting blood ethanol elimination in mammals. *Biochem Pharmacol.* 1999;57:219-23.
227. Okazaki S, Nishitani Y, Nagoya S, Kaya M, Yamashita T, Matsumoto H. Femoral head osteonecrosis can be caused by disruption of the systemic immune response via the toll-like receptor 4 signalling pathway. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48:227-32.
228. Hammond JW, Hinton RY, Curl LA, Muriel JM, Lovering RM. Use of autologous platelet-rich plasma to treat muscle strain injuries. *Am J Sports Med.* 2009;37:1135-42.
229. Ishiko O, Sumi T, Hirai K, Honda KI, Nakata S, Yoshida H, et al. Apoptosis of muscle cells causes weight loss prior to impairment of DNA synthesis in tumor-bearing rabbits. *Jpn J Cancer Res.* 2001;92:30-5.
230. Hovens IB, Schoemaker RG, van der Zee EA, Heineman E, Nyakas C, van Leeuwen BL. Surgery-induced behavioral changes in aged rats. *Exp Gerontol.* 2013;48:1204-11.
231. Adams CS, Horton WE, Jr. Chondrocyte apoptosis increases with age in the articular cartilage of adult animals. *Anat Rec.* 1998;250:418-25.
232. Ariga K, Miyamoto S, Nakase T, Okuda S, Meng W, Yonenobu K, et al. The relationship between apoptosis of endplate chondrocytes and aging and degeneration of the intervertebral disc. *Spine.* 2001;26:2414-20.

233. <https://sedatsen.files.wordpress.com/2016/11/7-sunum.pdf>). [erişim tarihi: 8 Ocak 2020]