

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

SİNOVİYAL DOKUNUN  
“İN-VİVO” KIKIRDAK KÜLTÜRÜNDEKİ ETKİSİ  
-HAYVAN DENEYİ-

Dr. Onur BİLGE

UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

ANKARA  
2009

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

SİNOVİYAL DOKUNUN  
“İN-VİVO” KIKIRDAK KÜLTÜRÜNDEKİ ETKİSİ  
-HAYVAN DENEYİ-

Dr. Onur BİLGE

UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Mahmut Nedim DORAL

ANKARA  
2009

## TEŞEKKÜR

Çalışmanın gerçekleştirilmesine katkılarından dolayı, aşağıda adı geçen kişilere içtenlikle teşekkür etmek istiyorum.

Sayın Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral, tez danışmanım olarak bu çalışmanın ortaya çıkmasında ve her aşamasında, eserin içeriğinin düzenlenmesinde, yürütülmesinde ve tez sonuçlarının yorumlanmasında akademik bilgi ve deneyimleri ile çok değerli ve önemli katkılarda bulunmuştur. Stajyer öğrenciliğimden başlayarak, uzmanlığıma kadar akademik hayatımın her aşamasında değerli fikirleri ile bana yol göstermiş, davranışları ve kişiliğiyle örnek teşkil etmiş ve her türlü desteği ile her zaman yanımda olmuştur.

Sayın Prof. Dr. Mustafa Sargon, çalışmaya akademik bilgi ve deneyimleri ile katkıda bulunup, cerrahi disseksiyon ve histolojik değerlendirme aşamalarında yoğun ilgi ve desteğini esirgememiştir.

Sayın Prof. Dr. Hasan Bilgili, çalışmanın hazırlık aşamasında hayvanların temini ve cerrahilerinin gerçekleştirilmesi sırasında, çalışmaya akademik bilgi ve cerrahi deneyimiyle değerli katkılarda bulunup, desteğini esirgememiştir.

Sayın Prof. Dr. Reha Alpar ve Araş. Gör. Sevilay Karahan, çalışmanın verilerinin biyoistatistiksel değerlendirilmesinde ve sonuçların alınmasında akademik bilgi ve deneyimleri ile değerli katkılarda bulunmuşlardır.

Çok kıymetli annem -Ayfer Bilge- ve babam -Halis Bilge-, hayatımın her aşamasında olduğu gibi, çalışmam sırasında da yoğun ilgilerini, özverilerini, maddi ve manevi her türlü desteklerini -gece ve gündüz devamlı olarak- hiç esirgememişler ve her zaman yanımda olmuşlardır.

Sevgili eşim, biricik hayat arkadaşım Dr. Melek Bilge, birlikte ilerlediğimiz hayatta olduğu gibi, çalışmamda da manevi desteğinin yanı sıra Türkçe denetimi ile çalışmama her türlü değerli katkılarını esirgememiştir.

Son olarak, ortopedi ve travmatoloji eğitimimde bana emeği geçmiş tüm Hacettepe Üniversitesi Öğretim Üyelerine, başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mümtaz Alpaslan olmak üzere tüm değerli bölüm hocalarıma, sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

**Bilge O. Sinoviyal Dokunun “İn-Vivo” Kıkırdak Kültüründeki Etkisi -Hayvan Deneyi-. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Tezi, Ankara 2009.** İçinde bulunduğumuz kemik ve eklem onyılında, eklem kıkırdağı patolojilerinin tedavisi için, tıbbi ve endüstriyel çabalar her geçen gün artmaktadır. Bu çalışmadaki amacımız; sinoviyal dokunun “in-vivo” kültür ortamı olarak kıkırdak proliferasyonu üzerine etkilerini belirlemek ve yeni, biyolojik ve ucuz bir tedavi yöntemini öngörmek olmuştur. Çalışmamızda, 12 Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır ve her iki dizinden standart boyutlarda kıkırdak örnekleri alınmıştır. İki grup oluşturulmuştur: Kıkırdak örnekleri, grup I’de suprakondiler oluktaki sinoviyal dokunun içine, grup II’de patellar tendonun arkasına yerleştirilmiştir. Dört aylık izlem sonucunda, örneklerdeki büyüme makroskopik olarak ölçülmüş ve örnekler, kondrosit sayılarının ölçümü için, “camera lucida” yöntemi kullanılarak histolojik olarak incelenmiştir (Mann-Whitney U-Testi ve regresyon analizi). Kondral örneklerle karşılaştırıldığında osteokondral örneklerde kondrosit sayıları istatistiksel anlamlı olarak daha fazla ( $p<0.05$ ) ve pre-op. örneklerle karşılaştırıldığında kondrosit sayısındaki artış sadece osteokondral örneklerde ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Osteokondral örnekler için, kondrosit sayılarındaki artış, grup II ile karşılaştırıldığında grup I’de istatistiksel olarak daha fazla bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Sonuç olarak, bu çalışma literatürde “sinoviyal doku içerisine yerleştirilen kıkırdak dokusundaki kondrosit sayısındaki artışın camera lucida” yöntemiyle histolojik olarak gösterildiği ve sinoviyal dokunun mükemmel bir kondrogenetik “in-vivo” kültür ortamı olabileceğini gösteren ilk çalışmadır. Yakın gelecekte “in-vivo” ortamda üretilmiş kıkırdağın artroskopi-yardımlı implantasyonu, eklem kıkırdak lezyonlarının tedavisinde yeni, ucuz ve biyolojik olarak etkin bir tedavi alternatifi olabileceği öngörülebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kıkırdak, Kondrosit, Sinoviya, İn-vivo Kültür, Tavşan Dizi

## ABSTRACT

**Bilge O. The Effect of the Synovial Tissue in the “In-Vivo” Chondrocyte Culture -Animal Study-. Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Orthopaedics and Traumatology, Ankara 2009.** In the current bone and joint decade, medical and industrial attempts for the treatment of articular cartilage pathologies have been increasing. Our aims in this study was to determine the effects of synovium on cartilage proliferation as “in-vivo” culture medium and to anticipate a new, biological and cheap treatment method for the articular cartilage pathologies. In this study, 12 New Zealand rabbits were used and standardized cartilage samples were taken from both knees. Two groups were formed: In group I (synovium group), the cartilage samples were placed into the synovial tissue on the supracondylar groove, and in group II (intraarticular group), behind the patellar tendon. After 4 months, we sized and analyzed samples histologically with the camera lucida method to count the chondrocyte numbers (Mann-Whitney U-Test and regression analysis). The chondrocyte numbers in the osteochondral samples were found to be higher than chondral samples ( $p<0.05$ ) and the chondrocyte number increase was only found in the osteochondral samples, compared with preoperative samples ( $p<0.05$ ). For the osteochondral samples, the chondrocyte numbers were found to be significantly increased more in the group I than in the group II ( $p<0.05$ ). In conclusion, this study firstly showed histologically -with the camera lucida method- the chondrocyte number increase in the cartilage tissue which was put into the synovial tissue. It also showed firstly that the synovium may be an excellent chondrogenetic “in-vivo” culture medium. In the near future, arthroscopy-assisted implantation of “in-vivo” produced cartilage would probably be a new, cheap and biologically efficient treatment alternative for the articular cartilage lesions.

**Keywords:** Cartilage, Chondrocyte, Synovium, In-vivo Culture, Rabbit's Knee

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                   | Sayfa    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>TEŞEKKÜR</b>                                                                   | ii       |
| <b>ÖZET</b>                                                                       | iv       |
| <b>ABSTRACT</b>                                                                   | v        |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>                                                                | vi       |
| <b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>                                                    | viii     |
| <b>ŞEKİLLER</b>                                                                   | ix       |
| <b>TABLolar</b>                                                                   | xii      |
| <br>                                                                              |          |
| <b>1. GİRİŞ</b>                                                                   | <b>1</b> |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>                                                          | <b>5</b> |
| 2.1. Eklem Kıkırdağı                                                              | 5        |
| 2.1.1. Eklem Kıkırdağının Yapısal Bileşenleri ve Görevleri                        | 5        |
| 2.1.2. Eklem Kıkırdağının Yapısal Anatomisi ve Büyüme Özelliği                    | 10       |
| 2.2. Sinoviyal Doku                                                               | 12       |
| 2.2.1. Sinoviyal Dokunun Yapısal Anatomisi ve Histomorfolojisi                    | 12       |
| 2.2.2. Sinoviyal Dokunun Fonksiyonları ve Kondrojenetik Özelliği                  | 14       |
| 2.3. Eklem Kıkırdak Lezyonları                                                    | 15       |
| 2.3.1. Eklem Kıkırdak Lezyonlarının Sınıflandırılması                             | 15       |
| 2.3.2. Eklem Kıkırdağının Tamir Kapasitesi                                        | 17       |
| 2.3.3. Eklem Kıkırdak Lezyonlarının Kliniği                                       | 18       |
| 2.3.4. Kıkırdağın Orijinal Dokuya Entegrasyonu                                    | 19       |
| 2.3.5. Eklem Kıkırdak Lezyonlarının Tedavi Yöntemleri                             | 20       |
| 2.3.5.1. Konservatif Yöntemler                                                    | 22       |
| 2.3.5.2. Cerrahi Yöntemler                                                        | 23       |
| 2.3.5.3. Doku Mühendisliği, Mezenkimal Kök Hücre, Skafoldlar<br>ve Gen Tedavileri | 26       |

|                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| <b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>   | <b>31</b> |
| 3.1 Anestezi/Analjezi       | 31        |
| 3.2 Cerrahi Teknik          | 31        |
| 3.3. Makroskopik Ölçüm      | 35        |
| 3.4. Histolojik İnceleme    | 36        |
| 3.5. İstatistiksel İnceleme | 39        |
| <b>4. BULGULAR</b>          | <b>40</b> |
| <b>5.TARTIŞMA</b>           | <b>48</b> |
| <b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b> | <b>60</b> |
| <b>7. KAYNAKLAR</b>         | <b>63</b> |

## SİMGELER ve KISALTMALAR

|                 |                                                                               |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Pre-op.         | Cerrahi öncesi                                                                |
| Post-op.        | Cerrahi sonrası                                                               |
| b1              | En                                                                            |
| b2              | Boy                                                                           |
| b3              | Derinlik                                                                      |
| mg              | Miligram                                                                      |
| kg              | Kilogram                                                                      |
| sc              | Subcutaneous (cilt altı)                                                      |
| mm              | Milimetre                                                                     |
| mm <sup>2</sup> | Milimetre kare                                                                |
| mm <sup>3</sup> | Milimetre küp                                                                 |
| YH              | Yaklaşık hacim                                                                |
| Ort.            | Ortalama                                                                      |
| ↓               | Azalmış                                                                       |
| ↑               | Artmış                                                                        |
| ICRS            | International Cartilage Repair Society (Uluslararası Kıkırdak Tamiri Birliği) |
| FDA             | Food and Drug Administration (Besin ve İlaç İzin Kurulu)                      |
| TGF             | Transforming growth factor (Değiştirici büyüme faktörü)                       |
| IGF             | Insulin-like growth factor (İnsülin benzeri büyüme faktörü)                   |
| BMP             | Bone morphogenic protein (Kemik morfojenik protein)                           |
| FGF             | Fibroblast growth factor (Fibroblast büyüme faktörü)                          |
| PDGF-B          | Plaletet-derived growth factor-B (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü-B)        |
| MRG             | Manyetik rezonans görüntüleme                                                 |
| cpm             | continuous passive motion (devamlı pasif hareket)                             |
| SS              | Standart sapma                                                                |
| R <sup>2</sup>  | Tanımlayıcılık katsayısı                                                      |

## ŞEKİLLER

|                                                                                                                                                                                                 | <b>Sayfa</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>2.1.</b> Proteoglikan agrekan ve agregatının yapısı                                                                                                                                          | 9            |
| <b>2.2.</b> Proteoglikan ile kollajen fibril bağlantılarının yapısal görünümü                                                                                                                   | 9            |
| <b>2.3.</b> Eklem kıkırdığının temel yapısal anatomisi                                                                                                                                          | 10           |
| <b>2.4.</b> Sinoviyal membranın ve fibröz tabakaların eklem kapsülüne ait iki parça olduğu görülmekte. Sinoviyal membran, kıkırdak alanlar dışında eklem boşluğunun iç yüzeyini oluşturmaktadır | 13           |
| <b>2.5.</b> Sinoviyal dokunun histolojik yapısı. Yüzey hücreleri epitelioid düzende eklem yüzeyini oluşturmaktadır. Kan damarlarınca zengindir ve gevşek bir bağ dokuya sahiptir                | 13           |
| <b>2.6.</b> Sinoviyal dokunun içerdiği hücreler ve yapısal görünümü                                                                                                                             | 14           |
| <b>2.7.</b> Parsiyel kalınlıktaki kıkırdak lezyonu. Subkondral kemik Etkilenmemiştir                                                                                                            | 16           |
| <b>2.8.</b> Tam kat kıkırdak lezyonu. Subkondral kemik de etkilenmiştir                                                                                                                         | 17           |
| <b>2.9.</b> Kıkırdak tamirinin lateral entegrasyonunu doğrudan veya dolaylı olarak etkilediği bilinen faktörler                                                                                 | 20           |

- 3.1.** Cerrahi öncesi hazırlık aşamasının görüntüleri (a) Tavşanın her iki dizinin uygun ve steril olarak hazırlanmış şekli. (b) Cerrahi uygulanacak dizin steril örtü ile örtülmüş ve işaretlenmiş şekli (QF: Kuadriseps femoris tendonu, P: Patella, PT: Patellar tendon, TT: Tibial tüberkül) 32
- 3.2.** Femoral kondillere ulaşım için uygulanan cerrahi teknik. (a) Orta hat insizyonu. (b) Medial parapatellar insizyon sonrasında, patellanın laterale sublüksasyonu ve femoral kondillerin ortaya çıkarılması 32
- 3.3.** Osteokondral örnek, sağ diz. (a) Femoral kondilin yük binmeyen yüzeyinden subkondral kemik ile birlikte kıkırdak örneğinin alınışı. (b) ve (c) Boyutları ( $b1 \times b2 \times b3 = 4 \times 4 \times 6$  (mm)) 33
- 3.4.** Kondral örnek, sol diz. (a) Femoral kondilin yük binmeyen yüzeyinden subkondral kemik hariç sadece kıkırdak örneğinin alınışı. (b) Boyutları ( $b1 \times b2 \times b3 = 4 \times 4 \times 4$  (mm)) 33
- 3.5.** Osteokondral ve kondral örneklerin sinoviyal doku içerisine gömülmesi. (a) Donör sahadan (siyah okun ucu) alınan örneğin (beyaz okun ucu), femoral kondil (FK) superior komşuluğundaki sinoviyal doku (yıldız) içerisine yerleştirilmesi. (b) ve (c) Örneğin (beyaz okun ucu) sinoviyal doku (yıldız) içerisine bir adet emilmeyen mavi renkli dikiş ile tespiti 34
- 3.6.** Osteokondral ve kondral örneklerin eklem içine yerleştirilmesi. (a) ve (b) Örneğin (beyaz okun ucu) patellar tendonun (yıldız) posterioruna konulması ve bir adet mavi renkli, emilmeyen dikiş ile tespiti 34

|              |                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>3.7.</b>  | Post-op. 1. haftanın sonunda yara yerinde enfeksiyon bulgusunun olmadığı görülmekte                                                                                                                                                                      | 35 |
| <b>3.8.</b>  | Örnek olarak grup II'den 9 numaralı tavşanın sağ dizinden alınan post-op. örneğin makroskopik ölçümü. Mavi renkli, emilmeyen dikişin örneğin üzerinde olduğu görülmektedir                                                                               | 36 |
| <b>3.9.</b>  | Kontrol pre-op. kondral örneğe ait preparatın x100 büyütmedeki histolojik görüntüsü (a). Kontrol pre-op. osteokondral örneğe ait preparatın x40 (b) ve x100 (c) büyütmelerdeki histolojik görüntüleri                                                    | 37 |
| <b>3.10.</b> | Sinoviyal gruptaki 4 numaralı tavşanın sağ dizinden alınıp sinoviyal dokusuna gömülen osteokondral örneğin post-op. 4 ay sonraki, x40 (a), x100 (b) ve x200 (c) büyütmelerdeki histolojik görüntüleri                                                    | 37 |
| <b>3.11.</b> | Eklem içi gruptaki 11 numaralı tavşanın sol dizinden alınıp patellar tendon posterioruna yerleştirilen kondral örneğin 4 ay sonraki, x40 (a) ve x100 (b) büyütmelerdeki histolojik görüntüleri                                                           | 38 |
| <b>3.12.</b> | (a) ve (b) Histolojik preparatlardaki kondrositlerin Nikon Optiphot (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) ışık mikroskobu ile "camera lucida" yöntemi kullanılarak, 200x büyütmede 0.01 mm <sup>2</sup> 'lik alanlarda aynı araştırmacı tarafından sayılması | 38 |
| <b>4.1.</b>  | Makroskopik hacim ile kondrosit sayısı arasındaki logaritmik korelasyon                                                                                                                                                                                  | 46 |
| <b>4.2.</b>  | Her üç boyut ile kondrosit sayısı arasındaki pozitif doğrusal Korelasyon                                                                                                                                                                                 | 47 |

## TABLolar

|                                                                                                                                                                                                                         | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>2.1.</b> Eklem kıkırdağının yapısal bileşenleri                                                                                                                                                                      | 6     |
| <b>2.2.</b> Eklem kıkırdağının tabakalarına ait özellikler                                                                                                                                                              | 11    |
| <b>2.3.</b> Lezyonların büyüklüğüne göre önerilen tedavi yöntemleri                                                                                                                                                     | 21    |
| <b>2.4.</b> Kıkırdak lezyonlarında günümüzde kullanılan tedavi yöntemleri                                                                                                                                               | 22    |
| <b>2.5.</b> Sinoviyal dokunun kıkırdak lezyonlarının tedavisindeki kullanım avantajları                                                                                                                                 | 28    |
| <b>2.6.</b> Mezenkimal kök hücrelerin kıkırdak hücrelerine dönüşümünü artıran faktörler                                                                                                                                 | 29    |
| <b>4.1.</b> Pre-op. kıkırdak örneklerine ait boyutlar (mm) ve yaklaşık hacimler (mm <sup>3</sup> ) ile ilgili ölçüm değerleri                                                                                           | 41    |
| <b>4.2.</b> Pre-op. kıkırdak örneklerine ait histolojik olarak kaydedilen kondrosit sayıları ile ilgili ölçüm değerleri                                                                                                 | 41    |
| <b>4.3.</b> 4 aylık izlem sonunda post-op. kıkırdak örneklerine ait boyutlar (b1, b2, b3 (mm)) ve yaklaşık hacimler (YH (mm <sup>3</sup> )) ile ilgili ölçüm Değerleri                                                  | 42    |
| <b>4.4.</b> Post-op. kıkırdak örneklerine ait histolojik olarak kaydedilen kondrosit sayıları ile ilgili ölçüm değerleri ("Camera lucida" kullanılarak 0.01 mm <sup>2</sup> 'lik sabit alanda, 200x büyütme ile sayım.) | 43    |

## 1. GİRİŞ

İçinde bulunduğumuz kemik ve eklem onyılında, eklem kıkırdak lezyonları ve osteoartrit vakaları hem sayıca artmakta, hem de insan hayatını olumsuz yönde etkileyen, majör birer kas ve iskelet sistemi sorunu olarak karşımıza çıkmaya devam etmektedirler. Bu onyıl, en yeni temel bilimsel araştırmalardan elde edilen bilgilerin, ortopedik uygulamalara entegrasyonunun yapılmasının, vücudumuzun kendi eklem sorunlarını sınırlı tamir edebilme kapasitesinin yol açtığı ağrı ve hareket kısıtlılığı dahil olmak üzere en güç klinik sorunları çözme potansiyeline sahip olduğu bir dönemdir (1).

Eklem kıkırdağının yapısı, fonksiyonu ve hastalıkları ile ilgili bilgiler ve sinoviyal eklemlerdeki kıkırdak hasarlarının tamir sorunu, ilk kez 1743 yılında, dönemin araştırmacı cerrahlarından William Hunter tarafından şu sözlerle vurgulanarak özetlenmiştir: “Hipokrat zamanından günümüze kadar standart Cerrahi Yazarlarının bilgilerini alacak olursak, şu sonucu buluruz; ülsere olmuş bir Kıkırdak, ileride mutlaka çok sorunlu bir hastalık oluşturacaktır... hasar gördüğü zaman, hiçbir zaman iyileşemez.” (2). Bundan sonra 1800’lü yıllarda yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda, kıkırdak yaralanmalarının iyileşmediği veya kısmen fibröz doku ile iyileştiği ve eklem kıkırdağının - kemik dokusundan farklı olarak- kendi orijinal dokusunu üretemediği gözlemlenmiştir (3, 4).

William Hunter’ın sözünden günümüze kadar geçen yaklaşık 270 yıl boyunca, ortopedistlerin eklem kıkırdak patolojilerinin tedavisine dair çabaları, devamlı, giderek artan şekilde sürmüştür ve halen devam etmektedir. Bu bağlamda doğal kıkırdak tamir sürecini geliştirmek için birçok ameliyatlara uygulanmıştır: hasarlanmış eklem kıkırdak yüzeylerinin içine veya arasına fasya, periost veya perikondriumun yerleştirilmesi, matkap ile delme, abrazyon, rezeksiyon ve mikrokirik uygulaması (5). Bu uygulamalar ve karşılaştırmaları ile ilgili erken dönemde yapılan az sayıdaki prospektif,

kontrollü, randomize çalışmanın sonuçları, William Hunter ve James Paget'in gözlemlerini doğrular mahiyette olmuştur.

Fakat son çeyrek yüzyılda, eklem kıkırdak biyolojisi, biyomekaniği ve lezyonlarının patofizyolojisi ile ilgili bilgilerimiz oldukça artmıştır. Hasar görmüş eklem yüzeyinin yeniden oluşturulmasına yönelik yöntemlerin oluşturulması için yapılan temel ve uygulamalı araştırmalar gelişmektedir. Bu konudaki araştırma alanları: yapay matriksler, büyüme faktörleri ve hücre transplantlarını içeren hücresel ve moleküler biyoloji, biyomekanik ve biyolojik maddelerin sinoviyal ekleme gönderilebildiği gen tedavilerini içermektedir (6-18).

Gelişmekte olan bu tedavi yöntemleri arasında doku mühendisliği sonucu üretilen otolog kondrosit transplantasyonu, kolay uygulanabilirliği, güvenliği ve etkinliği gösterilmiş bir yöntem olmuştur (14). Hasar görmüş eklem kıkırdak yüzeyinin yeniden oluşturulması ile ilgili bu tedavi yönteminde ve geliştirilmekte olan yapay matrikslerin ve kondrojenik büyüme faktörlerinin kullanıldığı yöntemlerde kıkırdak dokusunun geliştirilmesi için "in-vitro" ortam kullanılmaktadır (5, 13, 14). Doku mühendisliğinde, taşıdıkları immünolojik reaksiyon riski nedeniyle allojeneik kondrositlerin kullanımı kısıtlıdır (19, 20). Otolog kondrositlerin kullanımında bu risk olmamasına rağmen, donör saha morbiditesi, ikinci açık cerrahi gerekliliği ve büyük bir alandan alınması gerekliliği gibi önemli sorunları vardır.

Doku mühendisliği ile üretilcek kıkırdağın kaynağı olarak kondrositlerin yerine, mezenkimal kök hücrelerinin kullanımı da son yıllarda önerilmektedir (21, 22). Mezenkimal kök hücrelerin kemik iliği dahil birçok farklı dokuda bulunduğu bilinmekle birlikte, kondrogenetik özelliği en fazla olan dokunun sinoviyal doku olduğu ve kıkırdak üretimi çalışmaları için en önemli doku olduğu son yıllarda ortaya konulmuştur (23-25). Yapılan çalışmalarda, mezenkimal kök hücrenin kıkırdak hücrelerine farklılaşmasını sağlayan birçok farklı faktör ortaya konulmuştur. Fakat bu çalışmalar, in-vitro

kültür ortamlarında gerçekleştirilmiştir (24, 26-29). Kök hücrenin kıkırdak dokuya farklılaşmasında çevre dokunun da önemli olduğu vurgulanmıştır (30). Ancak biliniyor ki; “Bu farklılaşmanın kontrolü nasıl yapılıyor?” ve “Aşırı büyüme nasıl engelleniyor?” gibi sorular henüz kanıta dayalı bir şekilde cevaplanmamıştır.

Literatürde diz eklemine in-vivo ortam olarak; erişkin kemik iliğinden alınan mezenkimal kök hücrelerinin eklem içerisine yerleştirildiği ve diz eklem ortamının kondrojenesis üzerine etkisini inceleyen bir çalışma bulunmaktadır (31). Bu çalışmanın sonucunda da sinoviyal sıvı ve dokunun kondrojenetik farklılaşma için önemli olduğu görülmüştür. Bu dokunun kondrojenetik farklılaşma üzerine etkisi ile ilgili çalışmaların çoğu da in-vitro ortamlarda yapılmıştır (24, 32, 33).

İlk kez Bernstein tarafında tariflenen eklem farelerinin (34) Milgram tarafından histopatolojik sınıflandırması yapılmıştır (35). Bu eklem içi serbest cisimler “in-vivo” organ kültürleri olarak görülebilir (36). Ayrıca sinoviyal kondromatozis gibi eklem içi tümöral durumlarda kıkırdak dokuların sinoviyal bağ doku veya sinoviyal zar kökenli olduğu bilinmektedir (37). Bu bilgilerden faydalanılarak, artroskopik gözlemler sırasında da sıklıkla karşımıza çıkan serbest veya saplı kondroosteofitlerin varlığı ve bunların sinoviyal doku ile yakın bir ilişki göstermesi; sinoviyal dokunun bu kondral veya osteokondral yapılarının oluşumunda rolü olabileceği fikrini aklımıza getirmiş ve çalışmamızın temelini oluşturmuştur (121).

Literatürde, sinoviyal dokunun “in-vivo” kültür ortamı olarak canlının kendi eklem kıkırdağının büyümesi ve kondrosit sayısı üzerine etkisini inceleyen yayın bulunmamaktadır. Bu bağlamda, yapılan çalışma sinoviyal dokunun, canlının kendi kıkırdağının büyümesi ve kondrosit sayısı üzerine etkisini “in-vivo” kültür ortamı olarak inceleyen ilk çalışma özelliği taşımaktadır.

**“Canlının kendi vücudunda oluşturduğu kıkırdığı biz, yine canlının kıkırdak lezyonlarının tedavisinde in-vivo ortamda oluşturabilir miyiz?” sorusuna cevap bulmak amacıyla çalışmamızı gerçekleştirdik.**

Çalışmanın amaçları şunlardır:

**Amaç 1: Sinoviyal dokunun kondrosit proliferasyonu üzerine “in-vivo” kültür ortamı olarak rolünü ve etkilerini belirlemek.**

**Amaç 2: Yük taşıyan eklemlerde, osteoartrit klinik olarak ortaya çıkmadan önce ve dizilim bozukluğu olmaksızın kıkırdak lezyonlarının tedavisinde ucuz, biyolojik, artroskopik olarak uygulanabilecek, minimal invaziv yeni bir alternatif tedavi yönteminin olabileceği fikrini ortaya koymak.**

Çalışmanın hipotezleri şunlardır:

**Hipotez 1: Sinoviyal doku, vücudumuzda “in-vivo” ortamda kondrojenetik özelliğe en fazla sahip olan dokudur.**

**Hipotez 2: Kıkırdak lezyonlarının tedavisinde kullanılan sinoviyal dokuda in-vitro ortamda üretilen kıkırdak dokunun yerine, canlının kendi vücudunun sinoviyal dokusu içerisinde oluşturduğu kıkırdak dokunun kullanılması hem ucuz, hem de kolay uygulanabilecek bir biyolojik tedavi yöntemidir.**

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Eklem Kıkırdığı

Vücudumuzda üç çeşit kıkırdak bulunmaktadır:

1. Hiyalin kıkırdak
2. Elastik kıkırdak
3. Fibröz kıkırdak

Mezenkimal doku kökenli olan eklem kıkırdağının yapısında hiyalin kıkırdak bulunmaktadır (38). Hiyalin kıkırdak, vücudumuzdaki diartrodial eklemlerdeki yük dağılımını ve basınç kontrolünü sağlayarak, sürtünmeyi azaltan dayanıklı bir mikromimariye sahiptir. Diz eklemine sağlıklı fonksiyon görmesi için, eklem kıkırdağının varlığı ve canlılığı gereklidir. Yoksa osteoartrit kaçınılmaz sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır (39).

Hayatımız boyunca sürekli olarak mekanik streslere maruz kalırız ki; bunlar, kıkırdak dokusunun sağlıklı kalması için gerekli uyarılardır (40). Yük taşımayan kıkırdak inceler ve yumuşar. Yük taşıyan eklem yüzey alanlarındaki kıkırdak dokusu, daha kalın ve mekanik olarak daha güçlüdür. Kıkırdak dokusu, farklı yüklenme şekillerine göre, metabolik değişikliklerle uygun cevabı vererek, bu kuvvetlere karşı direnç gösterme yetisine sahip olmalıdır. Osteoartritte olduğu gibi, dokunun bunu yapmakta başarılı olamaması dokunun yapısının bozulması ile sonuçlanmaktadır (41).

#### 2.1.1. Eklem Kıkırdağının Yapısal Bileşenleri ve Görevleri

Eklem kıkırdağı, kondrositler, su ve hücre dışı matriks yapısal bileşenlerinden oluşan, vücudumuzun oldukça farklılaşmış ve özelleşmiş, viskoelastik bir dokusudur (42) (Tablo 2.1.).

**Sinir dokusu, damar ve lenfatik içermeyen bir yapıya sahiptir.**

Kondrositlerin beslenmesi, difüzyon yoluyla kıkırdak matriks aracılığı ile olmaktadır. Vücutta bulunan diğer dokulara göre osmotik basıncının yüksek olması, hyalin kıkırdağa yapısında en fazla bulunan suyu tutma özelliği kazandırmaktadır (41).

**Tablo 2.1. Eklem kıkırdağının yapısal bileşenleri.**

|                                              | Yüzde (%) |
|----------------------------------------------|-----------|
| Kondrositler                                 | 5         |
| Hücre dışı matriks                           |           |
| • Su                                         | 65-80     |
| • Kollajen                                   | 10-20     |
| • Proteoglikanlar                            | 10-15     |
| • Diğer bileşenler<br>(Adhesivler ve yağlar) | <5        |

**Kondrositler:** Eklem kıkırdağının temel yapısal hücreleridirler. Kan damarları olmadığı için, düşük oksijen tansiyonu altında enerjisini -sinoviyal sıvıdan hücre dışı matrikse difüzyon yolu ile gelen glukozu kullanarak- anaerobik glikoliz ile sağlarlar.

Mezenkimal kök hücrelerin doğrudan farklılaşması sonucunda kondroblastlar oluşur. Matriks sentezi ve depolanması, kondroblastların birbirinden ayrılmasına neden olur. Daha yüzeysel yerleşimli olan hücreler tipik kondroblastlar olarak kalırken, kalsifiye kıkırdak tabakasına doğru farklılaşarak, laküna adı verilen matriks içerisindeki daha derin tabakalarda bulunan hücreler olan kondrositleri oluştururlar.

Olgun kondrositler, hücre dışı matriks ile devamlı ve yoğun bir kimyasal iletişim içerisindeyler. İçerdikleri düz endoplazmik retikulum ve iyi gelişmiş Golgi kompleksi ile tip II kollajen, proteoglikanlar, hyalüronik asit,

kondronektin ve kıkırdak yıkım enzimleri (metaloproteinazlar) ile yıkım önleyici enzimlerin (metaloproteinaz doku inhibitörü) sentezini yaparlar. Kondrositler yaşlandıkça, hücresel üretim aktiviteleri azalır. Hücre dışı matrikste bulunan protein makromoleküler kompleksinin sentezi ve yıkımı arasındaki dengeyi sağlamada önemli bir role sahiptirler. Bu süreç birçok faktör tarafından etkilenmektedir: matriks bileşenleri, mekanik yüklenme, hormonlar, lokal büyüme faktörleri, sitokinler, yaşlanma ve kıkırdak hasarlanması (43). Bu denge osteoartrit gibi durumlarda kaybolur. Bu etkileşimin kompleks olması da, eklem kıkırdak dokusunun in-vitro ortamda üretimini zor kılmaktadır.

### **Hücre Dışı Matriks İçeriği:**

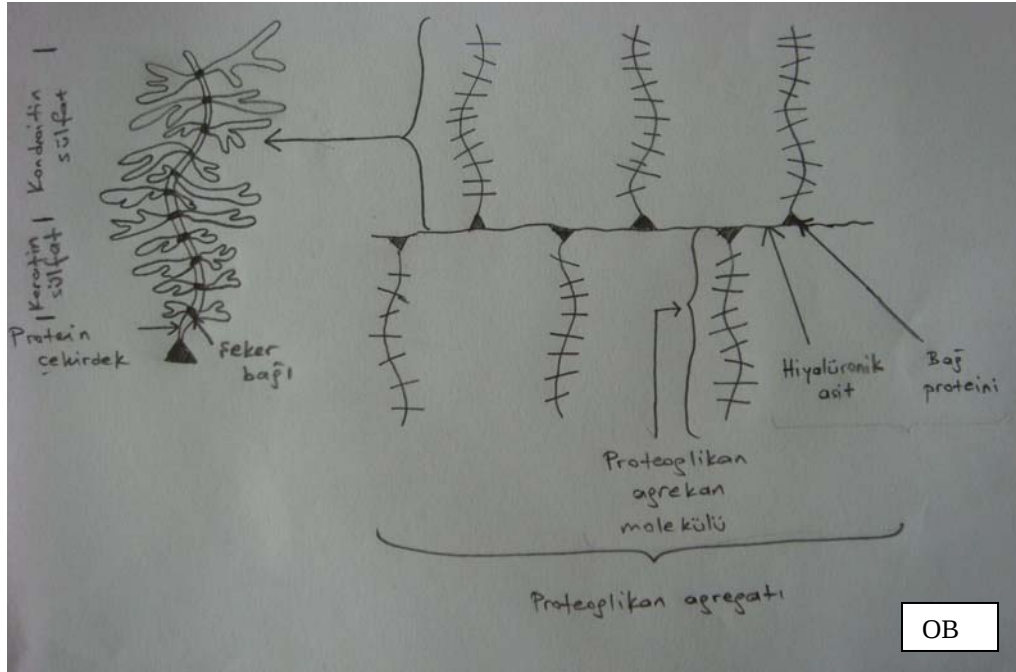
**Su:** Eklem kıkırdağının ağırlığının % 65-80'ini oluşturur. Bu yüzde, yüzeysel tabakada % 80 iken, derin tabakada % 65'e kadar düşmektedir. Osteoartritte bu yüzde % 90'lara kadar çıkarken, doğal yaşlanma sürecinde ise su miktarının azaldığı görülmektedir. Kıkırdağa uygulanan stres durumlarında matriksten çıkıp veya matrikse girerek kıkırdak yüzeyinin şeklinin değişmesine neden olur. Kıkırdak dokunun beslenmesi ve kayganlığı açısından da önemlidir.

**Kollajen:** Kıkırdak dokusunun % 10-20'sini oluşturmaktadır. Hiyalin kıkırdağın yapısında en fazla tip II kollajen bulunmaktadır. Tip II kollajen toplam kollajen miktarının % 90-95'ini oluşturur ve çok fazla miktarda çapraz bağ oluşturan, birbirine sıkı bir şekilde bağlı bir ağ meydana getirir. Bu sayede kıkırdak dokusu gerilme kuvvetlerine karşı direnç kazanır. Tip II kollajenin yarı ömrü yaklaşık 25 yıl olduğundan dolayı çok stabil bir yapıdır. Fakat osteoartrit gibi kıkırdak hastalığı durumlarında yıkım süreci belirgin bir şekilde artar ve hücre dışı matrikste hızlı bir mekanik yıkım ve yapısal bozulma gerçekleşir. Kollajenaz enzimleri bu süreçte önemli rol oynamaktadır.

Eklem kıkırdak matriksinde az miktarda bulunan diğer kollajen tipleri şunlardır: Tip V, VI, IX, X ve XI. Bu minör kollajen tiplerinden en fazla miktarda bulunanları tip IX ve XI'dir. Tip IX kollajen, tip II kollajen ile çapraz bağ yapar ve hücre dışı matrikste bulunan proteoglikanlar ile entegre olur. Tip XI kollajenin asıl görevi ise tip II kollajenin fibril çapını düzenlemek ve kollajen örgünün bir arada tutulmasını sağlamaktır. Enkondral kemikleşme sırasında sadece hipertrofik kondrositler tarafından üretilen tip X kollajen, kıkırdağın kalsifikasyonu ile ilişkilidir. Diğer bir minör kollajen olan Tip VI miktarı ise osteoartrit erken dönemlerinde belirgin olarak artmaktadır.

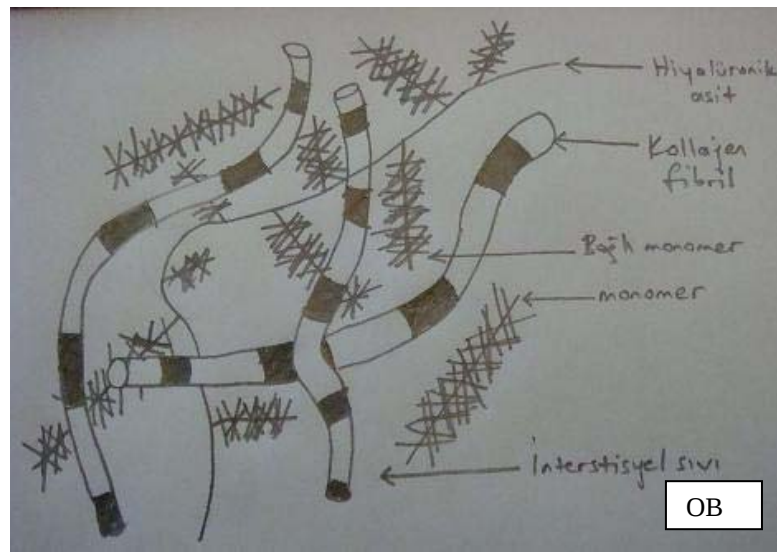
**Proteoglikanlar:** Yapısal olarak protein polisakkaritlerdir. Kıkırdağın kompresif gücünü sağlarlar. Glikozaminoglikan alt ünitelerinden oluşurlar. 2 çeşit glikozaminoglikan vardır: kondroitin sülfat ve keratin sülfat. Kondroitin sülfat, eklem kıkırdağında en fazla oranda bulunan glikozaminoglikandır. Glikozaminoglikanlar merkez bir protein çekirdeğe şeker bağları ile bağlanırlar ve bu yapı "proteoglikan agrekan" molekülü adını alır ve bu yapı hyalin kıkırdağı için karakteristiktir. Bu agrekan molekülleri, uzun bir polisakkarit olan hyalüronik asit zincirine link proteinleri adı verilen küçük glikoproteinler ile bağlanırlar ve bu yapı da "proteoglikan agregatı" adını alır (Şekil 2.1. ve Şekil 2.2.). Proteoglikanlar 3 aylık bir yarı ömre sahiptir ve eklem kıkırdağının yapısal özelliklerini sağlarlar. Proteoglikanlar kıkırdağın su tutulumundan sorumludurlar ve bu özellikleri ile kıkırdağa kompresif kuvvetlere karşı direnç kazandırır.

**Diğer Matriks Bileşenleri:** Kollajen olmayan proteinler olarak bilinen adheziv molekülleri arasında, fibronektin, kondronektin ve ankorin sayılabilir. Bunlar kondrositler ile kollajen fibriller arasındaki etkileşimden sorumludurlar. Yağların görevleri ise henüz tanımlanmamıştır.



OB

**Şekil 2.1.** Proteoglikan agrekan ve agregatının yapısı.

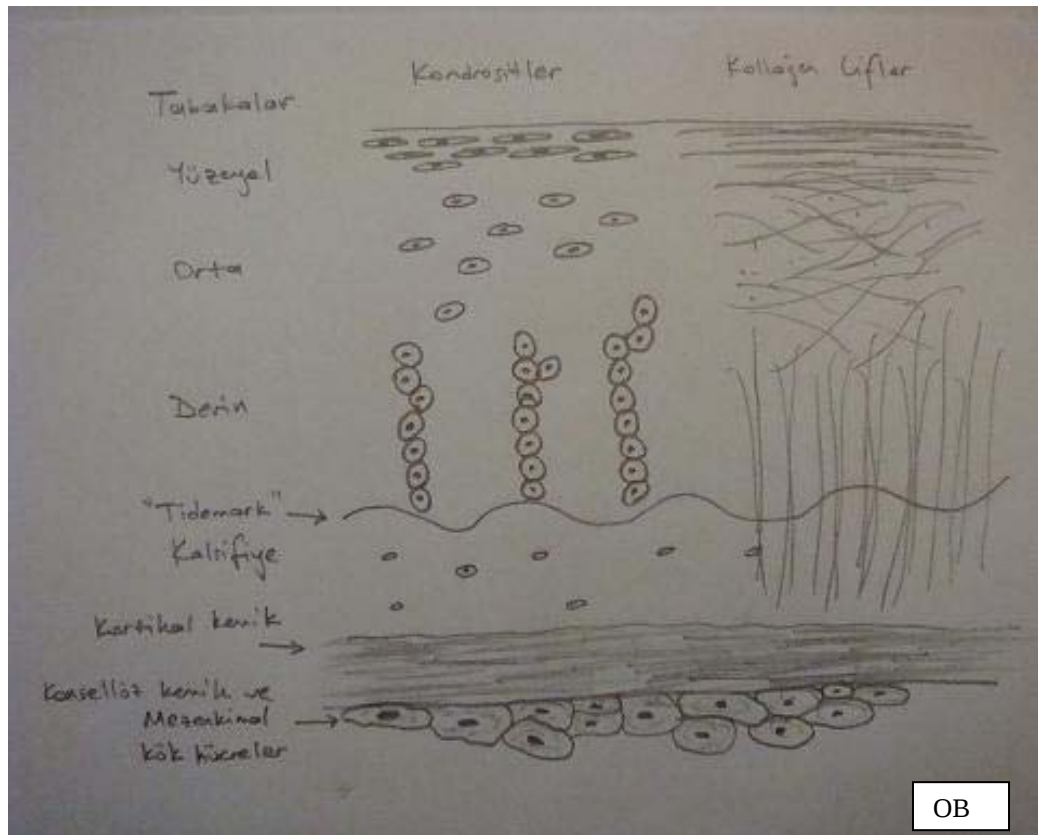


OB

**Şekil 2.2.** Proteoglikan ile kollajen fibril bağlantılarının yapısal görünümü.

### 2.1.2. Eklem Kıkırdağının Yapısal Anatomisi ve Büyüme Özelliği

Eklem kıkırdağı, kollajen liflerinin ve kondrositlerin dizilimi açısından özel bir temel yapısal anatomiye sahiptir (Şekil 2.1.). Hücrel morfoloji, biyomekanik bileşim ve yapısal özellikler bakımlarından birbirinden farklı olan dört tabakadan oluşmaktadır: Yüzeyel, orta, derin ve kalsifiye (44). Derin tabaka ile kalsifiye tabaka arasında "tidemark" adı verilen bir geçiş bariyeri bulunmaktadır.



**Şekil 2.3.** Eklem kıkırdağının temel yapısal anatomisi.

Eklem kıkırdağına ait bu tabakaların farklı özellikleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 2.2.).

**Tablo 2.2. Eklem kıkırdağının tabakalarına ait özellikler (42)**

| <b>Tabaka</b>           | <b>Kalınlık<br/>(<math>\mu\text{m}</math>)</b> | <b>Özellik</b>                | <b>Kollajen<br/>dizilimi</b> | <b>Fonksiyon<br/>(Koruma)</b> |
|-------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| <b>Yüzeyel</b>          | 40                                             | ↓ Metabolik<br>aktivite       | Horizontal                   | Gerilmeye<br>karşı            |
| <b>Orta<br/>(Geçiş)</b> | 500                                            | ↑ Metabolik<br>aktivite       | Oblik                        | Kompresyona<br>karşı          |
| <b>Derin</b>            | 1000                                           | ↑ Kollajen boyutu             | Vertikal                     | Kompresyona<br>karşı          |
| <b>“Tidemark”</b>       | 5                                              | Bariyer                       | Horizontal                   | Gerilmeye<br>karşı            |
| <b>Kalsifiye</b>        | 300                                            | Hidroksiapatit<br>kristalleri | -                            | Ankor                         |

Eklem yüzeyinden kemiğe doğru yaklaştıkça hem kondrositlerin, hem de kollajen lifleri ile hücre dışı matrikste yapısal değişiklikler olmaktadır. Kondrositler, eklem yüzeyine paralel iken vertikal hale geçerken, sayıları artar. Kondrositlerin çevresindeki matriksin hacmi, tutulan su miktarı ve biyolojik aktivitesi artar. Kollajen lifleri de paralel iken vertikal dizilim gösterirler. “Tidemark” da tekrar paralel hale geçerler ve sayıları azalır. Orta tabakadaki hücreler tip II kollajen ve agrekan üretirken, derin tabakadaki hücreler tip X kollajen ve alkalin fosfataz üretirler (45).

**Eklem kıkırdağı 2 şekilde büyüme özelliği göstermektedir (47):**

- 1. Apozisyonel büyüme:** Kondroblastlar önceden oluşmuş kıkırdak yüzeyine matriks sentezleyerek, kıkırdağın genişleyerek, yüzeyinin büyümesini sağlarlar.
- 2. İntertisyel büyüme:** Kondrositler bölünürken, lakünanın içinden matriks sentezlerler. Bu şekilde kıkırdak dokunun hacimsel büyümesi gerçekleşmiş olur.

## **2.2. Sinoviyal Doku**

Sinoviyal doku diz ekleminde kan ve eklem sıvısı arasındaki madde değişiminden sorumludur. Son yıllarda kondrojenetik özelliği en fazla olan doku olduğunun da anlaşılmasından sonra kırıldak lezyonlarının tedavisindeki klinik önemi giderek artmıştır (23, 46).

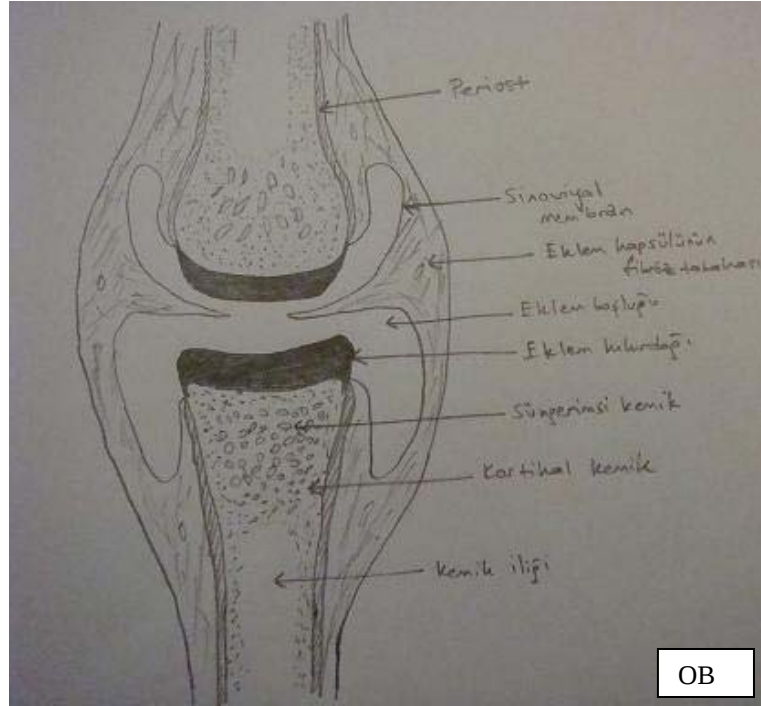
### **2.2.1. Sinoviyal Dokunun Yapısal Anatomisi ve Histomorfolojisi**

Sinoviyal doku diz ekleminde kapsülün iç tabakasını oluşturur (Şekil 2.4.). Arteriyel, venöz ve lenfatik dolaşımı mevcuttur. Sinoviyal eklem sıvısının salgılanmasından sorumludur. Vasküler salgılayıcı gevşek bir bağ dokusuna sahiptir (Şekil 2.5.). Eklem ile ilişkili olduğu için gerçek anlamda bir zara sahip değildir (48).

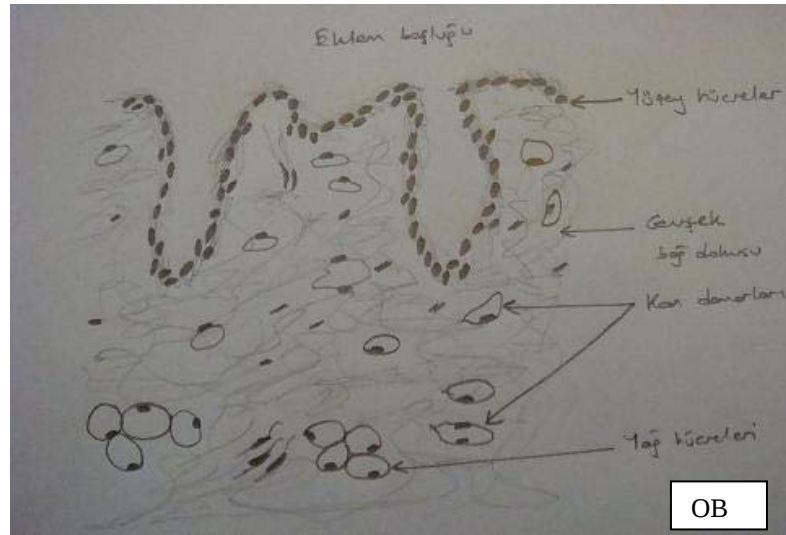
**Üç tip sinoviyal hücre bulunmaktadır (Şekil 2.6.):**

- **Tip A: Fagositozdan sorumludurlar.**
- **Tip B (Fibroblast-benzeri hücreler): Eklem sinoviyal sıvısının salgılanmasından sorumludurlar.**
- **Tip C (Geçiş hücre tipi): Henüz fonksiyonları tanımlanmamıştır.**

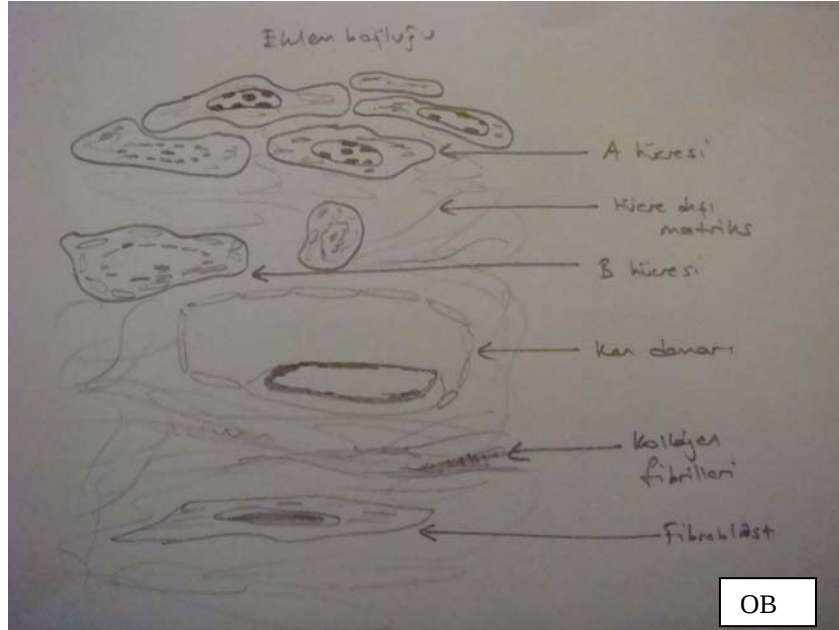
Ayrıca yapısında yağ hücrelerini ve kondrojenetik özelliği de içinde barındıran multipotent mezenkimal kök hücrelerini de bulundurmaktadır.



**Şekil 2.4.** Sinoviyal membranın ve fibröz tabakanın eklem kapsülüne ait iki parça olduğu görülmekte. Sinoviyal membran, kıkırdak alanlar dışında eklem boşluğunun iç yüzeyini oluşturmaktadır.



**Şekil 2.5.** Sinoviyal dokunun histolojik yapısı. Yüzey hücreleri epitelioid düzende eklem yüzeyini oluşturmaktadır. Kan damarlarınınca zengindir ve gevşek bir bağ dokuya sahiptir.



**Şekil 2.6.** Sinoviyal dokunun içerdiği hücreler ve yapısal görünümü.

### 2.2.2. Sinoviyal Dokunun Fonksiyonları ve Kondrojenetik Özelliği

Sinoviyal dokunun asıl görevi, sinoviyal sıvının üretiminin sağlanmasıdır. Bunu sinoviyal hücrelerden tip B hücreler gerçekleştirirler. Sinoviyal sıvının içerisinde; lubrisin, proteinaz, kollajenazlar ve prostaglandinler bulunmaktadır. Herhangi bir kırmızı kan hücresi veya pıhtılaşma faktörü bulunmamaktadır. Eklem kıkırdağının kayganlaştırılmasından ve kıkırdağa difüzyon yoluyla besin taşınmasından sorumludur. Enflamasyon durumlarında lenfosit birikimi ve intimal kalınlaşma meydana gelir.

Mezenkimal kök hücrelerin sahip oldukları multipotent olma ve kendilerini yenileme özellikleri, klinikte tedavi amaçlı kullanımları hakkında büyük bir ilgi uyandırmıştır (49).

**Sinoviyal hücrelerin mezenkimal kök hücreler kadar kondrogenetik özelliğe sahip olduğu saptanmıştır (46, 50). Son yıllarda sinoviyal dokunun yapısında mezenkimal kök hücre içerdiği gösterilmiştir (46). Ayrıca hem proliferasyon yeteneği, hem de kondrogenetik özelliği en fazla olan dokunun da sinoviyal doku kaynaklı kök hücreler olduğu saptanmıştır (23).**

### **2.3. Eklem Kıkırdak Lezyonları**

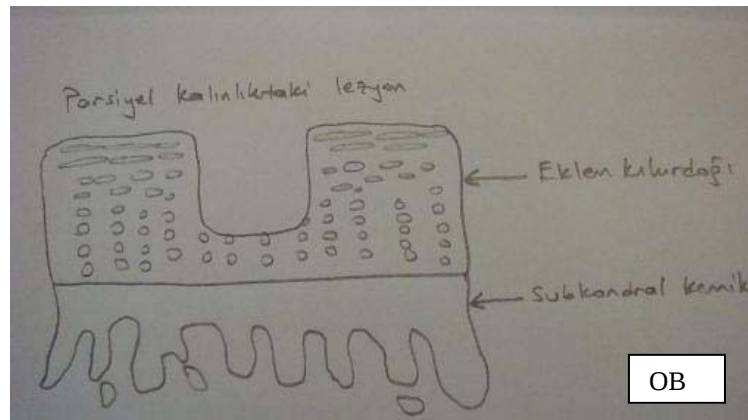
Diz eklemine kıkırdak lezyonlarının, hem görüntüleme yöntemlerinde (51, 52), hem de yapılan artroskopiler sırasında sık olarak karşımıza çıktığı görülmektedir (53). Bu lezyonların tedavisinde kullanılan birçok farklı teknik ortaya konulmasına rağmen, hangi lezyonların tedavi gerektirdiği ve belli bir lezyon için standardize uygun tek bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır.

#### **2.3.1. Eklem Kıkırdak Lezyonlarının Sınıflandırılması**

Eklem kıkırdak lezyonları, literatürde lezyonun şekline veya derinliğine göre farklı şekillerde sınıflandırılmıştır. İlk defa “Outerbridge” tarafından 4 evre halinde makroskopik olarak sınıflandırılmıştır (54). Daha sonra bu sınıflandırma Maldelbaum tarafından etkilenen kıkırdağın kalınlığı da değerlendirmeye alınarak modifiye edilmiştir; lezyonun kıkırdak kalınlığının % 50’sinden az olması evre II, % 50’sinden fazla olması evre III olarak (55). Bir diğeri, Bauer ve Jackson tarafından lezyonun şekline göre artroskopik olarak yapılan sınıflandırma olmuştur (56). Kıkırdak lezyonları ile ilgili yapılmış en son sınıflandırma, travmanın hangi katmana ulaştığına göre yapılan ICRS tarafından yapılmış (57) ve lezyonun derinliğine göre bir modifikasyonu da (modifiye ICRS) eklenmiştir; evre I iki alt gruba, evre III dört alt gruba ayrılmıştır. (58).

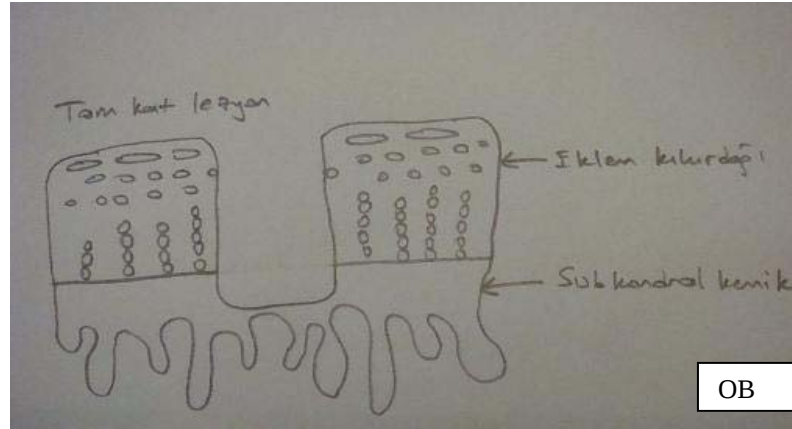
Eklem kıkırdak lezyonları, tedavilerine ve prognozuna yönelik olarak özetle; parsiyel kalınlıktaki (Şekil 2.7.) ve tam kat lezyonlar (Şekil 2.8.) olarak ikiye ayrılabilirler (43, 61):

**1. Parsiyel kalınlıktaki lezyonlar:** Basit hasar, künt travma veya kondral kırığa bağlı olarak subkondral kemiği ilgilendirmeyen lezyonlardır. Lezyon ve progenitör kemik iliği hücreleri arasında subkondral kemik bariyeri olduğu için kendiliğinden iyileşme beklenmez (58, 59, 60).



**Şekil 2.7.** Parsiyel kalınlıktaki kıkırdak lezyonu. Subkondral kemik etkilenmemiştir.

**2. Tam kat lezyonlar:** Subkondral kemiğin de etkilendiği bu lezyonlarda Kemik iliğindeki progenitör hücreler ve sitokinler lezyona ulaşırlar. Hematom ve fibrin oluşumu sonrasında hyalin dokuya benzer bir iyileşme dokusu oluşur. Henüz mekanizması tam olarak anlaşılamamış olsa da, mezenkimal kök hücrelerin kondrositlere dönüşümü gerçekleşir. Bu şekilde kendiliğinden iyileşme olur. Fakat bu hyalin doku bir yılın sonunda fibröz kıkırdağa dönüşür ve tekrar dejeneratif değişiklikler başlar. Dolayısıyla tam kat lezyonlarda kendiliğinden iyileşme görülürken, orijinal doku ile iyileşme olmaz (43).



**Şekil 2.8.** Tam kat osteokondral lezyon. Subkondral kemik de etkilenmiştir.

### 2.3.2. Eklem Kıkırdağının Tamir Kapasitesi

William Hunter'ın eklem kıkırdağının tamir kapasitesinin olmadığı konusundaki sözünden bu yana geçen yaklaşık 270 yıl boyunca, orijinali ile aynı biyolojik ve biyomekanik özelliklere sahip hiyalin kıkırdak ile iyileşmenin sağlandığı ve sürdürülebildiği standart bir tedavi yöntemi bulunamamıştır.

Eklem kıkırdağının avasküler olması, kondrositlerin immobilitesi ve proliferasyon yeteneklerinin kısıtlı olması, yaş ilerledikçe telomeraz uzunluğundaki azalışa bağlı kondrosit apoptozunun meydana gelmesi ve kıkırdak lezyonunun orijinal hiyalin kıkırdak ile doldurulması, bu dokunun entegrasyonu ve korunmasındaki sorunlar gibi nedenlerden dolayı, erişkin çağdaki eklem kıkırdağının tamir kapasitesi embriyonik dönemdekinden farklı olarak kısıtlıdır (63-66).

### 2.3.3. Eklem Kıkırdak Lezyonlarının Kliniği ve Tanısı

Eklem kıkırdak lezyonlarının, klinikte hem artroskopik gözlemler sırasında hem de görüntüleme yöntemleri ile sık olarak karşımıza çıktığı bilinmektedir (53, 67). Etiyolojisinde genetik, metabolik, vasküler ve mekanik nedenler de yer alsa da; gençlerde ve atletik hastalarda neden sıklıkla travma iken, ileri yaştaki hastalarda dejeneratif hastalıklar ön plana çıkmaktadır.

Nedeni ne olursa olsun, eklem kıkırdak lezyonlarının uzun dönem prognozu ile ilgili iki önemli faktör vardır: 1. Lezyonun büyüklüğü ve derinliği, 2. Lezyonun yeri. Diğer minör faktörler arasında; hastanın yaşı, beklentisi aktivite düzeyi, obezite, eklem içi diğer patolojilerin varlığı ve ekstremitte dizilim bozukluğu bulunmaktadır (43).

Eğer eklem kıkırdak lezyonları tedavi edilmezler ise, osteoartrit sürecine doğru ilerlerler ve tedavileri daha zor hale gelir. Bu lezyonların çoğu semptom vermez ve insidental olarak saptanırlar (68, 69). Semptomlar çoğunlukla geç dönemde ortaya çıktığı için, tedavilerine kadar bir süre geçer. Bu süre, bir ay ile on yıllar arasında değişmektedir (70, 71). Kıkırdak lezyonunun ortaya çıkış zamanı ile tedavinin uygulanması arasında geçen süre ne kadar uzun olursa, eklem homeostazı olumsuz etkileneceğinden dolayı tedavinin sonucu o kadar kötü olacaktır (72).

Eklem kıkırdak lezyonları eğer semptomatik ise, bunlar arasında: ağrı, efüzyon, hareket kısıtlılıkları ve mekanik semptomlar yer alabilir. Bu semptomların değerlendirilmesinden sonra hastada diğer eklem içi patolojilerin, instabilitenin ve dizilim bozukluğunun varlığına yönelik detaylı fizik muayenesi yapılmalıdır.

Detaylı hikaye ve fizik muayene incelemesinden sonra, kıkırdak lezyonlarının varlığına dair şüphe varsa, radyografi ve manyetik rezonans

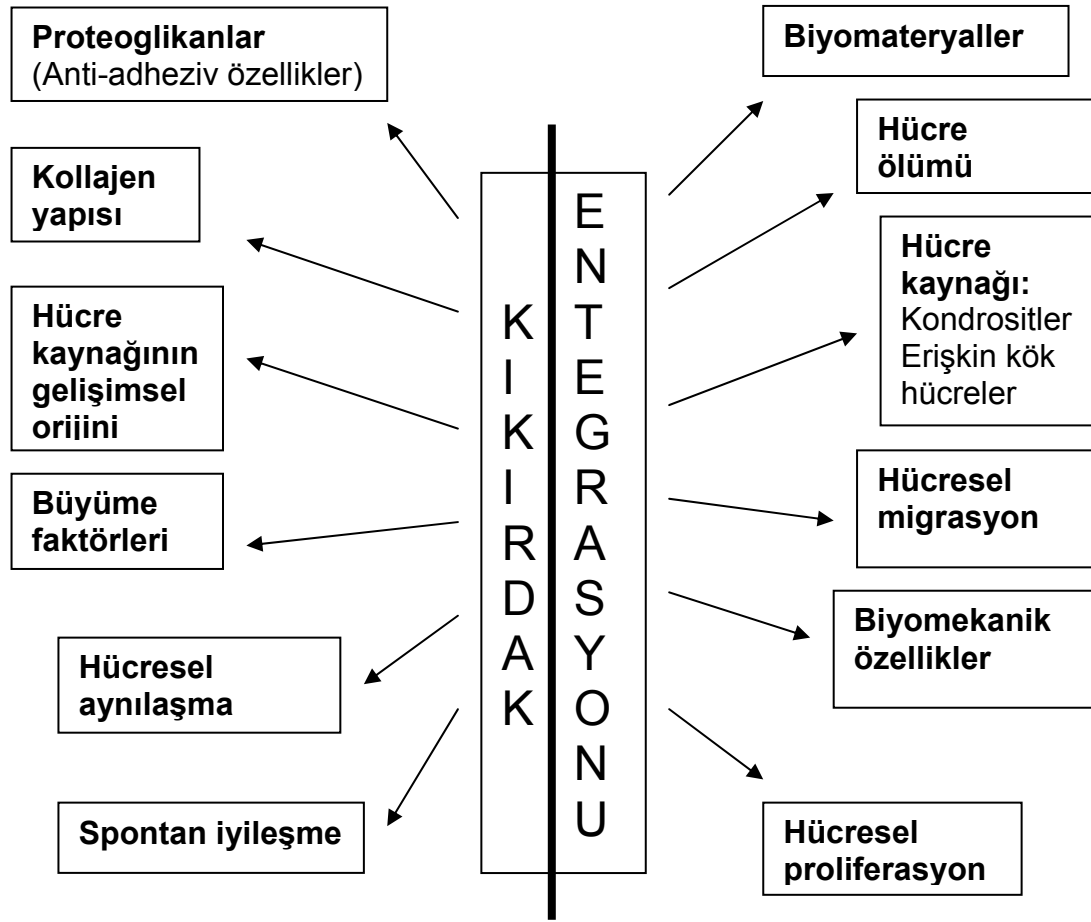
görüntüleme tetkikleri kullanılır. Kıkırdağa özel teknikler ile duyarlılığı % 95'in üzerinde olan manyetik rezonans görüntüleme tanıda önemli bir yer taşır (73). Son yıllarda, yeni bir teknik olarak "kızılötesi optik biyopsi" olarak da tanımlanabilen optik koherans tomografinin tanıda kullanımı da gündeme gelmiştir (74).

Fakat kıkırdak lezyonlarının eklem içinden tanısal görüntülenmesinde ve tedavi uygulamalarında altın standart olarak kabul edilebilecek yöntem günümüzde atroskopik görüntüleme ve uygulamadır. Tabiidir ki; MRG ile önceden kıkırdak altı tabakaların sınıflandırılması doğru olacaktır (217-220).

#### **2.3.4. Kıkırdağın Orijinal Dokuya Entegrasyonu**

Eklem kıkırdak lezyonlarının tedavisinde geliştirilen en yeni tedavi yöntemlerinde bile, yerleştirilecek olan kıkırdak dokunun orijinal kıkırdak alıcı sahasına entegrasyonu sorun olabilmekte ve tedavinin sonunda kötü bir klinik sonuca ve prognoza neden olabilmektedir.

Kıkırdağın alıcı dokuya entegrasyonu iki şekilde olmaktadır: vertikal ve lateral (75). Vertikal entegrasyon, yerleştirilecek dokunun altı ile alıcı sahanın üzerindeki yüzeyler arasında, lateral entegrasyon ise her iki dokunun kenar yüzeyleri arasında gerçekleşir. Genellikle vertikal entegrasyon süreci sorunsuz gerçekleşirken, kıkırdak lezyonlarının tedavisinde özellikle lateral entegrasyon kronik bir sorun olmaktadır (66). Bu entegrasyon süreci multifaktöryeldir (Şekil 2.9.).



**Şekil 2.9.** Kıkırdak tamirinin lateral entegrasyonunu doğrudan veya dolaylı olarak etkilediği bilinen faktörler (75).

### 2.3.5. Eklem Kıkırdak Lezyonlarının Tedavi Yöntemleri

Eklem kıkırdak lezyonlarının tanısı konulduktan sonra erken dönemde tedavisi; eklem fonksiyonlarının korunması, hastanın ağrısının giderilmesi ve erken osteoartrit gelişiminin önlenmesi açısından oldukça önemlidir (76). Şu ana kadar hastanın yaşı, lezyonun büyüklüğü gibi parametrelere göre çeşitli öneriler ve algoritmalar ortaya konmuştur (Tablo 2.3. ve 2.4.).

Uygulanacak yöntem ne olursa olsun, şu anki kabul edilmiş genel görüş, eklem kıkırdak lezyonlarının tamirinin hyalin kıkırdak ile yapılması gerektiği yönündedir (45). Hyalin kıkırdak ile iyileşme amacına en yakın sonuçlar, osteokondral otogreft transferi (78, 79, 80), otolog kondrosit

implantasyonu (14) ve doku mühendisliği ile üretilen kırıkda benzeri dokunun transplantasyonu (62) yöntemleri ile alınmaya yaklaşılmıştır, fakat henüz bu amaca tam olarak ulaşılammıştır. Bu yüzden farklı hücre kaynakları, bunları lezyona gönderme taşıyıcıları, büyüme faktörlerinin eklenmesi ve genetik değişiklikler yapılması gibi yeni yöntemler geliştirmeye çalışan araştırmalar devam etmektedir.

| <b>Tablo 2.3. Lezyonun büyüklüğüne göre önerilen tedavi yöntemleri (77)</b> |                                                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Lezyonun büyüklüğü</b>                                                   | <b>Tedavi Yöntemi</b>                                                              |
| ≤1cm                                                                        | Gözlem<br>Abrazyon kondroplastisi<br>Mikrokırık<br>Osteokondral otogreft transferi |
| 1cm-2cm                                                                     | Abrazyon kondroplastisi<br>Mikrokırık<br>Osteokondral otogreft transferi           |
| 2cm-3.5cm                                                                   | Taze osteokondral allogreft<br>Otolog kondrosit implantasyonu                      |
| 3.5cm-10cm                                                                  | Otolog kondrosit implantasyonu                                                     |
| Çoklu lezyonlar(2 veya 3)                                                   | Otolog kondrosit implantasyonu                                                     |

**Tablo 2.4. Kıkırdak lezyonlarında günümüzde kullanılan tedavi yöntemleri (77)**

| <b>Tedavi Yöntemi</b>          | <b>Endikasyonlar</b>                                                     | <b>Sonuç</b>      |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Artroskopik debridman ve lavaj | Minimal semptomlar                                                       | Palyatif          |
| Kemik iliği uyarma teknikleri  | Küçük lezyonlar, düşük beklentili hastalar                               | Reparatif         |
| Osteokondral otogreft          | Küçük lezyonlar, düşük / yüksek beklentili hastalar                      | Restoratif        |
| Osteokondral allogreft         | Kemik kaybı olan fazla lezyonlar, düşük / yüksek beklentili hastalar     | Restoratif        |
| Otolog kondrosit implantasyonu | Yüksek beklentili hastalar, lezyon büyüklüğü ve kemik kaybından bağımsız | Restoratif        |
| <i>Genetik mühendislik</i>     | <i>Deneysel</i>                                                          | <i>Restoratif</i> |

Genel olarak kıkırdak lezyonlarının tedavisinde konservatif, cerrahi ve gelişmekte olan yeni yöntemler bulunmaktadır.

#### **2.3.5.1. Konservatif Yöntemler**

Eklem kıkırdak lezyonlarının cerrahi olmayan konservatif tedavi yöntemleri sadece semptomları azaltmayı amaçlar. Bu tedavi yöntemleri arasında: diz çevresi kasları güçlendirmeye yönelik fizik tedavi, postür egzersizleri, uygun ortezler, elektrik stimülasyonu, eklem içine uygulanan kortikosteroidler, viskosüplemantasyon ürünleri ve oral olarak alınan kondroprotektif besinler, ilaçlar ve devamlı pasif hareket (cpm) sayılabilir (9, 81-87, 208). Fakat bu yöntemlerinin çoğunun eklem kıkırdağını yapısal olarak iyileştirdiğine dair güçlü kanıtlar bulunmamaktadır (44).

### 2.3.5.2. Cerrahi Yöntemler

Diz ekleminin kıkırdak lezyonlarının cerrahi tedavisinde günümüzde kullanılan birçok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler amaçlarına göre, O'Driscoll tarafından ingilizce olarak tariflenen 4R kavramı ile özetlenebilir (63):

1. **“Restoration” - Restorasyon:** Eklem yüzeyinin iyileşmesi ve yeniden oluşturulmasını amaçlar.
2. **“Replacement” - Replasman:** Otogreft, allogreft veya protez ile eklem yüzeyinin değiştirilmesini amaçlar.
3. **“Relief” - Ağrının giderilmesi:** Cerrahi olmayan yöntemler veya dizilim bozukluğu var ise osteotomi ile eklem üzerindeki streslerin azaltılmasını amaçlar.
4. **“Resection” - Rezeksiyon:** İnterpozisyon artroplastisi yapılarak veya yapılmayarak hasarlı eklemin çıkartılmasını amaçlar.

Eğer bu dört amaca yönelik tedavi yöntemleri ile tedavi edilemiyorsa son seçenek **artrodezdır**.

Cerrahi tedaviler açık veya artroskopik olarak yapılabilir. Artroskopik tedavi hem etkili hem de çok popüler olmuş yöntemdir. Artroskopi ile lavaj, kondral traşlama, debridman, mikrokırık, abrazyon ve kondroplasti gibi tedavi seçenekleri, uygun endikasyonlu hastalarda başarıyla uygulanmaktadır (88).

Cerrahi tedavi yöntemleri klasik uygulamalardan, yeni ve araştırılmakta olan yöntemlere doğru aşağıdaki gibi özetlenebilir (45, 63):

### 1. Konvansiyonel Yöntemler:

- a. Eklem artroskopik yıkanması ve debridmanı
- b. Kemik iliği uyarma teknikleri
- c. Osteokondral transplantasyon
  - i. Otolog (Mozayikplasti)
  - ii. Allograft
- d. Periosteal ve perikondriyal artroplasti

### 2. Hücre Transplantasyonu:

- a. Farklılaşmış kondrosit transplantasyonu
  - i. Allojeneik
  - ii. Otolog
- b. Progenitör mezenkimal kök hücre transplantasyonu

### 1. Konvansiyonel Yöntemler:

**a. Eklem artroskopik yıkanması ve debridmanı:** Bu iki işlem sıklıkla eklem içi mekanik temizlik ve ağrı semptomlarını azaltmakta faydalıdır (89, 90, 211). Doral ve arkadaşlarının çalışmaları sonucunda; dejenere eklem diklofenak ve kolşisin ile yıkanmasının kırık proliferasyonunda anlamlı artış sağladığı saptanmıştır (205-207).

**b. Kemik iliği uyarma teknikleri:** Subkondral kemiğin geçildikten sonra, kemik iliğindeki kök hücrelerin ve sitokinlerin lezyona ulaştırılmasıyla iyileşmenin sağlanmasını amaçlar. Bu teknikler arasında; mikrodilleme, abrazyon artroplastisi ve mikrokırık vardır. En sık ve halen kullanılan yöntem, Steadman tarafından tariflenen mikrokırık tekniğidir (91).

**c. Osteokondral transplantasyon:** Eklem yüzeyinin biyolojik yeniden oluşumuna alternatif olarak, kısmen osteokondral tıkaçlar veya tamamen uygun bir osteokondral allograft ile değiştirilebilir.

i. **Otolog (Mozayikplasti):** Otolog osteokondral transplantasyonda eklemin yük binmeyen yerinden elde edilen en az bir osteokondral tıkaç ile kıkırdak lezyonun doldurulması işlemidir (92, 93). Günümüzde başarıyla en sık kullanılan yöntemlerden biridir (212).

ii. **Allogreft:** Bu teknik ise Mozayikplasti ile tedavi edilemeyecek kadar büyük lezyonlarda ve daha önceden başarısız olmuş tedavi yöntemlerinden sonra uygulanabilir. Taze veya donmuş allogreftler kullanılabilir (169, 214).

**d. Periosteal ve perikondriyal artroplasti ve greftleme:** Periostun kambiyum tabakasındaki kondroprogenitör hücrelerin bulunmasından dolayı, kıkırdak lezyonlarının tedavisi ile ilgili hem deneysel hem de insan çalışmalarında kullanılmaktadırlar. Perikondrium veya periostun kullanımından bağımsız olarak her ikisinde de, öncelikle hiyalin kıkırdak benzeri doku oluştuğu (94, 95), fakat daha sonra bu dokunun dejenere olduğu görülmüştür (96, 97).

## 2. Kondrosit Transplantasyonu:

**a. Allojeneik Kondrosit Transplantasyonu:** İlk kez Chesterman ve Smith tarafından tarif edilen bu yöntemde (98), allojeneik kondrositler kollajen jel gibi uygun taşıyıcı araçlarla tam kat eklem kıkırdak lezyonlarının hiyalin kıkırdak ile tamiri mümkün olabilmektedir (99).

**b. Otolog Kondrosit Transplantasyonu:** Bu teknik hayvan modelinde ilk kez Peterson ve Grande tarafından (100, 101), klinik olarak ilk kez 1994 yılında (14) gösterilmiştir. 1997 yılında FDA tarafından onaylanan bu yöntem dünya çapında sıklıkla uygulanmaktadır.

Orijinal teknik olan birinci kuşak otolog kondrosit implantasyonunda iki cerrahi gerekliliği vardır. İlk cerrahide, etkilenen dizin yük binmeyen alanlarından artroskopik olarak alınan kıkırdak otogreftlerden kondrositler ekstrakte edilir. Bu kondrositlerin 3 veya 5 haftalık bir kültür sonucunda sayıları artırılarak bir hücre çözeltisi oluşturulur. Başka bir ikinci bir açık cerrahi seansı sırasında, bu hücre çözeltisi lezyona enjekte edilir ve üzerine periost veya yapay kollajen zar dikilir. Sonuçta hyalin kıkırdak benzeri doku ile iyileşme olmaktadır.

Yeni kuşak otolog kondrosit implantasyon yöntemleri ve sonucunda ortaya çıkan genetik bazlı doku mühendisliği tekniklerinin de kıkırdak lezyonlarının tedavisinde büyük bir hızla gelişmekte olduğu görülmektedir.

#### **2.3.5.3. Doku Mühendisliği, Mezenkimal Kök Hücre, Skafoldlar ve Gen Tedavileri**

Kıkırdak lezyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılan birinci kuşak otolog kondrosit implantasyonunun önemli dezavantajlarından biri olan, uygulama sonrasında yük verme sonucunda çözelti içinde yerleştirilen kondrositlerin lezyondan kaçışını önlemek ve ikinci açık cerrahi gerekliliğini ortadan kaldırmak için ikinci, üçüncü ve şu ana kadar dördüncü kuşak teknikler geliştirilmiştir (62, 122-126).

İkinci kuşak tekniklerin arasında ilk olarak Behrens tarafından tariflenen matriks-indüklenmiş otolog kondrosit implantasyonu vardır (128). Gelişmiş ikinci kuşak tekniklerde, doku mühendisliği teknikleri kullanılarak matriks veya skafold üretimi ve hücre kaynağı olarak kondrositler veya kondrositlere alternatif olarak mezenkimal kök hücrelerin kullanımını ortaya konulmaktadır (124, 127). Hücre kaynağı, otolog kondrosit veya mezenkimal kök hücreden hangisi olursa olsun, implantasyon öncesi kültür sürecinde hücreleri desteklemek ve implantasyon sonrası iyileşme süresince hücrelerin

lezyondan kaçışını önlemek amaçlı olarak hücreler, skafold içerisine yerleştirilmektedir.

Üçüncü kuşak teknikler, kondroindüktif (kıkırdak farklılaşmasını ve oluşumunu uyaran) veya kondrokondüktif (kıkırdağın ve destek dokuların büyümesi için bir skafold oluşumu sağlayan) matrikslerin, allojeneik veya fetal kök hücrelerin tek aşamada kullanımını içeren yöntemleri içermektedirler (125). Fakat henüz klinik kullanım için FDA onayları bulunmamaktadır. Dördüncü kuşak kıkırdak tamir teknikleri, farklı dokulardan elde edilen kök hücrelerin kullanımı, doku mühendisliği ve gen tedavisi yöntemlerini içerir (126).

Son yıllarda tıpta giderek artan şekilde uygulama alanları bulan doku mühendisliği; biyolojik, kimyasal ve mühendislik prensipleri uygulanarak, biyomateriyaller, hücreler ve biyolojik faktörler kullanılmasıyla yaşayan dokuların tamiri, restorasyonu ve yeniden oluşturulması olarak tanımlanabilir (110). 4 farklı şekilde kullanımı mevcuttur: Otolog kondrosit implantasyonunda olduğu gibi kondrositlerin in-vitro kültür sonrasında transplantasyonu, defektif yere biyolojik faktörlerin yerleştirilmesi, nanoteknoloji kullanılarak yeni kıkırdak dokunun büyümesini stimüle eden üç boyutlu poröz skafoldların kullanımı ve son olarak skafold, hücreler ve büyüme faktörlerinin kombine kullanımı dikkat çekmektedir (111, 112) .

Kıkırdak lezyonlarının tedavisinde hücre kaynağı olarak kondrositlere alternatif olarak, mezenkimal kök hücreler kullanılabilirler. Mezenkimal kök hücreler; kıkırdak, kemik, kas, tendon ve yağ dokusu gibi birçok farklı dokuya farklılaşma kapasitesi olan plöripotent hücrelerdir. Ancak “Nasıl kontrol ediliyor?” ve “Hangi düzeye kadar değişebilir?” soruları henüz cevapsız kalmaktadır (113-115).

**Mezenkimal kök hücre erişkin vücudunda, kemik iliğinden başka, iskelet kası, tendon, yağ, sinir, hepatik dokular, periost ve sinoviyal dokuda bulunmaktadır** (33, 46, 102-107). Bu dokular arasında sinoviyal dokunun avantajları oldukça fazladır (Tablo 2.5.) (23, 24, 32, 46, 108, 109). Bu özellikleriyle sinoviyal doku kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin de klinikteki kullanımının mümkün olduğu görülmektedir (21).

**Tablo 2.5. Sinoviyal dokunun kıkırdak lezyonlarının tedavisindeki kullanım avantajları**

- Vücuttaki kondrojenetik ve kıkırdak dokuya farklılaşma özeliği en fazla olan doku
- Proliferasyon yeteneği çok fazla
- Eklem kıkırdağına en yakın olan doku
- Normal dokulara minimal hasar verilerek, artroskopik teknik ile kolay elde edilebilir

Mezenkimal kök hücrelerinin kıkırdak hücrelerine dönüşümü ve bu hücrelerin proliferasyonu, birçok büyüme faktörleri, biyomoleküller ve lokal hücresel çevre tarafından düzenlenmektedir (Tablo 2.6.) (29, 32, 116-120).

Hücrelerin veya biyolojik faktörlerin içerisine yerleştirildikleri skafoldların bazı özelliklere sahip olması gereklidir. Mekanik olarak stabil olması, biyolojik uygunluğu tam, hücrelerin içerisine yerleştirilmesine uygun ve serbest hareketine izin veren, biyolojik olarak yıkılabilir ve son olarak geçici bir yapı oluşturarak daha sonra yerini yeni oluşacak hücre dışı matrikse bırakabilmesi önemlidir. (129-131).

Skafoldların yapımında kullanılan maddeler ikiye ayrılabilir: sentetik ve doğal olanlar (122, 132, 133). Sentetik olanlar arasında; polilaktik asit, poliglikolik asit, polilaktik-glikolik asit, polietilen oksit, polipropilen oksit, seramik kompozitleri, ve polietilen glikol polimerlerini içeren hidrojel vardır.

Doğal olanlardan ise: fibrin, kollajen, kondroitin sülfat, aljinik asit, agaroz ve hyalüronik asit sayılabilir. Skafoldlar karbonhidrat veya protein bazlı polimer yapıdadırlar (134).

**Tablo 2.6. Mezenkimal kök hücrelerin kıkırdak hücrelerine dönüşümünü artıran faktörler**

- TGF -  $\beta$  (özellikle  $\beta 1$ )
- BMP - 2, 7
- IGF - 1
- FGF - 2
- Hiyalüronik asit ve sinoviyal sıvı
- Hücre dışı matriks proteinleri: Matrillinler (1, 3)
- Mekanik güçler ve CPM

Tek tabaka kültürlerde çoğaltıldıkları zaman kondrositler kendi kondrojenik fenotiplerini kaybedebilirler. Fakat skafoldlar kullanılarak yapılan üç boyutlu kültür sistemlerinde çoğaltılırlarsa, yavaş proliferasyon göstermelerine rağmen kendi fenotipik özelliklerini tekrar kazanabilirler (134-139).

Gen tedavisi, viral veya viral olmayan vektörler kullanılarak özel genlerin eklem içerisine doğrudan in-vivo veya dolaylı ex-vivo şekillerde yerleştirilmesini içerir (141, 142). Doğrudan in-vivo yaklaşım, vektörün doğrudan eklem boşluğuna yerleştirilmesi ile olurken; ex-vivo yaklaşımda, vücut dışında genetik yapısı değiştirilmiş hücrelerin vücuda yeniden transplantasyonu vardır (143). Eklem kıkırdağının yeniden oluşumunu arttırmak için, terapötik proteinleri kodlayan genler sinoviyal dokuya, kondrositlere, mezenkimal kök hücrelere veya doğrudan kıkırdak lezyonuna, vektör ile veya intraartiküler olarak yerleştirilebilir.

Genetik tedavilerde kendilerine ait genlerin kullanıldığı kondrogenetik faktörler şunlardır: BMP-2, BMP-7, IGF-1, TGF- $\beta$ , FGF (139, 145-148). Bu faktörlerin hepsi, tamir dokusundaki kıkırdak hücre proliferasyonunu, dayanıklılığını, hücre dışı matriks yapımını arttıırırlar ve fibröz kıkırdaktan hiyalin kıkırdağa dönüşümü arttırarak defektin daha kaliteli bir dokuyla doldurulmasını sağlarlar (149-152).

Bu sürecin sonunda bu genler, kondrogenetik büyüme faktörlerinin sentezini, sinoviyal enflamasyonun durdurulmasını ve kıkırdak yıkımının inhibisyonunu sağlamış olmaktadır (15-17). İnsanlarda kıkırdak lezyonlarının gen tedavisi ile ilgili çalışmalar büyük bir hızla devam etmektedir.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

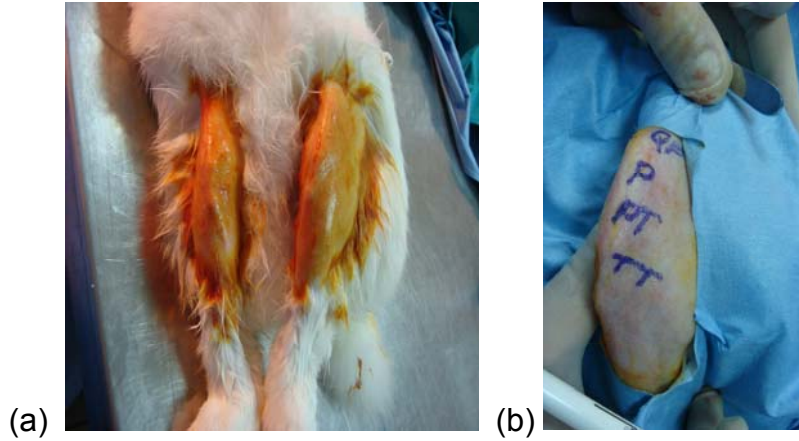
Bu çalışmaya 12 adet sağlıklı, beyaz Yeni Zelanda türü tavşan dahil edilmiştir. Çalışmada ağırlıkları ortalama ağırlıkları 2500 gr. (2000–3000 gr.) olan tavşanlar kullanılmıştır. Tavşanların kulakları numaralandırılmış ve her iki dizleri de çalışmada kullanılmıştır. Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul’undan gerekli izin alındıktan sonra, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1 Anestezi/Analjezi

Tavşanlara 4 ay ara ile iki kez, yazının devamında anlatılan standart cerrahi hazırlıklar uygulanmıştır. Cerrahi anestezi için hayvanlara enjekte edilebilir formda ‘Ketamin-Ksilazin’ karışımı uygulanmıştır. Enjeksiyon siyatik sinir hasarını engellemek amacıyla iğnenin ucu posteriora bakacak şekilde kuadriseps kasına intramüsküler olarak uygulanmıştır. Ketamin ve ksilazin dozları sırasıyla 35 mg/kg and 5 mg/kg olarak kullanılmıştır. Post-op bakım aşamasında hayvanların cerrahi işlem sonrası 24 saat boyunca sessiz, ılık ve kuru bir alanda iyileşme sürecini yaşamaları sağlanmıştır. Gastrointestinal hareketliliği sağlamak ve stazi önlemek amacıyla hayvanlar tamamen uyanır uyanmaz yemek verilmiştir. Postoperatif analjezi için meloksikam (5mg/kg, sc) uygulaması yapılmıştır.

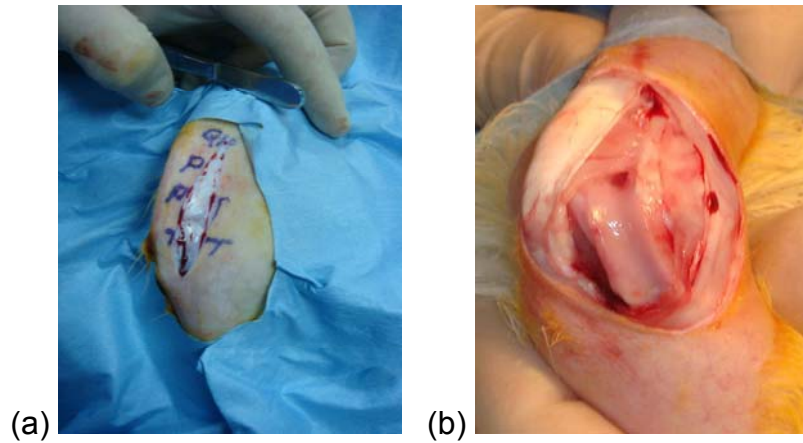
#### 3.2 Cerrahi Teknik

Cerrahi işlemden önce bütün hayvanların sağ ve sol dizlerine standart pre-op. hazırlıklar uygulanmıştır. Bu amaçla, dizler ekstansiyon durumuna getirilmiş, traş edildikten sonra antiseptik uygulandıktan sonra cerrahi örtüler ile örtülerek, aseptik ve uygun izole koşulların elde edilmesi sağlanmıştır (Şekil 3.1. (a) ve (b)).



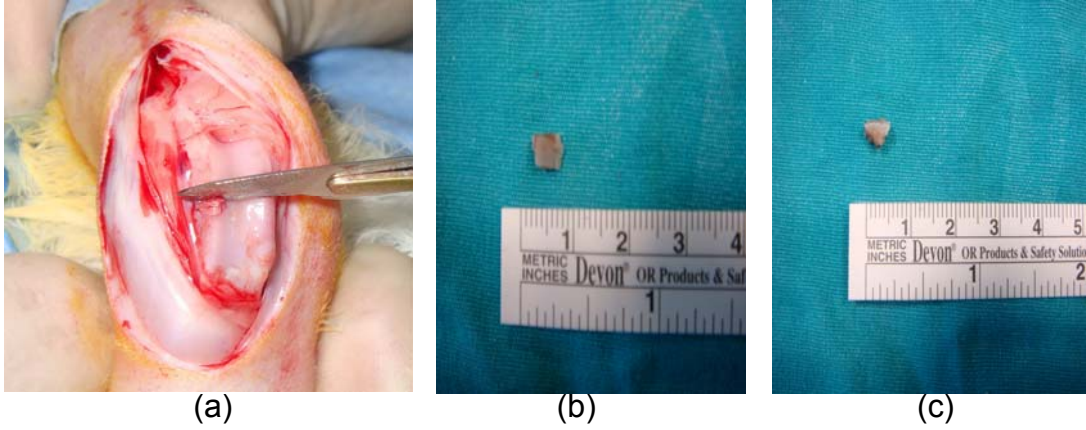
**Şekil 3.1.** Cerrahi öncesi hazırlık aşamasının görüntüleri: (a) Tavşanın her iki dizinin uygun ve steril olarak hazırlanmış şeklinin, (b) cerrahi uygulanacak dizin steril örtü ile örtülmüş ve işaretlenmiş şeklinin görüntüsü (QF: Kuadriseps femoris tendonu, P: Patella, PT: Patellar tendon, TT: Tibial tüberkül).

Cerrahi teknik olarak orta hat cilt insizyonu kullanılmıştır. Medial parapatellar yaklaşım ile yapılan artrotomi sonrasında femoral kondil yüzeyi ortaya çıkarılmıştır (Şekil 3.2. (a) ve (b)).



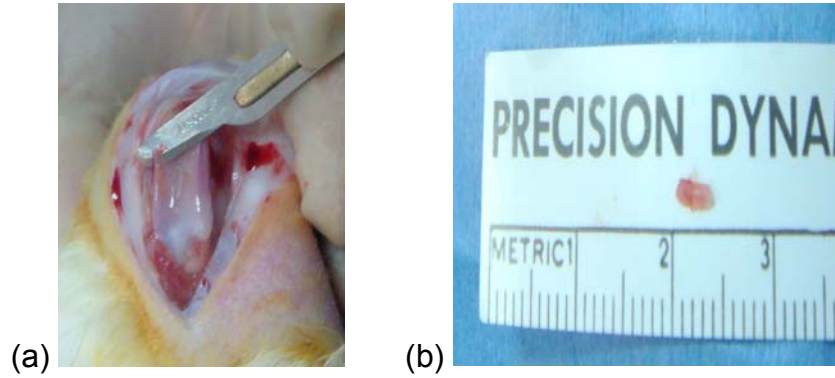
**Şekil 3.2.** Femoral kondillere ulaşım için uygulanan cerrahi teknik: (a) Orta hat insizyonu. (b) Medial parapatellar insizyon sonrasında, patellanın laterale sublüksasyonu ve femoral kondillerin ortaya çıkarılması.

Tavşanların sağ dizlerinden lateral femoral kondilin yük binmeyen yüzeyinden subkondral kemik ile birlikte 4 x 4 x 6 mm boyutlarında standart osteokondral örnekler alınmıştır (Şekil 3.3. (a), (b) ve (c)).



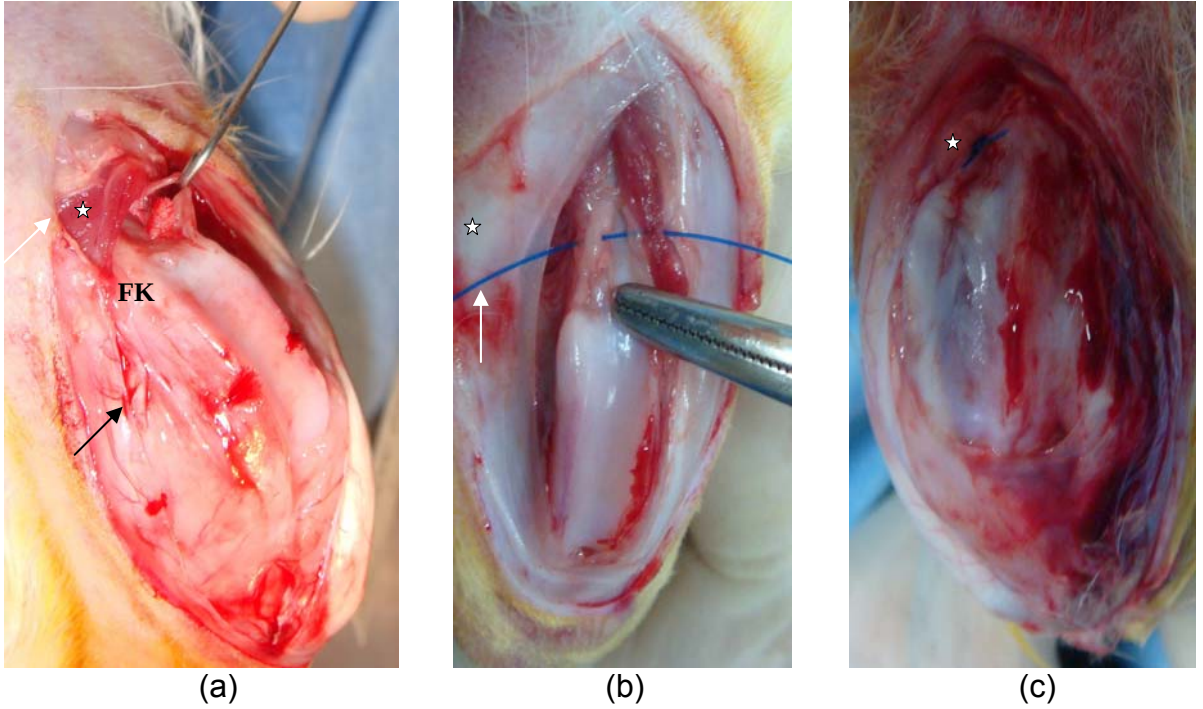
**Şekil 3.3.** Osteokondral örnek, sağ diz: (a) Femoral kondilin yük binmeyen yüzeyinden subkondral kemik ile birlikte kıkırdak örneğinin alınışı. (b) ve (c) Boyutları ( $b_1 \times b_2 \times b_3 = 4 \times 4 \times 6$  (mm)).

Tavşanların sol dizlerinden lateral femoral kondilin yük binmeyen yüzeyinden subkondral kemik hariç  $4 \times 4 \times 4$  mm boyutlarında standart kondral örnekler alınmıştır (Şekil 3.4.(a) ve (b)).

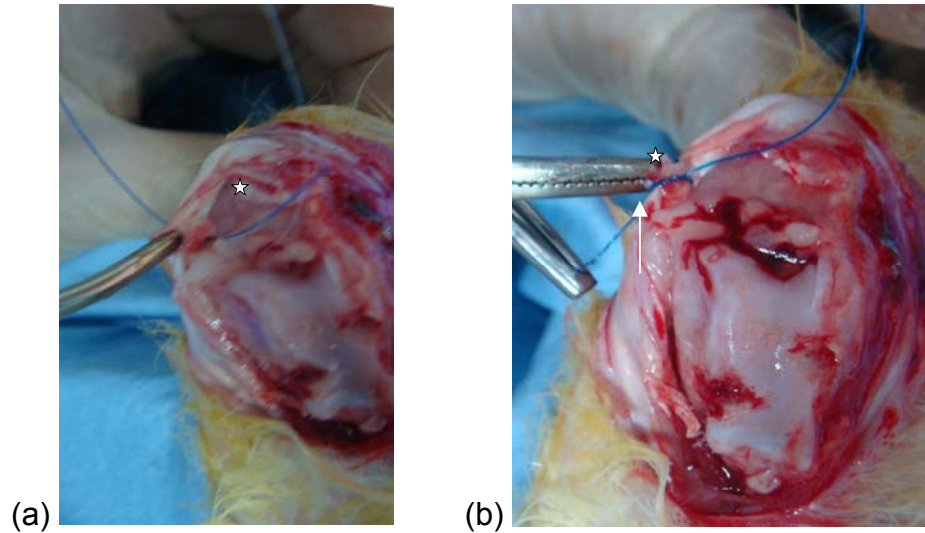


**Şekil 3.4.** Kondral örnek, sol diz: (a) Femoral kondilin yük binmeyen yüzeyinden subkondral kemik hariç sadece kıkırdak örneğinin alınışı. (b) Boyutları ( $b_1 \times b_2 \times b_3 = 4 \times 4 \times 4$  (mm)).

Tavşanların dizlerinden alınan pre-op. kondral ve osteokondral örnekler formol solüsyonunda saklanmıştır. Kıkırdak büyümesi açısından pre-op. örnekler ile karşılaştırılacak örnekler ise, ilk 6 tavşanda sinovyal doku içerisine (Grup I) (Şekil 3.5. (a), (b) ve (c)), son 6 tavşanda patellar tendonunun posterioruna (Grup II) (Şekil 3.6. (a) ve (b)) yerleştirilip, renkli ve emilmeyen dikiş ile tespitleri yapılmıştır.



**Şekil 3.5.** Osteokondral ve kondral örneklerin sinovyal doku içerisine gömülmesi: (a) Donör sahadan (siyah okun ucu) alınan örneğin (beyaz okun ucu), femoral kondil (FK) superior komşuluğundaki sinovyal doku (yıldız) içerisine yerleştirilmesi. (b) ve (c) Örneğin (beyaz okun ucu) sinovyal doku (yıldız) içerisine bir adet emilmeyen mavi renkli dikiş ile tespiti.



**Şekil 3.6.** Osteokondral ve kondral örneklerin eklem içine yerleştirilmesi: (a) ve (b) Örneğin (beyaz okun ucu) patellar tendonun (yıldız) posterioruna konulması ve bir adet mavi renkli, emilmeyen dikiş ile tespiti.

Kapsül, ciltaltı dokular ve cilt sırasıyla, uygun şekilde yaklaştırılıp insizyon kapatılmıştır. Cerrahi işlem sonrasında 1 hafta boyunca yara steril pansumanlarla izlenmiştir. Tavşanlara immobilizasyon uygulanmamıştır. 1 hafta sonunda ve sonrasında hiçbir tavşanda enfeksiyon bulgusuna rastlanmamıştır (Şekil 3.7.). Sadece grup II'den bir tavşan, çalışmanın ikinci ayında solunum yolu enfeksiyonu nedeniyle eksitus olmuş ve çalışmadan çıkartılmıştır.

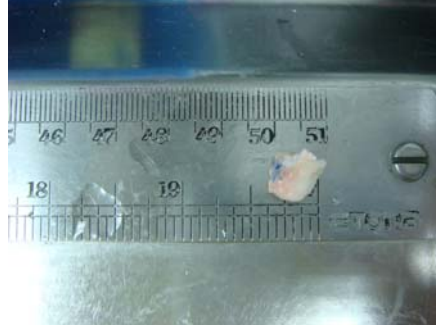


**Şekil 3.7.** Post-op. 1. haftanın sonunda yara yerinde enfeksiyon bulgusunun olmadığı görülmekte.

Grup I'den 5 ve grup II'den 6 olmak üzere toplam 11 tavşan 4 ay boyunca izole laboratuvar koşullarında izlenmiştir. 4 ayın sonunda hayvanların dizleri aynı insizyon ve cerrahi yaklaşım kullanılarak açılmıştır. Sinovyal doku içerisine ve patellar tendon posterioruna yerleştirilen kırık dokuları, mavi renkli dikiş kılavuzluğunda bulunmuştur. Post-op. örnekler incelenmek üzere alınarak diz eklemleri kapatılmıştır.

### 3.3. Makroskopik Ölçümler

Tavşanlardan alınan post-op. kondral ve osteokondral örneklerin her üç boyutu (her iki kenar ve derinlik) cetvel ile ölçülüp not edilmiştir (Şekil 3.8.). Örnekler standart bir geometrik şekil olmadıkları için, her üç değer çarpımı, örneklerin yaklaşık hacim ölçümü olarak kayıt edilmiştir. Ölçülen post-op. değerler, pre-op. değerler ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, histolojik kondrosit sayımı ile arasındaki korelasyon da incelenmiştir.

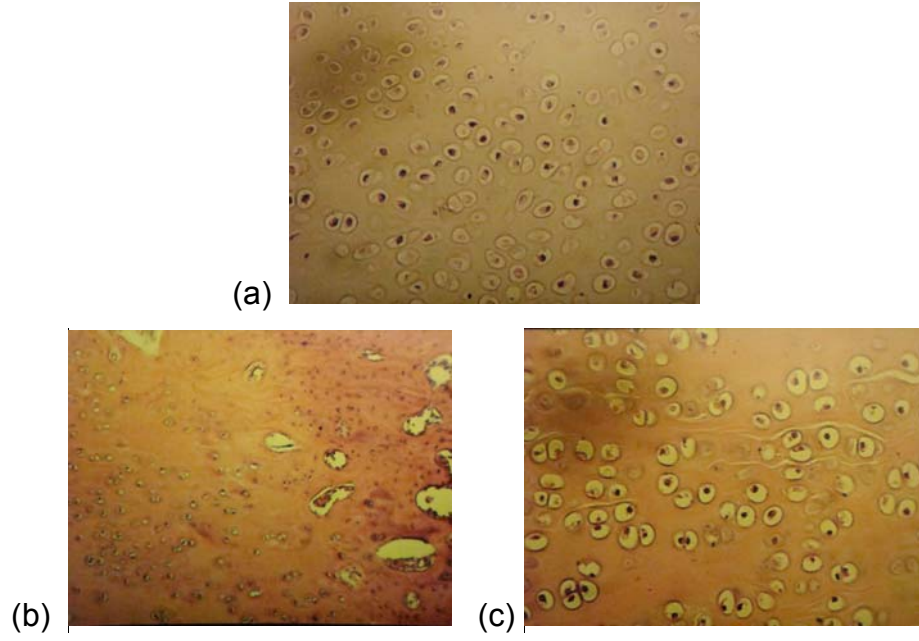


**Şekil 3.8.** Örnek olarak grup II'den 9 numaralı tavşanın sağ dizinden alınan post-op. örneğin makroskopik ölçümü. Mavi renkli emilmeyen dikişin örneğin üzerinde olduğu görülmektedir.

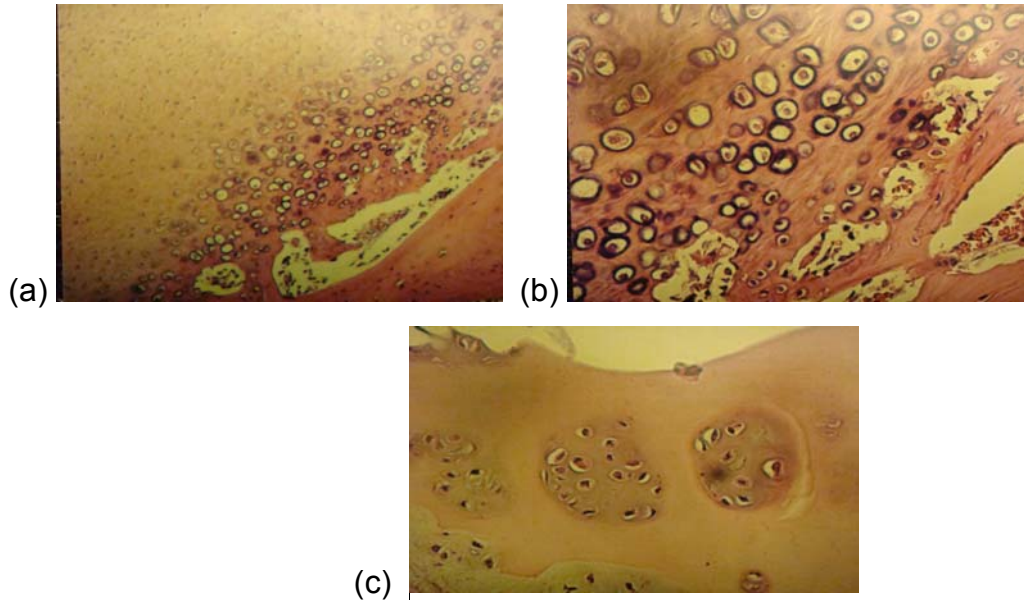
### 3.4. Histolojik Analiz

Pre-op. ve post-op. doku örnekleri, yapılan anatomik diseksiyon sonrasında %10'luk formalin çözeltisine konulduktan sonra rutin parafin gömme doku hazırlama tekniğine uygun şekilde hazırlanmıştır. Örnekler, 5µm kalınlıkta kesitleri alındıktan sonra, Hematoksilen-Eozin boyası ile boyanmışlardır. Doku örnekleri, aynı araştırmacı tarafından Nikon Optiphot (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) ışık mikroskopunda incelenmiştir (Şekil 3.9. (a), (b) ve (c), Şekil 3.10. (a), (b) ve (c), Şekil 3.11. (a) ve (b)).

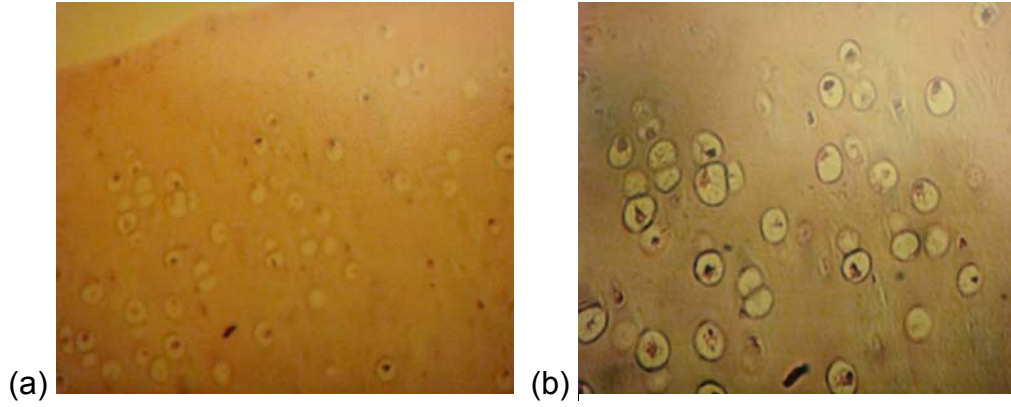
Tüm örneklerin histolojik olarak hiyalin kıkırdak özelliğine sahip olup olmadıklarına bakılmış ve literatürde ilk kez bu çalışmada kondrosit hücre sayımları “camera lucida” yöntemi” (172-174) kullanılarak incelenmiştir. Standart olarak hazırlanan doku preparatlarındaki kondrosit sayıları, 200x büyütmede 0.01 mm<sup>2</sup>'lik 10 alanda “camera lucida” kullanılarak sayılmıştır (Şekil 3.12. (a) ve (b)).



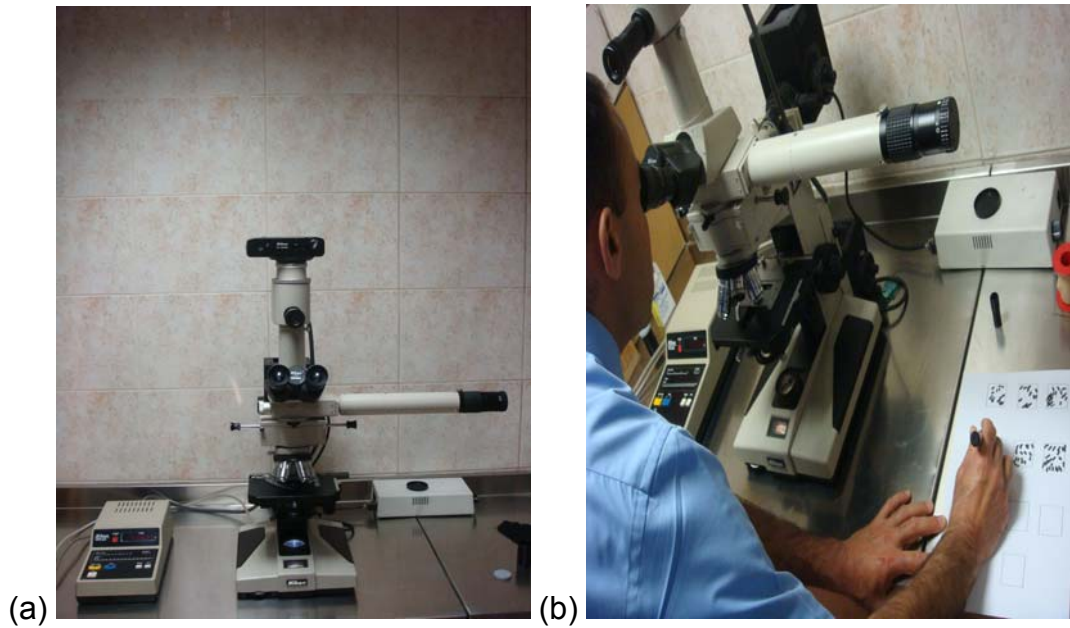
**Şekil 3.9.** Kontrol pre-op. kondral örneğe ait preparatın x100 büyütmedeki histolojik görüntüsü (a). Kontrol pre-op. osteokondral örneğe ait preparatın x40 (b) ve x100 (c) büyütmelerdeki histolojik görüntüleri.



**Şekil 3.10.** Sinovyal gruptaki 4 numaralı tavşanın sağ dizinden alınıp sinovyal dokusuna gömülen osteokondral örneğin post-op. 4 ay sonraki, x40 (a), x100 (b) ve x200 (c) büyütmelerdeki histolojik görüntüleri.



**Şekil 3.11.** Eklem içi gruptaki 11 numaralı tavşanın sol dizinden alınıp patellar tendon posterioruna yerleştirilen kondral örneğin 4 ay sonraki, x40 (a) ve x100 (b) büyütmelerdeki histolojik görüntüleri.



**Şekil 3.12.** (a) ve (b) Histolojik preparatlardaki kondrositlerin Nikon Optiphot (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) ışık mikroskobu ile “camera lucida” yöntemi kullanılarak, 200x büyütmede  $0.01 \text{ mm}^2$ ’lik alanlarda aynı araştırmacı tarafından sayılması.

### 3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmaya katılan 22 dizdeki kırıkta örneklerinin hem gruplar arasında, hem de post-op. örnekler ile, makroskopik boyut ölçümlerinin ve histolojik kondrosit sayımlarının ortalama değerlerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Histolojik ölçümler, konusunda uzman bir anatomist tarafından gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasındaki ve her bir tavşan için standart pre-op. değerler ve post-op. 4. aydaki kondrosit sayımlarının ortalama değerlerinin değişimi arasındaki farkların karşılaştırılması için 'Mann-Whitney U' testi kullanılmıştır. Kırıkta örneklerindeki kondrosit miktarı ile makroskopik boyut arasındaki korelasyonu göstermek için regresyon analizi kullanılmıştır. Tüm analizler için SPSS istatistik analiz yöntemi (standart sürüm 14.0, SPSS, Chicago, IL) kullanılmıştır. 0.05'den düşük bulunan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Yapılan ilk cerrahilerden sonra toplam 11 tavşanın her iki dizinden alınan standart, pre-op. kondral ve osteokondral örneklerin boyutları ve yaklaşık hacimleri ile ilgili makroskopik ölçüm değerleri kaydedilmiştir (Tablo 4.1.).

Aynı örneklerdeki “camera lucida” yöntemi kullanılarak elde edilen histolojik kondrosit miktarları da kaydedilmiştir (Tablo 4.2.).

4 aylık izlem sonunda, ilk cerrahiler sırasında sinoviya ve patellar tendon posterioruna yerleştirilen 10 kondral ve 12 osteokondral olmak üzere 22 örnek, ikinci cerrahilerden sonra yerleştirildikleri yerlerden çıkartılmışlardır. Makroskopik olarak boyutlarındaki ve histolojik olarak kondrosit miktarlarındaki değişimler incelenmiştir. Makroskopik boyutlar ile ilgili değerler kaydedilmiştir (Tablo 4.3.).

“Camera lucida” yöntemi kullanılarak elde edilen histolojik kondrosit sayıları ve ortalama değerleri de kaydedilmiştir (Tablo 4.4.).

**Tablo 4.1. Pre-op. kırıkta örneklerine ait boyutlar (mm) ve yaklaşık hacimler ( $\text{mm}^3$ ) ile ilgili ölçüm değerleri.**

|                             | <b>b1</b> | <b>b2</b> | <b>b3</b> | <b>YH</b> |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Pre-op. kondral</b>      | 4         | 4         | 4         | 64        |
| <b>Pre-op. osteokondral</b> | 4         | 4         | 6         | 96        |

**Tablo 4.2. Pre-op. kırıkta örneklerine ait histolojik olarak kaydedilen kondrosit sayıları ile ilgili ölçüm değerleri ("Camera lucida" kullanılarak  $0.01 \text{ mm}^2$ 'lik sabit alanda, 200x büyütme ile ölçüm).**

|                             | <b>1</b> | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>6</b> | <b>7</b> | <b>8</b> | <b>9</b> | <b>10</b> | <b>Ort.</b> | <b>SS<br/>(-/+)</b> |
|-----------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-------------|---------------------|
| <b>Pre-op. kondral</b>      | 21       | 16       | 21       | 18       | 19       | 18       | 21       | 23       | 20       | 20        | 19,7        | 2,0                 |
| <b>Pre-op. osteokondral</b> | 14       | 17       | 18       | 14       | 18       | 14       | 17       | 14       | 18       | 17        | 15,5        | 1,9                 |

**Tablo 4.3. 4 aylık izlem sonunda post-op. kıkırdak örneklerine ait boyutlar (b1, b2, b3 (mm)) ve yaklaşık hacimler (YH (mm<sup>3</sup>)) ile ilgili ölçüm değerleri.**

| Grup ve Tavşan numarası         | Diz, taraf | b1 | b2 | b3 | YH   |
|---------------------------------|------------|----|----|----|------|
| <b>Grup I (Sinoviya)</b>        |            |    |    |    |      |
| 1                               | Sağ        | 12 | 8  | 8  | 768  |
|                                 | Sol        | 6  | 6  | 5  | 180  |
| 2                               | Sağ        | 14 | 10 | 6  | 840  |
|                                 | Sol        | 8  | 6  | 4  | 192  |
| 3                               | Sağ        | 12 | 8  | 6  | 576  |
|                                 | Sol        | 8  | 6  | 6  | 288  |
| 4                               | Sağ        | 18 | 12 | 10 | 2160 |
|                                 | Sol        | 9  | 6  | 6  | 324  |
| 5                               | Sağ        | 16 | 10 | 8  | 1280 |
|                                 | Sol        | 6  | 6  | 5  | 180  |
| <b>Grup II (İntraartiküler)</b> |            |    |    |    |      |
| 6                               | Sağ        | 8  | 8  | 6  | 384  |
|                                 | Sol        | 8  | 6  | 4  | 192  |
| 7                               | Sağ        | 12 | 9  | 6  | 648  |
|                                 | Sol        | 9  | 5  | 5  | 225  |
| 8                               | Sağ        | 10 | 8  | 6  | 480  |
|                                 | Sol        | 8  | 6  | 5  | 240  |
| 9                               | Sağ        | 10 | 10 | 8  | 800  |
|                                 | Sol        | 8  | 6  | 6  | 288  |
| 10                              | Sağ        | 14 | 10 | 10 | 1400 |
|                                 | Sol        | 9  | 5  | 5  | 225  |
| 11                              | Sağ        | 13 | 8  | 8  | 832  |
|                                 | Sol        | 10 | 8  | 5  | 400  |

**Tablo 4.4. Post-op. kıkırdak örneklerine ait histolojik olarak kaydedilen kondrosit sayıları ile ilgili ölçüm değerleri. ("Camera lucida" kullanılarak 0.01 mm<sup>2</sup>'lik sabit alanda, 200x büyütme ile sayım.)**

| Grup ve Tavşan numarası             | Diz, taraf | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | Ort. | SS (-/+) |
|-------------------------------------|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|------|----------|
| <b>Grup I<br/>(Sinoviya)</b>        |            |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |      |          |
| 1                                   | Sağ        | 22 | 18 | 23 | 18 | 22 | 20 | 19 | 19 | 20 | 19 | 20,0 | 1,8      |
|                                     | Sol        | 18 | 15 | 20 | 18 | 19 | 18 | 18 | 19 | 16 | 17 | 17,5 | 0,7      |
| 2                                   | Sağ        | 17 | 20 | 19 | 20 | 18 | 22 | 23 | 19 | 20 | 19 | 19,7 | 1,8      |
|                                     | Sol        | 17 | 18 | 19 | 18 | 16 | 20 | 21 | 19 | 19 | 17 | 18,4 | 1,5      |
| 3                                   | Sağ        | 20 | 19 | 22 | 22 | 21 | 19 | 22 | 18 | 20 | 20 | 20,3 | 1,4      |
|                                     | Sol        | 13 | 14 | 19 | 14 | 18 | 17 | 18 | 18 | 14 | 15 | 16,0 | 2,2      |
| 4                                   | Sağ        | 23 | 21 | 21 | 22 | 23 | 18 | 21 | 21 | 19 | 22 | 21,1 | 1,6      |
|                                     | Sol        | 21 | 17 | 19 | 21 | 21 | 19 | 18 | 19 | 20 | 21 | 19,6 | 1,4      |
| 5                                   | Sağ        | 19 | 22 | 22 | 18 | 20 | 18 | 19 | 20 | 22 | 22 | 20,2 | 1,7      |
|                                     | Sol        | 19 | 16 | 17 | 19 | 20 | 22 | 19 | 20 | 20 | 18 | 19,0 | 1,7      |
| <b>Grup II<br/>(İntraartiküler)</b> |            |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |      |          |
| 6                                   | Sağ        | 19 | 20 | 19 | 19 | 18 | 19 | 20 | 20 | 18 | 19 | 19,1 | 0,7      |
|                                     | Sol        | 13 | 17 | 16 | 18 | 16 | 17 | 19 | 18 | 19 | 19 | 16,0 | 1,9      |
| 7                                   | Sağ        | 15 | 16 | 19 | 17 | 18 | 18 | 20 | 17 | 15 | 19 | 17,4 | 1,7      |
|                                     | Sol        | 12 | 19 | 16 | 15 | 16 | 16 | 18 | 17 | 19 | 18 | 16,6 | 2,1      |
| 8                                   | Sağ        | 21 | 20 | 20 | 20 | 22 | 18 | 19 | 19 | 18 | 19 | 19,6 | 1,3      |
|                                     | Sol        | 14 | 16 | 16 | 17 | 16 | 18 | 19 | 17 | 16 | 17 | 16,6 | 1,3      |
| 9                                   | Sağ        | 18 | 21 | 18 | 19 | 20 | 20 | 19 | 14 | 16 | 18 | 18,3 | 2,1      |
|                                     | Sol        | 15 | 17 | 18 | 15 | 15 | 16 | 17 | 18 | 18 | 19 | 16,8 | 1,5      |
| 10                                  | Sağ        | 17 | 22 | 20 | 23 | 21 | 18 | 17 | 21 | 22 | 21 | 20,2 | 2,1      |
|                                     | Sol        | 12 | 13 | 14 | 12 | 14 | 13 | 12 | 16 | 15 | 15 | 13,6 | 1,4      |
| 11                                  | Sağ        | 14 | 20 | 19 | 17 | 18 | 15 | 17 | 18 | 18 | 19 | 17,5 | 1,8      |
|                                     | Sol        | 10 | 14 | 14 | 18 | 17 | 12 | 16 | 13 | 15 | 12 | 14,1 | 2,5      |

Post-op. elde edilen değerler için yapılan değerlendirme sonucunda:

Hem sinoviyal (ilk 5 tavşan), hem de eklem içi (son 6 tavşan) gruplarda, osteokondral ve sadece kondral örnek alınan alt gruplar arasındaki fark incelendiğinde, osteokondral örneklerdeki makroskopik ortalama boyut büyüklüğü ve ortalama histolojik kondrosit sayısı, sadece kondral yerleştirilen göre, istatistiksel anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Osteokondral (11 sağ diz) ve kondral (11 sol diz) alınan ve yerleştirilen örnek gruplarında, sinoviyal ve eklem içi alt gruplar arasındaki fark incelendiğinde;

- Sinoviyal doku ve eklem içindeki post-op. örneklerin ortalama makroskopik boyut büyüklükleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).
- Sinoviyal dokudaki post-op. örneklerdeki ortalama histolojik kondrosit sayısının, eklem içine yerleştirilen örneklerle göre daha fazla bulunması, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Post-op. örneklerin, pre-op. örneklerle karşılaştırıldığı histolojik incelemeler sonucunda;

- Hem sinoviyal, hem de eklem içi gruplarında;
  - o Osteokondral gruptaki örneklerde kondrosit artışı ve
  - o Kondral gruptaki örneklerde kondrosit azalışı saptanmıştır.

Her iki bulgu da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

- Osteokondral örnekler için; sinoviyal gruptaki kondrosit artışı, eklem içi grubundaki artışa göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

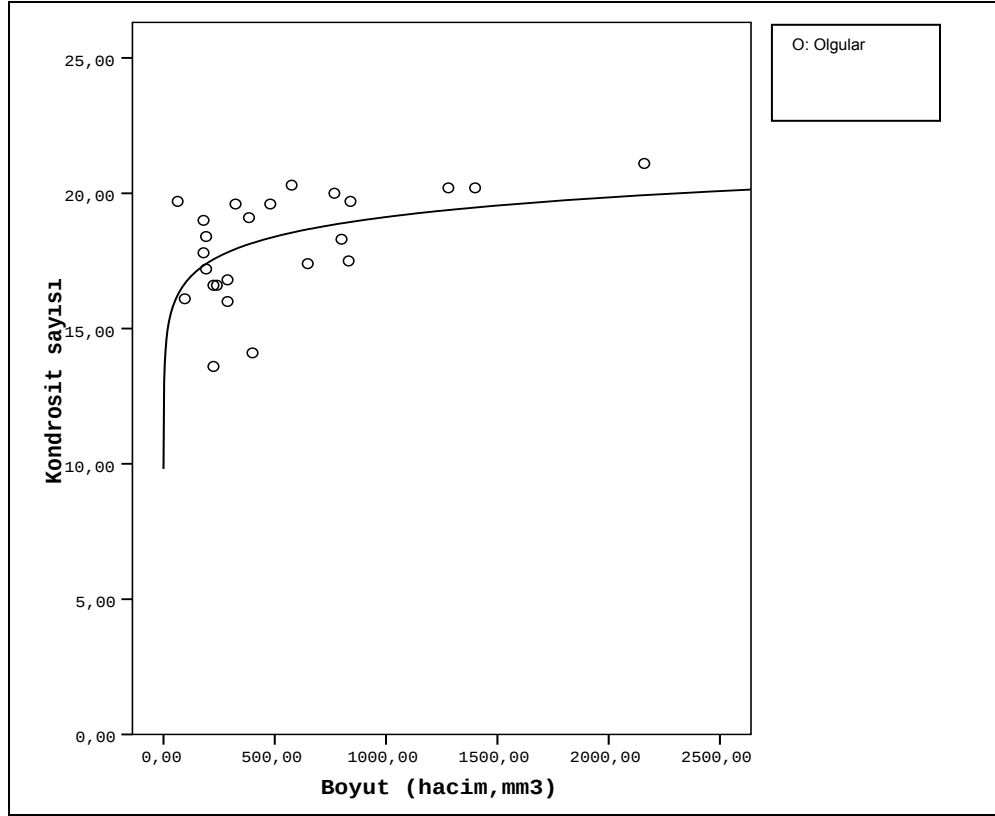
- Kondral örnekler için; eklem içi grupta görülen kondrosit azalışı, sinoviyal gruba göre istatistiksel olarak daha fazla bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Post-op. örneklerin, pre-op. örneklerle karşılaştırıldığı makroskopik boyut ve hacim incelemeleri sonucunda;

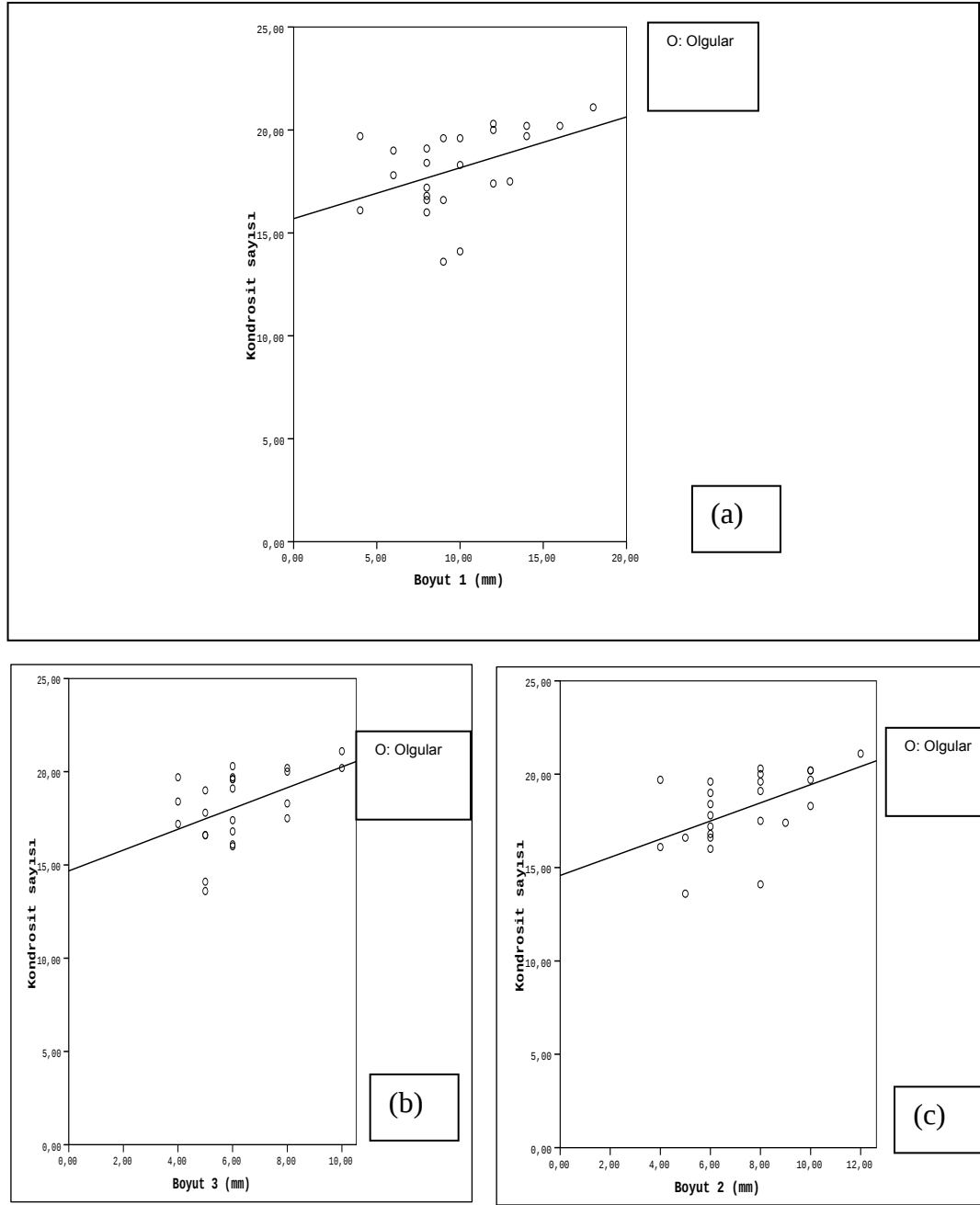
- Hem sinoviyal, hem de eklem içi gruplarında;
  - o Osteokondral ve kondral örneklerdeki derinlik boyutundaki (b3) ve yaklaşık hacimsel (YH) büyüme miktarlarındaki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ( $p>0.05$ ).
  - o Fakat diğer iki boyuttaki artış (b1, b2) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Ayrıca kondrosit miktarları ile örneklerin boyut ve yaklaşık hacimleri arasındaki ilişkiler incelendiğinde;

- Tüm örneklerin yaklaşık hacimleri ile örneklerdeki kondrosit sayıları arasında istatistiksel anlamlı bir logaritmik korelasyon saptanmıştır ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.1.).
- Tüm örneklerin her üç boyutu (b1, b2 ve b3) ile örneklerdeki kondrosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir doğrusal korelasyon saptanmıştır ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.2.(a), (b) ve (c)).



**Şekil 4.1.** Makroskopik hacim ile kondrosit sayısı arasındaki logaritmik korelasyon; Kondrosit sayısı ortalama değeri =  $11.811 + 1.048 \times \ln(\text{Boyut})$  ( $R^2$ : %20.7,  $p=0.025$ )



**Şekil 4.2.** Her üç boyut ile kondrosit sayısı arasındaki pozitif doğrusal korelasyon:

- (a) Kondrosit sayısı ortalama değeri =  $15.692 + 0.247 \times \text{Boyut (mm)}$   
( $R^2$ : % 19,1,  $p=0.033$ )
- (b) Kondrosit sayısı ortalama değeri =  $14.576 + 0.486 \times \text{Boyut (mm)}$   
( $R^2$ : % 26,9,  $p=0.009$ )
- (c) Kondrosit sayısı ortalama değeri =  $15.692 + 0.247 \times \text{Boyut (mm)}$   
( $R^2$ : % 22,4,  $p=0.019$ )

## 5. TARTIŞMA

Diz ekleminde kıkırdak lezyonları, gerçek insidansları bilinmemekle birlikte genellikle asemptomatik olarak, sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (53). İlk saptandıklarında genellikle asemptomatik ve küçük boyutta olabilirler. Doğal seyirleri tam olarak bilinmemektedir. Fakat tedavi edilmezlerse, hem kendiliğinden orijinal hiyalin kıkırdak yüzey ile iyileşme potansiyelleri oldukça azdır, hem de ileri bir zamanda ağrı, hareket kısıtlılığı dahil olmak üzere erken osteoartrit yol açabilirler (39). Osteoartrit ile sonuçlanan bir diz eklemindeki kıkırdak lezyonunun tedavisi için o eklemde prostetik replasmanı gerekmektedir. Total diz artroplastisi özellikle ileri yaştaki hastalarda düşük komplikasyon oranlarıyla başarılı sonuçlar vermesine rağmen, genç ve orta yaştaki hastalar için, yüksek revizyon ve başarısızlık oranları nedeniyle ilk seçenek olmamaktadır (153). Bu yaş grubunda hangi tedavinin seçileceği konusunda kesin bir netlik yoktur. Fakat osteoartrit gelişmeden önce kıkırdak lezyonlarının tedavisi için, orijinal kıkırdak dokusunun yeniden oluşturulmasını, entegrasyonunu ve biyolojik iyileşmeyi sağlayan bir yöntem bulma gerekliliği vardır.

Tarihsel olarak kıkırdak lezyonlarının tedavisindeki zorluk ilk kez 1743 yılında dönemin araştırmacı cerrahlarından William Hunter tarafından ilk kez ortaya konulmuştur (2). Eklem kıkırdağının avasküler olması, kondrositlerin immobilitesi ve proliferasyon yeteneklerinin kısıtlı olması, yaş ilerledikçe telomeraz uzunluğundaki azalışa bağlı kondrosit apoptozunun meydana gelmesi ve tamir edilen kıkırdak dokunun lateral entegrasyonu sorunundan dolayı, yeniden oluşum veya intrinsik tamir kapasitesi kısıtlıdır (63, 64, 66). Bu da kıkırdak dokunun lezyonlarının tedavisini güçleştirmektedir. Özellikle subkondral kemiğe kadar uzanmayan lezyonlarının (kısmi kalınlıktaki lezyonlar), fetal hayat dışında kendiliğinden tamirinin olmadığı bilinmektedir (39, 65). Bunun aksine, subkondral kemiğin de etkilendiği tam kat kıkırdak lezyonlarında, mezenkimal kök hücrelerin lezyona ulaşabilmesi sonucunda

iyileşme olmaktadır. Fakat bu iyileşme de sonuçta, hiyalin kıkırdaktan biyomekanik olarak daha zayıf olan fibröz kıkırdak ile olur (154).

Diz eklemindeki kıkırdak lezyonlarının tedavisine yönelik yapılan çalışmaların temelinde; hastanın ağrısının giderilmesi, eklem fonksiyonlarının korunması ve eklem yapısının bozulmasının önlenmesi yatmaktadır.

Literatürde diz eklemindeki kıkırdak lezyonlarının tedavisi ile ilgili tanımlanmış ve geliştirilmekte olan birçok cerrahi olmayan ve cerrahi yöntem bulunmaktadır.

Cerrahi olmayan tedavi yöntemleri arasında: postür egzersizleri, uygun ortezler, egzersiz, kilo verme, elektrik stimülasyonu, eklem içine uygulanan kortikosteroidler, viskosüplemantasyon ürünleri, oral olarak alınan kondroprotektif ilaçlar ve devamlı pasif hareket (cpm) vardır (9, 81-87, 208). Bu yöntemlerin çoğu, lezyonun tedavisine yönelik olmayıp, sadece hastanın semptomlarını azaltmaya yöneliktir.

Anatomik yapı restorasyonunu amaçlamadan, sadece semptomatik tedavi için kullanılmalarına rağmen eklem için hyalüronik asit enjeksiyonunun, sinoviyal hücrelerden hyalüronik asit salgılanmasını arttırdığı ve kondroprotektif özelliğinin olduğu bilinmektedir (83-85, 209). Eklem içi hyalüronik asit enjeksiyonu artroskopik girişimler sonrasında kombine şekilde kullanıldığında semptomatik iyileşme sağlar (87, 210).

CPM uygulamasının kıkırdak iyileşmesini, eklem yüzeyinin beslenmesini ve fonksiyonlarını arttırdığı bilinmektedir (9). Fakat bu etki 3 mm'den büyük lezyonlarda daha azdır. CPM'nin kıkırdak lezyonların tedavisinde günümüzdeki rolü ise, cerrahi tedavi yöntemlerine yardımcı olma amaçlıdır.

Geçmişten günümüze kadar kullanılan cerrahi tedavi yöntemleri arasında; kemik iliği uyarma teknikleri, artroskopik eklem debridmanı (89, 90), osteokondral transplantasyon (93), periosteal ve perikondriyal artroplastiler (155-158), kondrosit veya mezenkimal kök hücre transplantasyonları (92, 98, 99) ve yakın dönemde ortaya çıkan, kıkırdak lezyonlarının tedavisinin geleceğinde de önemli rolü olacak olan doku mühendisliği teknikleri (62) ve gen tedavileri (15, 18, 143) sayılabilir.

Artroskopik yıkama ve debridman, semptomları azaltmaya yönelik tedavi sağlar. Hangi mekanizma ile ağrıyı azalttığı henüz kesinleşmemiş olsa da, eklem içine dökülmüş serbest parçacıkların çıkartılması yoluyla ağrıyı azaltabilir ve lavaj ile uygulanmasıyla birlikte bu etki daha uzun sürer (159). Bu iki işlem özellikle erken dönem kıkırdak lezyonlarının semptomatik tedavisinde başarılıdır (88, 90, 160, 211). Kıkırdak lezyonunun tamiri üzerine etkisi bulunmamaktadır. Ancak Tetik, Doral ve arkadaşlarının çalışmalarının sonucunda; dejenere eklem dökülmüş diklofenak ve kolşisin ile yıkanması sonrası kıkırdak doku proliferasyonunda anlamlı bir artma olduğu belirlenmiştir (205-207). Günümüzde artroskopik yıkama ve debridman, semptomatik tedavi etkinlikleri için kullanılmaktadırlar.

Kemik iliği uyarma teknikleri arasında; mikrodilleme (161), abrazyon artroplastisi (162), mikrokirik (79) vardır. Pridie mikrodilleme ve abrazyon kondroplastisi düşük başarı oranları nedeniyle günümüzde kullanılmamaktadır (163). Günümüzde halen kullanımda olan mikrokirik tekniğidir. Avantajları arasında, ucuz olması, kemik nekrozu yaratmaması, kemik iliği kök hücreleri ve gerekli sitokinlerin lezyona ulaşmasını sağlamasıyla iyileşme cevabını oluşturması, artroskopik ve tek aşamalı olarak kolay uygulanabilir olması sayılabilir. Fakat iyileşme fibröz kıkırdak ile olduğu için, semptomatik iyileşme sağlayabilse de ideal tedavi yöntemi olamamaktadır (164). Kemik iliği uyarma tekniğinin günümüzdeki rolü olarak, daha önceden tedavi görmemiş kıkırdak lezyonu olan hastaların ilk basamak tedavisi olması kabul edilebilir.

Osteokondral greftleme otolog veya allojeneik kaynaklar kullanılarak yapılabilir. 1993 yılında ilk kez literatüre giren otolog osteokondral greftleme, Hangody tarafından mozayikplasti adlı özel tekniği ile popülerize edilmiştir (92, 93). Diz ekleminin yük binmeyen yerlerinden alınan silindirik, multipl osteokondral greftler ile kıkırdak defektinin doldurulması ile hiyalin kıkırdak benzeri doku ile iyileşme sağlanabilir. Bu tekniğin avantajları arasında; ucuz ve etkin olması ile birlikte kullanılan osteokondral tıkaçların lezyon yerinde iyi bir vertikal fiksasyon ile hızlı iyileşme sağlaması sayılabilir (165). Dezavantajları arasında ise; verici saha morbiditesi, düzgün eklem yüzeyinin sağlanamaması, büyük defektlerde kullanımının kısıtlı olması, sağlam doku ile zayıf entegrasyon ve osteokondral tıkaçların yüzeyel kısımlarında ve kenarlarında kıkırdak hücre ölümünün fazla olması, greftin çökmesi ve subkondral kist oluşumu vardır (166, 167). Günümüzde mozayikplasti uygulaması için ideal endikasyon, 2.5 cm'den küçük tam kat lezyonu olan genç hastalar olarak tariflenmiştir ve klinikte başarıyla uygulanmaktadır (168, 212).

Osteokondral allogreftler de, otogreftler gibi benzer endikasyonlara sahiptirler. Özellikle taze allogreftler kıkırdak hücre dayanıklılığı ve mekanik stabilite açılarından donmuş allogreftlere göre daha avantajlıdır (169). İmmünolojik reaksiyon ve hastalık geçişi, allogreftlerin kullanımlarındaki önemli riskleri oluşturmaktadırlar (170-171). Taze veya donmuş allogreftler günümüzde genellikle büyük osteokondral lezyonlarda, daha ileri yaştaki hastalarda ve daha önceden başarısız olan tedavi yöntemlerinden sonra kullanılırlar (214).

Periosteum, perikondriyuma göre daha kolay elde edilmesi nedeniyle daha sıklıkla kullanılmaktadır. Kambiyum tabakasındaki kondrosit progenitör hücrelerin varlığına bağlı olarak, her ikisinin kullanımı sonrasında hiyalin kıkırdak benzeri doku oluşturmaktadır (94, 95). Fakat hem oluşan bu dokunun uzun dönemde stabilitesini kaybederek dejenere olduğu, hem de greftlerin klinik sonuçlarının iyi olmadığı görülmüştür (96, 97, 175).

Periosteum günümüzde klinikte kondrosit hücre kaynağı olarak veya otolog kondrosit implantasyonunda greftleme amaçlı kullanılabilir. Ayrıca Güneş ve arkadaşları, tam kat kırıkta lezyonlarının tedavisinde periosteum transplantasyonunun mikrokirik ile kombine kullanımının başarılı sonuçlarını bildirmişlerdir (213).

Kondrosit transplantasyonu allojeneik veya otojen kaynaklı kondrositler ile yapılabilir. Tam kat kırıkta lezyonlarının kollajen jel içerisine gömülmüş allojeneik kondrositlerin implantasyonu ile fonksiyonel olarak yeterli hyalin benzeri kırıkta doku ile tedavisi mümkündür (99). Fakat allojeneik insan kırığının bulunması zordur. Ayrıca immünolojik reaksiyon ve sonrasında gelişebilecek yapısal bozulma riski mevcuttur (176).

Mozayikplasti dışında hyalin benzeri kırıkta doku oluşumuna en çok yaklaşan bir diğer teknik, ilk kez Brittberg tarafından klinik uygulamaya geçirilen otolog kondrosit implantasyonu olmuştur (14). Birinci kuşak olarak tanımlanabilecek bu iki aşamalı cerrahi sonunda, diz ekleminde ağrının azaltılması ve fonksiyon kazancı yönlerinden başarılı klinik sonuçlar alındığı bildirilmiştir (177-179). Etkili bir tedavi yöntemi olmasına rağmen, dezavantajları ve istenmeyen yönleri de bulunmaktadır; ikinci cerrahi gerekliliği, ikinci cerrahide artrotomi gerekliliği, eklem sertliği, artrofibrozis, donör saha morbiditesi, komplike in-vitro kültür işlemi, kondrositlerin fenotipik değişikliği ve ağırlık verme sonrasında lezyondan kaçışı, tamir dokusunun hyalin ve fibröz kırıkta karışımı bir dokudan oluşması ve periosteal hipertrofi (124, 177, 178, 180). Otolog kondrosit implantasyonu genel olarak, 2 cm<sup>2</sup>'den daha büyük, ICRS evre III ve IV lezyonları olan 15 ve 55 yaşları arasında post-op. rehabilitasyon protokollerine mükemmel uyum gösterebilecek yüksek beklentili hastalarda endikedir (125). Obez hastalarda göreceli bir kontraendikasyon bulunmaktadır.

Günümüzde sıklıkla kullanılan iki teknik olan, otolog kondrosit implantasyonu ile mozayikplastinin karşılaştırıldığı randomize kontrollü çalışmalarda benzer klinik sonuçlar ile karşılaşılmıştır (166, 181). Ayrıca bu tekniğin mikrokirik ile karşılaştırmalı 2 yıllık takipli bir çalışmada da, makroskopik ve histolojik sonuçlar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (164). Mikrokirik tekniği basit ve ucuz bir teknik iken, otolog kondrosit implantasyonu pahalı ve maliyeti etkin olmayan bir teknik olarak görülmektedir (182).

Birinci kuşak otolog kondrosit implantasyonunun teknik ve biyolojik dezavantajlarını en aza indirmek için, ikinci, üçüncü ve şu ana kadar dördüncü kuşak teknikler geliştirilmiştir (62, 122-126, 215).

Doku mühendisliği ve skafold teknolojilerinin gelişimiyle ortaya çıkmış olan ikinci kuşak tekniklerinde üç boyutlu skafoldların kullanımı ortaya konulmuştur. Birinci kuşak teknikte kullanılan iki boyutlu hücre kültürlerinde kondrositler fibroblastlara dediferansiye olurlar ve tip II kollajen ve proteoglikan üretimi kapasitelerini yitirirler (183). Fakat üç boyutlu olan skafoldların kullanıma girmesiyle, kondrositlerin farklılaşmış fenotiplerini korumaları ve homojen bir şekilde bu yapıda dağılımlarının sağlanması yönünde önemli bir adım atılmıştır (129, 184-186).

Skafoldların kıkırdak lezyonlarının tedavisinde kullanım avantajları arasında şu özellikleri sayılabilir: hasarlı bölgeye tamir için gerekli biyomaddelerin ulaştırılması, implante edilen hücrelerin kıkırdak tamiri için homojen bir şekilde ve gerekli sürede lezyon içerisinde üç boyutlu ortamda kalmalarının sağlanması, artroskopik uygulamanın mümkün olması, tamir için gerekli biyomoleküllerin kontrollü lokal salınımının sağlanması (187). En sık kullanılan maddeler, hyalüronik asit ve kollajen bazlı matrikslerdir. Hyalüronik asit bazlı bir skafold olan Hyalograft C, artroskopik uygulama sonucunda üzerine bir dikiş gerektirmeden, hyalin kıkırdak dokusu ile tamir sonucunda

yüksek klinik başarı ile kullanılmaktadır, fakat uzun dönem takipleri bulunmamaktadır (188, 189).

İkinci kuşak tekniklerinin klinik sonuçlarının birinci kuşaka göre benzer veya biraz daha iyi olduğu görülmektedir (124, 188, 189). Fakat bu tekniklerin uzun dönem takiplerini ve prospektif, randomize, kontrollü çalışmalarının sonuçlarını görmek gereklidir.

Son kuşak kıkırdak tamir tekniklerinde özellikle genetik tedavi sırasında vektörlerle veya eklem içi enjeksiyon ile kullanılabilen büyüme faktörlerinin (TGF- $\beta$ 1, FGF, IGF-1 ve BMP-2 ve BMP-7) kondrojenik özellikleri de bulunmuştur (139, 145-148). Fakat özellikle TGF- $\beta$ 1 enjeksiyonu sonucunda osteofit, sinovit ve sinoviyal hiperplazi oluşma riski nedeniyle kullanımları kısıtlıdır ve bu konudaki çalışmalar devam etmektedir (190-193). Ayrıca trombositlerin büyüme faktörlerinden zengin olduğu, in-vitro kondrosit proliferasyonunu ve farklılaşmasını arttırdığı ve kıkırdak lezyonlarının tamirinde önemli rolü olduğu saptanmıştır (194-197). Trombosit kaynaklı büyüme faktörü-B'nin (PDGF-B) skafoldlardaki dinlenme zonundaki kondrositlerin proliferasyonunu arttırdığı da gösterilmiştir (194).

Allojeneik hücrelerin, kondroindüktif ve kondrokondüktif matrislerde tek aşamalı olarak kullanımını sağlayan üçüncü kuşak teknikleri ile su bazlı skafoldlar olan ve artroskopik olarak uygulanabilen hidrojeller, elastin benzeri polipeptid hidrojeller, hyalüronik asit bazlı skafoldlar, büyüme faktörleri, biyomoleküller ve gen tedavilerini içeren dördüncü kuşak teknikler yeni olup, sonuçlarıyla ilgili klinik ve histolojik veriler kısıtlıdır. Bu tekniklerin etkinliklerinin gösterilmesi için randomize, kontrollü çalışmalar yapılması ve maliyetlerinin azaltılması yönünde gerekli çabanın gösterilmesi uygun olacaktır.

**Kıkırdak lezyonlarının doku mühendisliği ile başarılı tedavisi, aşağıda tanımlanan şartların sağlanmasına bağlıdır (112, 142):**

- 1. Kompleks skafoldların poröz mikroyapısal özellikleri**
- 2. Hücre ve büyüme faktörlerinin skafold içindeki dağılımları**
- 3. Hücrelerin skafoldların içinde uygun yere ulaştırılması**
- 4. Yeterli hücre sayısı**
- 5. Biyomateriyallerin biyolojik uyumluluğu ve biyolojik yıkımı**
- 6. Hücrelerin özel biyoaktif faktörlere, besinlere ve çevresel uyarılara cevabı**
- 7. Yeni oluşan dokunun büyümesi ve orijinal doku ile başarılı lateral ve vertikal entegrasyonu**
- 8. Yeni oluşan dokunun anjiojenez.**

Özetle, diz eklemindeki kıkırdak lezyonlarının tedavisinde kullanılan yöntemler, konservatif ve cerrahi olarak ikiye ayrılabilirler. Konservatif tedavi yöntemlerinin çoğunun semptomatolojik iyileşmeyi sağladığı görülmektedir. Cerrahi yöntemlerden; mikrokirik yöntemi dahil olmak üzere, intrinsik iyileşmeyi uyaran kemik iliği uyarma tekniklerinin uygulanması sonucunda lezyonlar, biyomekanik ve biyolojik olarak hiyalin kıkırdaktan daha zayıf olan fibröz kıkırdak ile iyileşmektedir. Halen sıklıkla kullanımda olan hiyalin benzeri doku ile iyileşmeyi sağlayan biyolojik tedavi yöntemleri arasında periosteal transferler, otolog kondrosit implantasyonu, osteokondral otograft veya allograft transplantasyonu sayılabilir. Yeni geliştirilmekte olan olan yöntemler arasında ise; doku mühendisliği teknikleri, mezenkimal kök hücrelerin kullanımı, sentetik veya doğal skafoldlar ve gen tedavileri vardır (216). Literatürde, kıkırdak lezyonlarının tedavisi alanında hızla gelişmekte olan bu yeni tekniklerin klinikteki uygulamaları ve etkinlikleri ile ilgili olarak; karşılaştırmalı, prospektif, randomize, kontrollü çalışmaların yapılması gerekliliği vardır. İdeal tedavi yönteminin sonucunda histolojik, fonksiyonel ve biyomekanik olarak orijinal hiyalin kıkırdak ile iyileşmenin sağlanması ve sağlam kıkırdak dokusuna entegrasyonu amaçlanmaktadır. Henüz ideal tedavi yöntemine ulaşamamıştır, fakat yaklaşmıştır.

Şu ana kadar tarif edilmiş tedavi yöntemleri -günümüzde en sık kullanılan mozayikplasti ve otolog kondrosit implantasyon teknikleri dahil olmak üzere-, değişen oranlarda hastaların ağrı semptomlarını azaltmakta ve değişken fonksiyonel sonuçlara sahiptirler. Kıkırdak lezyonlarında uygulanan bu tedavi yöntemlerinin çoğunda kısa dönem sonuçlar yüz güldürücü olsa da, uzun dönem takiplerinde, ideal olan hiyalin kıkırdak ile iyileşme sağlanamamaktadır. Sonuçta orijinal eklem kıkırdağına göre biyolojik ve biyomekanik olarak daha zayıf olan fibröz kıkırdak veya fibröz-hiyalin karışımı kıkırdak doku ile iyileşme olmaktadır.

Eklem kıkırdak lezyonlarının tedavilerinin hem kısa hem de uzun dönemde takibi ve değerlendirilmesi bir diğer sorunu oluşturmaktadır. Eklem kıkırdak tamirinin etkinliğini değerlendirmek zordur. Klinik semptomlar, bu değerlendirmede önemli olsa da objektif bir sonuç vermezler. Objektif bir değerlendirme için dört önemli yöntem tariflenmiştir: Manyetik rezonans görüntüleme (MRG), ultrasonografi, artroskopik biyopsi ve biyolojik belirteçler.

MRG, invaziv olmayan bir yöntemdir. Defekt tamirinin boyutunu gösterir. Eklem kıkırdağı ile altındaki kemiğin ayırımı ve tamir dokusunun yüzeyi ve kalınlığının gösterilmesi için üç boyutlu yağ baskılamalı özel eko görüntülemeli MRG kullanılabilir (198). Tamir dokusundaki glikozaminoglikan miktarını göstermek için kontrast madde olarak gadalinyum kullanılabilir (199). Günümüzde MRG, tamir dokusunun kalitesinin değerlendirilmesinde zayıf kalsa da, kıkırdak tamir yöntemlerinin objektif değerlendirilmesinde kullanılabilmektedir. (220).

Son yıllarda invaziv olmayan görüntüleme yöntemi olarak, kıkırdak dokusunun bölgeye özel kompresif dinamik sıkılığını sayısal olarak ölçebilen, kıkırdağın yeniden oluşumunu değerlendirebilen ve artroskopi sırasında uygulanabilen ultrasonografi kullanılmaya başlanmıştır (200-202).

Artroskopik biyopsi, kıkırdak tamir dokusunun kalitesinin gösterilmesinde en güvenilir yöntemdir. Fakat invaziv olması, insanlardaki kullanımını kısıtlamaktadır (45).

Eklem kıkırdak bileşenlerinin metabolik ürünleri arasından keratan sülfat, eklem kıkırdak hasarının tarama testi olarak ve eklem kıkırdak tamirinin doğal seyrini göstermekte kullanımında uygun olarak bulunmuştur (203).

Kıkırdak lezyonlarının tedavisi için endüstri, cerrahi veya cerrahi olmayan, çeşitli tedavi yöntemleri ortaya koymuştur ve koymaya devam etmektedir. Yeni ve gelişmekte olan tedavi yöntemleri ile ilgili araştırmaların, teknoloji ve endüstrinin de katkısı ve güçlü etkisiyle, her geçen gün sayıları artmaktadır. Bütün bu gelişmelerin sonucu olarak: “Eklem kıkırdak lezyonu iyileştirilebilir mi?” ve “Hasar görmüş veya kaybolmuş eklem kıkırdak parçasının, yeni, sağlam ve kalıcı kıkırdak doku ile restorasyonu mümkün mü?” sorularının cevaplarının artık “evet” olacağı yönündeki kanıtların ortaya çıktığı görülmektedir.

Mezenkimal kök hücrelerin sahip oldukları multipotent olma ve kendilerini yenileme özellikleri, klinikte kıkırdak lezyonlarında tedavi amaçlı kullanımları hakkında büyük bir ilgi uyandırmıştır (49, 204). Sinoviyal hücrelerin mezenkimal kök hücreler kadar kondrogenetik özelliğe sahip olduğu saptanmıştır (46, 50). Son yıllarda sinoviyal dokunun yapısında mezenkimal kök hücre içerdiği gösterilmiştir (46). Ayrıca hem proliferasyon yeteneği, hem de kondrogenetik özelliği en fazla olan dokunun da sinoviyal doku kaynaklı mezenkimal kök hücreler olduğu saptanmıştır (47). Fakat sinoviyal dokunun bu özellikleri, şu ana kadar sadece in-vitro ortamlarda gösterilmiştir. Literatürde sinoviyal dokunun “in-vivo” olarak kondrogenezis üzerine etkisini gösteren sadece bir yayın bulunmaktadır. Bu yayında da hücre kaynağı olarak kemik iliğinden elde edilen kök hücreler kullanılmıştır

(25). Sinovyal dokunun doğrudan kıkırdığın proliferasyonu ve büyümesi üzerine “in-vivo” etkisini gösteren bir yayın bulunmamaktadır.

Literatürde ilk kez yapılmış bu çalışmanın sonucu olarak; sinoviyal dokunun subkondral kemikle birlikte alınan kıkırdak doku üzerinde “in-vivo” kültür ortamı olarak; hem makroskopik olarak büyümeyi, hem de histolojik olarak “camera lucida” yöntemiyle yapılan sayımda (172-174) görülen kondrosit artışını sağlayarak, hiperplazik etki gösterdiği görülmüştür. “in-vivo” üretilen kıkırdığın, düşük maliyetle, etkin ve biyolojik bir yöntem olarak klinikte kullanılabileceği düşünülebilir.

Çalışmanın iki eksik yönünün bulunduğu görülmüştür:

1- Sinoviyal dokunun kıkırdak matriks üzerine etkisinin incelenememiş olmasıdır. Fakat bu çalışma, bu etkinin incelenmesi için, ileride yapılabilecek çalışmalara yönelik bir ön çalışma olabilecektir.

2- Hacimsel değerlendirmenin yaklaşık olarak hesaplanmış olması sayılabilir.

Ayrıca, oluşan yeni kondrositlerin nasıl oluştuğu iki şekilde açıklanabilir:

- 1- Sinoviyal dokudaki kök hücrelerin farklılaşması,
- 2- Kondrositlerin hiperplazisi.

Fakat hangi yol ile oluşmuş olursa olsun sonuçta; kıkırdak dokunun “in-vivo” sinoviyal doku içerisinde hacimsel olarak büyüdüğü ve kondrosit miktarında artış olduğu görülmüştür.

**Literatürdeki bu konuda yapılmakta olan bütün çalışmalara, bu çalışmanın sonucuyla ekleyeceği katkı ile; sinoviyal dokunun, kıkırdak lezyonlarının tedavisinde kullanılabilecek kıkırdak hücrelerinin kaynağı olması veya kıkırdak hücrelerine “in-vivo” kültür ortamı olması yönündeki düşüncayı güçlendirdiği görülmektedir.**

Çalışmanın sonucu ve güncel literatür bilgileriyle; kıkırdak lezyonları karşısında ortopedik cerrahlar olarak, doğal tamir cevabını arttırmaya yönelik yeni teknikler ve tedavi yöntemlerinin gelişimini sağlayarak, orijinal hiyalin kıkırdak ile aynı biyokimyasal, biyomekanik ve biyolojik özellikler taşıyan kıkırdak üretiminin var olabileceği ve bir adım daha yaklaşılabileceği dikkat çekmektedir.

**Dolayısıyla, William Hunter'ın kıkırdak lezyonları literatüründe adeta bir duvar yazısı haline gelmiş sözünün de artık geçerliliğini yitirebileceği öngörülebilir.**

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diz eklem kıkırdak lezyonları, etyolojisi ne olursa olsun, klinikte semptomatik veya sıklıkla asemptomatik şekillerde karşımıza çıkmaktadırlar. Eğer tedavi edilmezlerse, insan hayatını olumsuz şekilde etkileyen osteoartrit ile sonuçlanabilirler. Dolayısıyla, kıkırdak lezyonlarının şekline, derinliğine, büyüklüğüne ve hastanın yaşına, beklentilerine göre uygun şekilde tedavi edilmeleri gereklidir. Kıkırdak lezyonlarında ideal tedavi yöntemi, orijinal hiyalin kıkırdak doku ile biyolojik iyileşme ve entegrasyon sağlanarak, hastanın ağrısının azaltılmasını ve tekrar fonksiyonel bir eklem kazanmasını amaçlar. Sadece mozayikplasti, otolog kondrosit implantasyonu ve doku mühendisliği teknikleri ile bu hedefe yaklaşılmıştır. Fakat ne yazık ki, şu ana kadar tarif edilmiş tedavi yöntemlerinin hiçbirinde uzun dönemde ideal hiyalin kıkırdak amacına ulaşılamamıştır.

Sinoviyal dokunun, kıkırdak lezyonlarının tedavisindeki önemi, hem içerdiği mezenkimal kök hücrelerin, hem de kendi yapısındaki hücrelerin kondrojenetik özelliklerinin anlaşılmasından sonra giderek artmıştır. Bu konuda yapılan çalışmaların çoğu in-vitro ortamlarda gerçekleştirilmiştir. Fakat, sinoviyal dokunun kondrojenesis sürecinde kıkırdağın makroskopik büyümesini ve kondrosit miktarında meydana gelen artışını tek bir araştırmacı tarafından **“camera lucida” yöntemi kullanılarak, objektif bir şekilde, “in-vivo” ortamda inceleyen bir yayın bulunmamaktadır.**

**“Canlının kendi vücudunda oluşturduğu kıkırdağı biz, yine canlının kıkırdak lezyonlarının tedavisinde in-vivo ortamda oluşturabilir miyiz?”** sorusuna cevap bulmak amacıyla, sinoviyal dokunun “in-vivo” kültür ortamı olarak kıkırdak dokunun büyümesi ve kondrosit miktarı üzerine etkisi hakkında yapılmış olan bu çalışmanın sonunda iki önemli sonuç elde edilmiştir:

**1. Osteokondral örnekler, kondral örnekler ile karşılaştırıldığında; hem makroskopik boyutlardaki (en ve boy) artış, hem de kondrosit miktarlarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur.**

**2. Canlının kıkırdak dokusunun, subkondral kemik ile birlikte alınıp, kendi sinoviyal dokusunun içerisine gömüldüğü takdirde; sinoviyal dokunun, kıkırdağın büyümesi için gerekli faktörleri içeren adeta “in-vivo” kültür ortamını oluşturarak, kondrosit miktarında artışa neden olduğu gösterilmiştir.**

Bu çalışmanın yukarıda belirtilen iki sonucundan yola çıkarak; şu an “in-vitro” kültür ortamlarında üretilen ve maliyeti çok yüksek olan eklem kıkırdak dokusunun, subkondral kemik ile birlikte alındığında, canlının kendi sinoviyal dokusunun “in-vivo” ortamında üretilmeye başlanabileceği fikrinin güçlendiğini söylenebilir. Bu teknik ile kıkırdak lezyonlarının tedavi yöntemleri arasına yakın gelecekte, maliyeti düşük, etkin, artroskopik olarak kolay uygulanabilir alternatif bir biyolojik tedavi seçeneği katılabileceğini söyleyebiliriz.

Sonuç olarak yakın gelecekte; eklem kıkırdak lezyonlarının tanısı konulduktan sonra tedaviye yönelik olarak; diz eklemiindeki sinoviya-kıkırdak yakın ilişkisi kullanılarak, sinoviyal dokuda da “in-vivo” olarak insanın kendi kıkırdak dokusunun üretimini öngörebiliriz. Subkondral kemikle birlikte alınan ve “in-vivo” büyüyen bu eklem kıkırdağının, gerekli büyüme faktörleri de eklenerek, artroskopik olarak kıkırdak lezyonlarına yerleştirilip, orijinal dokuya entegrasyonunun sağlanmaya çalışılması ise; insan vücudundaki eklem kıkırdak lezyonlarının tedavisi ile ilgili yakın gelecekte yapılması gereken çok merkezli, randomize, kontrollü çalışmaların temelini oluşturacaktır.

Sonlarına yaklaştığımız kemik ve eklem onyılından sonraki yakın gelecekte de, insanın diz eklemine olumsuz yönde etkilene potansiyeli olan ve osteoartrit ile sonuçlanabilecek eklem kıkırdak lezyonlarının tedavi yöntemleri ve **sinoviyal dokunun kıkırdak lezyonlarının tedavisi** üzerine olumlu etkisi ile ilgili araştırmalara devam edilecektir.

**İnsan vücudunda “sinoviya ve kıkırdak doku arasındaki tropizm”** olarak adlandırılabilen bu doğal sürecin düşünce ışığından ilham alınarak gerçekleştirilmiş olan çalışmamız, literatürde ilk kez gösterilmiş olan sonuçlarıyla birlikte;

- Bir yandan sinoviyal dokunun kondrojenesis üzerindeki önemini vurgulayan bilimsel çalışmalara önemli bir katkı sağlayacak,
- Bir yandan da, bundan sonra yapılacak çalışmalarla klinik uygulamaya geçiş sürecinin geliştirilmesinde literatüre alternatif bir eksen oluşturacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Buckwalter JA. Integration of science into orthopaedic practice: implications for solving the problem of articular cartilage repair. J Bone Joint Surg Am 2003;85:1-7.
2. Hunter W. Of the structure and diseases of articular cartilages. Philos Trans R Soc London 1743;42:514-521.
3. Keith A. The anatomical and physiological principles underlying the treatment of injuries to muscles, nerves, bones & joints. London: H. Frowde, Oxford University Press; 1919. The origin of our knowledge concerning articular cartilage in health and disease: sayfa 290-303.
4. Paget J. Healing of cartilage. Classics of orthopaedics. Philadelphia: Lippincott; 1976. sayfa 276-277.
5. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage Part II: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. J Bone Joint Surg Am 1997;79:612-632.
6. Mow VC, Setton LA, Guilak F, Ratcliff A. Mechanical factors in articular cartilage and their role in osteoarthritis. Osteoarthritic disorders. Rosemont, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons; 1995. sayfa 147-171.
7. Buckwalter JA, Mow VC, Hunziker EB. Concepts of cartilage repair in osteoarthritis. Osteoarthritis: diagnosis and medical/surgical management. Philadelphia: WB Saunders; 2001. sayfa 101-114.
8. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage. Part I: Tissue design and chondrocyte-matrix interactions. J Bone Joint Surg Am 1997;79:600-611.

- 9.** Salter RB. Continuous passive motion: a biological concept for the healing and regeneration of articular cartilage, ligaments and tendons. Baltimore: Williams and Wilkins; 1993. sayfa 419.
- 10.** Elder SH, Kimura JH, Soslowsky LJ, Lavagnino M, Goldstein SA. Effect of compressive loading on chondrocyte differentiation in agarose cultures of chick limb-bud cells. *J Orthop Res* 2000;18:78-86.
- 11.** Ragan PM, Badger AM, Cook M, Chin VI, Gowen M, Grodzinsky AJ, Lark MW. Down-regulation of chondrocyte aggrecan and type-II collagen gene expression correlates with increases in static compression magnitude and duration. *J Orthop Res* 1999;17:836-842.
- 12.** Heegaard JH, Beaupré GS, Carter DR. Mechanically modulated cartilage growth may regulate joint surface morphogenesis. *J Orthop Res* 1999;17:509-517.
- 13.** Peterson L. Articular cartilage injuries treated with autologous chondrocyte transplantation in the human knee. *Acta Orthop Belg* 1996;62(suppl 1):196-200.
- 14.** Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 1994;331:889-895.
- 15.** Pelletier JP, Caron JP, Evans C, Robbins PD, Georgescu HI, Jovanovic D, Fernandes JC, Martel-Pelletier J. In vivo suppression of early experimental osteoarthritis by interleukin-1 receptor antagonist using gene therapy. *Arth Rheum* 1997;40:1012-1019.

- 16.** Doherty PJ, Zhang H, Tremblay L, Manolopoulos V, Marshall KW. Resurfacing of articular cartilage explants with genetically-modified human chondrocytes in vitro. *Osteoarthritis Cartilage* 1998;6:153-159.
- 17.** Goldring MB. Anticytokine therapy for osteoarthritis. *Expert Opin Biol Ther* 2001;5:817-829.
- 18.** Gouze JN, Ghivizzani SC, Gouze E, Palmer GD, Betz OB, Robbins PD, Evans CH, Herndon JH. Gene therapy for rheumatoid arthritis. *Hand Surg* 2001; 6:211-219.
- 19.** Elves MW. A study of the transplantation antigens on chondrocytes from articular cartilage. *J Bone Joint Surg Br* 1974;56:178-185.
- 20.** Moskalewski S, Kawiak J, Rymaszewska T. Local cellular response evoked by cartilage formed after auto- and allogeneic transplantation of isolated chondrocytes. *Transplantation* 1966;4:572-581.
- 21.** Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, Young RG, Mansour JM, Caplan AI, Goldberg VM Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76:579–592.
- 22.** Grande DA, Southerland SS, Manji R, Pate DW, Schwartz RE, Lucas PA Repair of articular cartilage defects using mesenchymal stem cells. *Tissue Eng* 1995;1:345–350.
- 23.** Yoshimura H, Muneta T, Nimura A, Yokoyama A, Koga H, Sekiya I. Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue and muscle. *Cell Tissue Res* 2007;327:449-461.

- 24.** Kurth T, Hedborn E, Shintani N, Sugimoto M, Chen FH, Haspl M, Martinovic S, Hunziker EB. Chondrogenic potential of human synovial mesenchymal stem cells in alginate. *OsteoArthritis and Cartilage* 2007;15:1178-1189.
- 25.** Miyamoto A, Deie M, Yamasaki T, Nakamae A, Shinomiya R, Adachi N, Ochi M. The role of synovium in repairing cartilage defects. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2007;15:1083-1093.
- 26.** Miura Y, Parvizi J, Fitzsimmons JS, O'Driscoll SW. Brief exposure to high dose transforming growth factor-beta1 enhances periosteal chondrogenesis in vitro. *J Bone and Joint Surg Am* 2002;84:793-799.
- 27.** Schmitt B, Ringe J, Haupl T, Notter M, Manz R, Burmester GR, Sittinger M, Kaps G. BMP2 initiates chondrogenic lineage development of adult human mesenchymal stem cells in high density culture. *Differentiation* 2003;71:567-577.
- 28.** Worster AA, Nixon AJ, Brower-Toland BD, Williams J. Effect of transforming growth factor beta1 on chondrogenic differentiation of cultured equine mesenchymal stem cells. *Am J Vet. Res* 2000;61:1003-1010.
- 29.** Hegewald AA, Ringe J, Bartel J, Krüger I, Notter M, Barnewitz D, Kaps C, Sittinger M. Hyaluronic acid and autologous synovial fluid induce chondrogenic differentiation of equine mesenchymal stem cells: a preliminary study. *Tissue and Cell* 2004;36:431-438.
- 30.** Caplan AI, Bruder SP. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21th century. *Trends Mol Med* 2001;7:259-264.

- 31.** Chen J, Wang C, Lü S, Wu J, Guo X, Duan C, Dong L, Song Y, Zhang J, Jing D, Wu L, Ding J, Li D. In vivo chondrogenesis of adult bone-marrow-derived autologous mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Res* 2005;319:419-438.
- 32.** Shirasawa S, Sekiya I, Sakaguchi Y, Yagishita K, Ichinose S, Muneta T. In Vitro Chondrogenesis of Human Synovium-Derived Mesenchymal Stem Cells: Optimal Condition and Comparison With Bone Marrow-Derived Cells. *Journal of Cellular Biochemistry* 2006;97:84-97.
- 33.** Jo CH, Ahn HJ, Kim HJ, Seong SC, Lee MC. Surface characterization and chondrogenic differentiation of mesenchymal stromal cells derived from synovium. *Cytotherapy* 2007;9:316-327.
- 34.** Bernstein MA. Osteochondritis dissecans *J Bone Joint Surg* 1925;7:319.
- 35.** Milgram JW. The classification of loose bodies in human joints. *Clin Orthop and Rel Res* 1977;124:282-291.
- 36.** Barrie HJ *J Pathol*. 1978 Intra-articular loose bodies regarded as organ cultures in vivo. *J Pathol* 1978;125:163-169.
- 37.** Saotome K, Tamai K, Koguchi Y, Sakai H, Yamaguchi T. Growth potential of loose bodies: an immunohistochemical examination of primary and secondary synovial osteochondromatosis. *Journal of Orthopaedic Research* 1999;17:73-79.
- 38.** Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology* Appleton and Lange, 1995, Eighth Edition, sayfa 124-131.

- 39.** Mankin HJ. The response of articular cartilage to mechanical injury. *J Bone Joint Surg Am* 1982;64:460-466.
- 40.** Stockwell RA. Cartilage failure in osteoarthritis: Relevance of normal structure and function. A review. *Clinical Anatomy* 1991;4:161-191.
- 41.** Hall AC, Horwitz ER, Wilkins RJ. The cellular physiology of articular cartilage. *Exp Physiol* 1996;81:535-545.
- 42.** Miller MD. *Review of Orthopaedics Fifth Edition* Saunders Elsevier, 2008; sayfa 39.
- 43.** Ulrich-Vinther M, Maloney MD, Schwarz EM, Rosier R, O'Keefe RJ. Articular Cartilage Biology. *J Am Acad Orthop Surg* 2003;11:421-430.
- 44.** Browne JE, Branch TP. Surgical alternatives for treatment of articular cartilage lesions. *J Am Acad Orthop Surg* 2000;8:180-189.
- 45.** Wakitani S, Kawaguchi A, Tokuhara Y, Takaoka K. Present status and future direction for articular cartilage repair. *J Bone Miner Metab* 2008;26:115-122.
- 46.** De Bari C, Dell'Accio F, Tyzanowski P, Luyten FP. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis Rheum* 2001;44:1928-1942.
- 47.** Williams GM, Klisch SM, Sah, RL. Bioengineering cartilage growth, maturation and form. *Pediatric Research* 2008;63:527-534.
- 48.** Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology* Appleton and Lange, 1995, Eighth Edition, sayfa 148-150.

- 49.** Prockop DJ. Further proof of the plasticity of adult stem cells and their role in tissue repair. *J Cell Biol* 2003;160:807-809.
  
- 50.** Nishimura K, Solchaga LA, Caplan AI, Yoo JU, Goldberg VM, Johnstone B. Chondroprogenitor cells of synovial tissue. *Arthritis Rheum* 1999;42:2631-2637.
  
- 51.** Recht MP, Kramer J, Marcelis S, Pathria MN, Trudell D, Haghighi P, Sartoris DJ, Resnick D. Abnormalities of articular cartilage in the knee: analysis of available MR techniques. *Radiology* 1993;187:473-478.
  
- 52.** Potter HG, Linklater JM, Allen AA, Hannafin JA, Haas SB. Magnetic resonance imaging of articular cartilage in the knee. An evaluation with use of fast-spin-echo imaging. *J Bone Joint Surg Am* 1998;80:1276-1284.
  
- 53.** Curl WW, Krome J, Gordon ES, Rushing J, Smith BP, Poehling GG. Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy* 1997;13:456-460.
  
- 54.** Outerbridge RE. The etiology of chondromalacia patellae. *J Bone joint Surg Br* 1961;43:752-757.
  
- 55.** Bauer M, Jackson RW. Chondral lesions of the femoral condyles: a system of arthroscopic classification. *Arthroscopy* 1988;4:97–102.
  
- 56.** Brittberg M, Peterson L, Sjögren-Jansson E, Tallheden T, Lindahl A. Articular cartilage engineering with autologous chondrocyte transplantation. A review of recent developments. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85(Suppl 3):109-115.
  
- 57.** [http://www.cartilage.org/\\_files/contentmanagement/ICRS\\_evaluation.pdf](http://www.cartilage.org/_files/contentmanagement/ICRS_evaluation.pdf)

- 58.** Buckwalter JA. Articular cartilage: injuries and potential for healing. *J Orthop Sports Phys Ther* 1998;28:192-202.
- 59.** Hunziker EB, Rosenberg LC. Repair of partial-thickness defects in articular cartilage: cell recruitment from the synovial membrane. *J Bone Joint Surg Am* 1996;78:721-733.
- 60.** Hunziker EB. Growth-factor-induced healing of partial-thickness defects in adult articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2001;9:22-32.
- 61.** Redman SN, Oldfield SF, Archer CW. Current strategies for articular cartilage repair. *European cells and materials* 2005;9:23-32.
- 62.** Ochi M, Uchio Y, Tobita M, Kuriwaka M. Current concepts in tissue engineering technique for repair of cartilage defect. *Artificial organs* 2001;25:172-179.
- 63.** O'Driscoll SW. The healing and regeneration of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1998;80:1795-1812.
- 64.** Martin JA, Buckwalter JA. The role of chondrocyte senescence in the pathogenesis of osteoarthritis and in limiting cartilage repair. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85(Suppl 2):106-110.
- 65.** Namba RS, Mouth M, Sullivan KM, Le AX, Adzick NS. Spontaneous repair of superficial defects in articular cartilage in a fetal lamb model. *J Bone Joint Surg Am* 1998;80:4-10.
- 66.** Tognana E, Chen F, Padera RF, Leddy HA, Christensen SE, Guilak F, Vunjak-Novakovic G, Freed LE. Adjacent tissues (cartilage, bone) affect the functional integration of engineered calf cartilage in vitro. *Osteoarthritis Cartilage* 2005;13:129-138.

- 67.** Årøen A, Løken S, Heir S, Alvik E, Ekeland A, Granlund OG, Engebretsen L. Articular Cartilage Lesions in 993 Consecutive Knee Arthroscopies. *Am J Sports Med* 2004;32:211-215.
- 68.** Hardaker WT Jr, Garrett WE Jr, Bassett FH Evaluation of acute traumatic hemarthrosis of the knee joint. *South Med J* 1990;83:640–644.
- 69.** Bredella MA, Tirman PF, Peterfy CG, Zarlingo M, Feller JF, Bost FW, Belzer JP, Wischer TK, Genant HK. Accuracy of T2-weighted fast spin-echo MR imaging with fat saturation in detecting cartilage defects in the knee: comparison with arthroscopy in 130 patients. *Am J Roentgenol* 1999;172:1073–1080.
- 70.** Bouwmeester SJ, Kuijer R, Homminga GN, Bulstra SK, Geesink RG. A retrospective analysis of two independent prospective cartilage repair studies: autogenous perichondrial grafting versus subchondral drilling 10 years post-surgery. *J Orthop Res* 2002;20:267–273.
- 71.** Peterson L, Minas T, Brittberg M, Lindahl A. Treatment of osteochondritis dissecans of the knee with autologous chondrocyte transplantation: results at two to ten years. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85(suppl 2):17–24.
- 72.** Saris DB, Dhert WJ, Verbout AJ. Joint homeostasis. The discrepancy between old and fresh defects in cartilage repair. *J Bone Joint Surg Br* 2003;85:1067–1076.
- 73.** Recht M, Bobic V, Burstein D, Disler D, Gold G, Gray M, Kramer J, Lang P, McCauley T, Winalski C. Magnetic resonance imaging of articular cartilage. *Clin Orthop Relat Res* 2001;391(Supp 1):379-396.

- 74.** Karpie JC, Chu CR. Imaging of articular cartilage. Oper Tech Orthop 2006;16:279-285.
- 75.** Khan IM, Gilbert SJ, Singhrao SK, Duance VC, Archer CW. Cartilage integration: Evaluation of the reasons for failure of integration during cartilage repair. A review. European cells and materials 2008;16:26-39.
- 76.** Jansen EJ, Emans PJ, Van Rhijn LW, Bulstra SK, Kuijer R. Development of partial-thickness articular cartilage injury in a rabbit model. Clin Orthop Relat Res 2008;466:487-494.
- 77.** Canale & Beaty. Campbell's Operative Orthopaedics 11th Edition 2008; sayfa 2554-2555.
- 78.** Outerbridge HK, Outerbridge AR, Outerbridge RE. The use of a lateral patellar autologous graft for the repair of a large osteochondral defect in the knee. J Bone Joint Surg Am 1995;77:65-72.
- 79.** Steadman JR, Briggs KK, Rodrigo JJ, Kocher MS, Gill TJ, Rodkey WG. Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up. Arthroscopy 2003;19:477-484.
- 80.** Hangody L, Vasarhelyi G, Hangody LR, Sükösd Z, Tibay G, Bartha L, Bodo G. Injury 2008;39:32-39.
- 81.** Brief AA, Maurer SG, Di Cesare PE. Use of glucosamine and chondroitin sulfate in the management of osteoarthritis. J Am Acad Orthop Surg 2001;9:71-78.
- 82.** Adcocks C, Collin P, Buttle DJ. Catechins from green tea (*Camellia sinensis*) inhibit bovine and human cartilage proteoglycan and type II collagen degradation in vitro. J Nutr 2002;132:341-346.

- 83.** Watterson JR, Esdaile JM. Viscosupplementation: Therapeutic Mechanisms and Clinical Potential in Osteoarthritis of the Knee J Am Acad Orthop Surg 2000;8:277-284.
- 84.** Takahashi K, Hashimoto S, Kubo T, Hirasawa Y, Lotz M, Amiel D. Effect of hyaluronan on chondrocyte apoptosis and nitric oxide production in experimentally induced osteoarthritis. J Rheumatol 2000;27:1713-1720.
- 85.** Takahashi K, Hashimoto S, Kubo T, Hirasawa Y, Lotz M, Amiel D. Hyaluronan suppressed nitric oxide production in the meniscus and synovium of rabbit osteoarthritis model. J Orthop Res 2001;19:500-503.
- 86.** Lippiello L, Nardo JV, Harlan R, Chiou T. Metabolic effects of avocado/soy unsaponifiables on articular chondrocytes. Evid Based Complement Alternat Med 2008;5:191-197.
- 87.** Heybeli N, Doral MN, Atay OA, Leblebicioğlu G, Uzümcügil A. Intra-articular sodium hyaluronate injections after arthroscopic debridement for osteoarthritis of the knee: a prospective, randomized, controlled study. Acta Orthop Traumatol Turc 2008;42:221-227.
- 88.** Doral MN, Bozkurt M, Atay ÖA, Tetik O. Other arthroscopic procedures for the treatment of chondral injuries of the knee joint. Acta Orthop Traumatol Turc 2007;41(Suppl 2):93-97.
- 89.** Doral MN, Atik OŞ, Laleli Y, Korkusuz F. Gonartrozda artroskopik “wash-out” ve immünolojik denge. Acta Orthop Traumatol Turc 1988;22:74-75.

- 90.** Jackson RW, Dieterichs C. The results of arthroscopic lavage and debridement of osteoarthritic knees based on the severity of degeneration: a 4- to 6-year symptomatic follow-up. *Arthroscopy* 2003;19:13-20.
- 91.** Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. *Clin Orthop Relat Res* 2001;391(Suppl 1):362-369.
- 92.** Matsusue Y, Yamamuro T, Hama H. Arthroscopic osteochondral transplantation to the chondral defect in the knee associated with anterior cruciate ligament disruption. *Arthroscopy* 1993;9:318-321.
- 93.** Hangody L, Rathonyi GK, Duska Z, Vasarhelyi G, Fules P, Modis L. Autologous osteochondral mosaicplasty. Surgical technique. *J Bone Joint Surg Am* 2004;86:65-72.
- 94.** Carranza-Bencano A, Perez-Tinao M, Ballesteros-Vasquez P. Comparative study of the reconstruction of articular cartilage defects with free costal perichondrial grafts and free tibial periosteal grafts: an experimental study on rabbits. *Calcif Tissue Int* 1999;65:402-407.
- 95.** Carranza-Bencano A, Garcia-Paino L, Armas-Padron JR, Cayuela Dominguez A. Neochondrogenesis in repair of fullthickness cartilage defects using free autogenous periosteal grafts in the rabbit. A follow-up in six months. *Osteoarthritis Cartilage* 2000;8:351-358.
- 96.** Curtin, WA, Reville, WJ, Brady MP. Quantitative and morphological observations on the ultrastructure of articular tissue generated from free periosteal grafts. *J. Electron Microsc* 1992;41:82-90.
- 97.** Bouwmeester S, Beckers J. Long-term results of rib perichondrial grafts for repair of cartilage defects in the human knee. *Int Orthop* 1997;21:313-317.

- 98.** Chesterman PJ, Smith AU Homotransplantation of articular cartilage and isolated chondrocytes. *J Bone Joint Surg Br* 1968;50:184-197.
- 99.** Wakitani S, Kimura T, Hirooka A, Ochi T, Yoneda M, Yasui N, Owaki H, Ono K Repair of articular surfaces with allograft chondrocytes embedded in collagen gel. *J Bone Joint Surg Br* 1989;71:74-80.
- 100.** Peterson L, Menche D, Grande D. Chondrocyte transplantation -an experimental model in the rabbit-. *Trans Orthop Res Soc* 1984;9:218.
- 101.** Grande DA, Pitman MI, Peterson L, Menche D, Klein M. The repair of experimentally produced defects in rabbit articular cartilage by autologous chondrocyte transplantation. *J Orthop Res* 1989;7:208-218.
- 102.** Bi Y, Ehirchiou D, Kilts TM, Inkson CS, Embree MC, Sonoyama W, Li L, Leet AI, Seo BM, Zhang L, Shi S, Young MF. Identification of tendon stem/progenitor cells and the role of the extracellular matrix in their niche. *Nat Med* 2007;13:1219-1227.
- 103.** Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143-147.
- 104.** Deasy BM, Jankowski RJ, Huard J. Muscle-derived stem cells: characterization and potential for cell-mediated therapy. *Blood Cells Mol Dis* 2001;27:924-933.
- 105.** Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, Benhaim P, Lorenz HP, Hedrick MH. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001;7:211-228.

- 106.** Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000;287:1433-1438.
- 107.** Alison M, Sarraf C. Hepatic stem cells. *J Hepatol* 1998;29:676-682.
- 108.** Sakaguchi Y, Sekiya I, Yagishita K, Muneta T. Comparison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues: superiority of synovium as a cell source. *Arthritis Rheum* 2005;52:2521-2529.
- 109.** Mochizuki T, Muneta T, Sakaguchi Y, Nimura A, Yokoyama A, Koga H, Sekiya I. Higher chondrogenic potential of fibrous synovium- and adipose synovium-derived cells compared with subcutaneous fat-derived cells: distinguishing properties of mesenchymal stem cells in humans. *Arthritis Rheum* 2006;54:843–853.
- 110.** Laurencin CT, Ambrosio AMA, Borden MD, Cooper JA. Tissue engineering: orthopedic applications. *Annu Rev Biomed Eng* 1999;1:19–46.
- 111.** Hoque, ME, Hutmacher, DW, Feng W, Li S, Huang MH, Vert M, Wong YS. Fabrication using a rapid prototyping system and in vitro characterization of PEG-PCL-PLA scaffolds for tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed* 2005;16:1595–1610.
- 112.** Swieszkowski W, Tuan BHS, Kurzydowski KJ, Hutmacher DW. Repair and regeneration of osteochondral defects in the articular joints. *Biomolecular Engineering* 2007;24:489–495.
- 113.** Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991;9:641–650.
- 114.** Roufosse CA, Direkze NC, Otto WR, Wright NA. Circulating mesenchymal stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36:585–597.

- 115.** Barry FP. Biology and clinical applications of mesenchymal stem cells. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2003;69:250–256.
- 116.** Salter RB. The biologic concept of continuous passive motion of synovial joints. The first 18 years of basic research and its clinical application. *Clin Orthop Relat Res* 1989;242:12-25.
- 117.** Yang KG, Saris DB, Verbout AJ, Creemers LB, Dhert WJ. The effect of synovial fluid from injured knee joints on in vitro chondrogenesis. *Tissue Eng* 2006;12:2957-2964.
- 118.** Yamane S, Reddi AH. Induction of chondrogenesis and superficial zone protein accumulation in synovial side population cells by BMP-7 and TGF-beta1. *J Orthop Res* 2008;26:485-492.
- 119.** Trippel S. Growth factor actions on articular cartilage. *J Rheumatol* 1995;22:129–131.
- 120.** DeLise AM, Fischer L, Tuan RS. Cellular interactions and signaling in cartilage development. *Osteoarthritis Cartilage* 2000;8:309–334.
- 121.** Doral MN, Uzumcugil A, Bozkurt M, Atay OA, Cil A, Leblebicioglu G, Tetik O. Arthroscopic treatment of synovial chondromatosis of the ankle. *J Foot Ankle Surg* 2007;46:192-195.
- 122.** Frenkel SR, Di Cesare PE. Scaffolds for articular cartilage repair. *Ann Biomed Eng* 2004;32:26-34.
- 123.** Martin I, Miot S, Barbero A, Jakob M, Wendt D. Osteochondral tissue engineering. *J Biomech* 2007;40:750-765.

- 124.** Marcacci M, Kon E, Zaffagnini S. Arthroscopic second generation autologous chondrocyte implantation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2007;15:610–619.
- 125.** Hettrich CM, Crawford D, Rodeo SA. Cartilage repair: third-generation cell-based technologies--basic science, surgical techniques, clinical outcomes. *Sports Med Arthrosc* 2008;16:230-235.
- 126.** Kessler MW, Ackerman G, Dines JS, Grande D. Emerging technologies and fourth generation issues in cartilage repair. *Sports Med Arthrosc* 2008;16:246-254.
- 127.** Kon E, Delcogliano M, Filardo G, Montaperto C, Marcacci M. Second generation issues in cartilage repair. *Sports Med Arthrosc* 2008;16:221-229.
- 128.** Behrens P, Bitter T, Kurz B, Russlies M. Matrix-associated autologous chondrocyte transplantation/implantation (MACT/MACI) - 5 year follow-up. *Knee* 2006;13:194-202.
- 129.** Freed LE, Marquis JC, Nohria A. Neocartilage formation in vitro and in vivo using cells cultured on synthetic biodegradable polymers. *J Biomed Mater Res* 1993;27:11-23.
- 130.** Hendrickson DA, Nixon AJ, Grande DA. Chondrocyte-fibrin matrix transplants for resurfacing extensive articular cartilage defects. *J Orthop Res* 1994;12:484-497.
- 131.** Tuli R, Li WJ, Tuan RS. Current state of cartilage tissue engineering. *Arthritis Res Ther* 2003;5:235-238.

- 132.** Barnes CP, Sell SA, Boland ED, Simpson DG, Bowlin GL. Nanofiber technology: designing the next generation of tissue engineering scaffolds. *Adv Drug Deliv Rev* 2007;59:1413-1433.
- 133.** Geutjes PJ, Daamen WF, Buma P, Feitz WF, Faraj KA, van Kuppevelt TH. From molecules to matrix: construction and evaluation of molecularly defined bioscaffolds. *Adv Exp Med Biol* 2006;585:279-295.
- 134.** Kim H, Zaffagnini S, Mizuno S. A peek into the possible future of management of articular cartilage injuries: gene therapy and scaffolds for cartilage repair. *J Orthop Sports Phys Ther* 2006;36:765-773.
- 135.** Kim TK, Park JS, Lee MC. Alternative splicing of type II procollagen gene in the dedifferentiation of rat epiphyseal chondrocytes serially cultured in monolayer. *Connect Tissue Res* 2002;43:56-62.
- 136.** Schnabel M, Marlovits S, Eckhoff G. Dedifferentiation associated changes in morphology and gene expression in primary human articular chondrocytes in cell culture. *Osteoarthritis Cartilage*. 2002;10:62-70.
- 137.** Benya PD, Shaffer JD. Dedifferentiated chondrocytes reexpress the differentiated collagen phenotype when cultured in agarose gels. *Cell* 1982;30:215-224.
- 138.** Bonaventure J, Kadhom N, Cohen-Solal L. Reexpression of cartilage-specific genes by dedifferentiated human articular chondrocytes cultured in alginate beads. *Exp Cell Res* 1994;212:97-104.
- 139.** Grande DA, Mason J, Light E. Stem cells as platforms for delivery of genes to enhance cartilage repair. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85(suppl 2):111-116.

- 140.** Evans CH, Robbins PD, Ghivizzani SC. Clinical trial to assess the safety, feasibility, and efficacy of transferring a potentially anti-arthritis cytokine gene to human joints with rheumatoid arthritis. *Hum Gene Ther* 1996;7:1261-1280.
- 141.** Evans CH, Gouze JN, Gouze E. Osteoarthritis gene therapy. *Gene Ther* 2004;11:379-389.
- 142.** Chen AC, Nagrampa JP, Schinagl RM, Lottman LM, Sah RL. Chondrocyte transplantation to articular cartilage explants in vitro. *J Orthop Res* 1997;15: 791-802.
- 143.** Steinert AF, Nöth U, Tuan RS. Concepts in gene therapy for cartilage repair. *Injury* 2008;39:97-113.
- 144.** Di Cesare PE, Frenkel SR, Carlson CS. Regional gene therapy for full-thickness articular cartilage lesions using naked DNA with a collagen matrix. *J Orthop Res* 2006;24:1118-1127.
- 145.** Hidaka C, Goodrich LR, Chen CT. Acceleration of cartilage repair by genetically modified chondrocytes over expressing bone morphogenetic protein-7. *J Orthop Res* 2003;21:573-583.
- 146.** Madry H, Kaul G, Cucchiaroni M. Enhanced repair of articular cartilage defects in vivo by transplanted chondrocytes overexpressing insulin-like growth factor I (IGF-I). *Gene Ther* 2005;2:1171-1179.
- 147.** Lee KH, Song SU, Hwang TS. Regeneration of hyaline cartilage by cell-mediated gene therapy using transforming growth factor beta 1-producing fibroblasts. *Hum Gene Ther* 2001;12:1805-1813.

- 148.** Yokoo N, Saito T, Uesugi M. Repair of articular cartilage defect by autologous transplantation of basic fibroblast growth factor gene-transduced chondrocytes with adeno-associated virus vector. *Arthritis Rheum* 2005; 52:164-170.
- 149.** Blunk T, Sieminski AL, Gooch KJ, Courter DL, Hollander AP, Nahir AM, Langer R, Vunjak-Novakovic G, Freed LE. Differential effects of growth factors on tissue-engineered cartilage. *Tissue Eng* 2002;8:73-84.
- 150.** Pei M, Seidel J, Vunjak-Novakovic G, Freed LE. Growth factors for sequential cellular de- and redifferentiation in tissue engineering. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;294:149-154.
- 151.** Gooch KJ, Blunk T, Courter DL, Sieminski AL, Vunjak-Novakovic G, Freed LE. Bone morphogenetic proteins-2, -12, and -13 modulate in vitro development of engineered cartilage. *Tissue Eng* 2002;8:591-601.
- 152.** Nixon AJ, Goodrich LR, Scimeca MS, Witte TH, Schnabel LV, Watts AE, Robbins PD. Gene therapy in musculoskeletal repair. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1117:310-327.
- 153.** Rand, JA, Ilstrup, DM. Survivorship analysis of total knee arthroplasty. Cumulative rates of survival of 9200 total knee arthroplasties. *J Bone Joint Surg Am* 1991;73:397-409.
- 154.** Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1993;75:532-553.
- 155.** Engkvist O, Wilander E. Formation of cartilage from rib perichondrium grafted to an articular defect in the femur condyle of the rabbit. *Scandinavian J Plast Reconstr Surg* 1979;13:371-376.

- 156.** Engkvist O, Johansson SH. Perichondrial arthroplasty. A clinical study in twenty-six patients. *Scandinavian J Plast Reconstr Surg* 1980;14:71-87.
- 157.** Fell HB. The osteogenic capacity in vitro of periosteum and endosteum isolated from the limb skeleton of fowl embryos and young chicks. *J Anat* 1932; 66:157-180.
- 158.** Fitzsimmons, JS, O'Driscoll SW. Technical experience is important in harvesting periosteum for chondrogenesis. *Trans Orthop Res Soc* 1998;23:914.
- 159.** Chang RW, Falconer J, Stulberg SD, Arnold WJ, Manheim LM, Dyer AR. A randomised controlled trial of arthroscopic surgery versus closed-needle joint lavage for patients with osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 1993;36:289-296.
- 160.** Shannon FJ, Devit AT, Poynton AR, Fitzpatrick P, Walsh MG. Short-term benefit of arthroscopic wash-out in degenerative arthritis of the knee. *Int Orthop* 2001;25:242-245.
- 161.** Pridie KH A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg Br* 1959;41:618-619.
- 162.** Altman RD, Kates J, Chun LE, Dean DD, Eyre D. Preliminary observations of chondral abrasion in a canine model. *Ann Rheumat Dis* 1992;51:1056-1062.
- 163.** Johnson LL, Arthroscopic abrasion arthroplasty historical and pathological perspective: present status. *Arthroscopy* 1986;2:54-69.

- 164.** Knutsen G, Engelbretsen L, Ludvigsen TC, Drogset JO, Gronvedt T, Solheim E, Strand T, Roberts S, Isaksen V, Johansen O. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomised trial. *J Bone Joint Surg Am* 2004;86:455-464.
- 165.** Chow JC, Hantes ME, Houle JB, Zalavras CG. Arthroscopic autogenous osteochondral transplantation for treating knee cartilage defects: A 2- to 5-year follow-up study. *Arthroscopy* 2004;20:681-690.
- 166.** Horas U, Pelinkovic D, Herr G, Aigner T, Schnettler R. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85:185-192.
- 167.** Huntley JS, Bush PG, McBirnie JM, Simpson AH, Hall AC. Chondrocyte death associated with human femoral osteochondral harvest as performed for mosaicplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:351-360.
- 168.** Bobic V, Morgan C, Carter T. Osteochondral autologous graft transfer. *Oper Technol Sports Med* 2000;8:168-178.
- 169.** Tomford WW, Springfield DS, Mankin HJ. Fresh and frozen articular cartilage allografts. *Orthopedics* 1992;15:1183-1188.
- 170.** Stevenson S. The immune response to osteochondral allografts in dogs. *J Bone Joint Surg Am* 1987;69:573-582.
- 171.** Langer F, Gross AE, West M, Urovitz EP. The immunogenicity of allograft knee joint transplants. *Clin Orthop* 1978;132:155-162.

- 172.** Sargon MF, Mas N, Şenan S, Özdemir B, Çelik HH, Cumhuri M. Quantitative analysis of myelinated axons of commissural fibers in the rat brain. *Anat Histol Embryol* 2003;32:141-144.
- 173.** Sargon MF, Çelik HH, Kapakın S, Başar R, Aksit MD. Quantitative analysis of myelinated axons of commissural fibers in the cat brain. *Neurosciences* 2004;9:447-451.
- 174.** Sargon MF, Çelik HH, Akşit, MD, Karaağaoğlu E. Quantitative analysis of myelinated axons of corpus callosum in the human brain. *Intern J Neuroscience* 2007;117:749-755.
- 175.** Angermann P, RiegelsNielsen P, Pedersen H. Osteochondritis dissecans of the femoral condyle treated with periosteal transplantation-poor outcome in 14 patients followed for 6-9 years. *Acta Orthop Scand* 1998;69:595-597.
- 176.** Kawabe N, Yoshinao M. The repair of full-thickness articular cartilage defects. Immune responses to reparative tissue formed by allogeneic growth plate chondrocyte implants. *Clin. Orthop.* 1991;268:279-293.
- 177.** Peterson L, Brittberg M, Kiviranta I. Autologous chondrocyte transplantation. Biomechanics and long-term durability. *Am J Sports Med* 2002;30:2-12.
- 178.** Micheli LJ, Browne JE, Erggelet C. Autologous chondrocyte implantation of the knee: multicenter experience and minimum 3-year follow up. *Clin J Sport Med* 2001;11:223-228.
- 179.** Minas T. Chondrocyte implantation in the repair of chondral lesions of the knee: economics and quality of life. *Am J Orthop* 1998;27:739-744.

- 180.** Browne JE, Anderson AF, Arciero R. Clinical outcome of autologous chondrocyte implantation at 5 years in US subjects. *Clin Orthop Relat Res* 2005;436:237-245.
- 181.** Bentley G, Biant LC, Carrington RWJ, Akmal M, Goldberg M, Williams AM, Skinner JA, Pringle J A prospective, randomized comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J Bone Joint Surg Br* 2003;85:223-230.
- 182.** Clar C, Cummins E, McIntyre L, Thomas S, Lamb J, Bain L, Jobanputra P, Waugh N. Clinical and cost-effectiveness of autologous chondrocyte implantation for cartilage defects in knee joints: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2005;9:1-82.
- 183.** Von der Mark K, Gauss V, Von der mark H. Relationship between cell shape and type of collagen synthesized as chondrocytes lose their cartilage phenotype in culture. *Nature* 1977;267:531-532.
- 184.** Van Susante JL, Buma P, van Osch GJ. Culture of chondrocytes in alginate and collagen carrier gels. *Acta Orthop Scand* 1995;66:549-556.
- 185.** Grigolo B, Lisignoli G, Piacentini A. Evidence for redifferentiation of human chondrocytes grown on a hyaluronan based biomaterial (HYAff 11): molecular, immunohistochemical and ultrastructural analysis. *Biomaterials* 2002;23:1187-1195.
- 186.** Ochi M, Uchio Y, Kawasaki K. Transplantation of cartilagelike tissue made by tissue engineering in the treatment of cartilage defects of the knee. *J Bone Joint Surg Br* 2002;84:571-578.
- 187.** Kuo CK, Li WJ, Mauck RL, Tuan RS. Cartilage tissue engineering: its potential and uses. *Curr Opin Rheumatol* 2006;18:64-73.

- 188.** Marcacci M, Zaffagnini S, Kon E. Arthroscopic autologous chondrocyte transplantation: technical note. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2002;10:154-159.
- 189.** Gobbi A, Kon E, Berruto M, Francisco R, Filardo G, Marcacci M. Patellofemoral full-thickness chondral defects treated with Hyalograft-C: a clinical, arthroscopic and histologic review. *Am J Sports Med* 2006;34:1763-1773.
- 190.** van Beuningen HM, van der Kraan PM, Arntz OJ, van den Berg WB. Stimulation of osteophyte formation and cartilage proteoglycan synthesis by intra-articularly injected TGF- $\beta$ . *Orthop Trans* 1994;17:714-715.
- 191.** van Beuningen HM, van der Kraan PM, Arntz OJ, van den Berg WB. Transforming growth factor-beta 1 stimulates articular chondrocyte proteoglycan synthesis and induces osteophyte formation in the murine knee joint. *Lab Invest* 1994;71:279-290.
- 192.** van den Berg WB, van Osch GJ, van der Kraan PM, van Beuningen HM. Cartilage destruction and osteophytes in instability-induced murine osteoarthritis: role of TGF  $\beta$  in osteophyte formation? *Agents and Actions* 1993;40:215-219.
- 193.** Elford PR, Graeber M, Ohtsu H, Aeberhard M, Legendre B, Wishart WL, MacKenzie AR. Induction of swelling, synovial hyperplasia and cartilage proteoglycan loss upon intraarticular injection of transforming growth factor  $\beta$ -2 in the rabbit. *Cytokine* 1992;4:232-238.
- 194.** Lohmann CH, Schwartz Z, Niederauer GG. Pretreatment with platelet derived growth factor-BB modulates the ability of costochondral resting zone chondrocytes incorporated into PLA/PGA scaffolds to form new cartilage in vivo. *Biomaterials* 2000;21:49-61.

- 195.** Lu Y, Edwards RB, Nho S. Thermal chondroplasty with bipolar and monopolar radiofrequency energy: effect of treatment time on chondrocyte death and surface contouring. *Arthroscopy* 2002;18:779-788.
- 196.** Mastrogiacomo M, Cancedda R, Quarto R. Effect of different growth factors on the chondrogenic potential of human bone marrow stromal cells. *Osteoarthritis Cartilage* 2001;9(Suppl A):36-40.
- 197.** Garcia-Alvarez F, Castiella T, Grasa JM. Autologous platelets and articular surface repair in an experimental model. *J Orthop Sci* 2005;10:237-239.
- 198.** Uhl M, Lahm A, Bley TA, Haberstroh J, Mrosek E, Ghanem N, Erggelet C. Experimental autologous osteochondral plug transfer in the treatment of focal chondral defects: magnetic resonance imaging signs of technical success in sheep. *Acta Radiol* 2005;46:875-880.
- 199.** Allen RG, Burstein D, Gray ML. Monitoring glycosaminoglycan replenishment in cartilage explants with gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging. *J Orthop Res* 1999;17:430-436.
- 200.** Kiviranta P, Lammentausta E, Toyras J, Kiviranta I, Jurvelin JS. Indentation diagnostics of cartilage degeneration. *Osteoarthritis Cartilage* 2008;16:796-804.
- 201.** Hattori K, Takakura Y, Ishimura M. Quantitative arthroscopic ultrasound evaluation of living human cartilage. *Clin Biomech* 2004;19:213-216.

**202.** Hattori K, Takakura Y, Ohgushi H. Quantitative ultrasound can assess the regeneration process of tissue engineered cartilage using a complex between adherent bone marrow cells and a three-dimensional scaffold. *Arthritis Res Ther* 2005;7:552-559.

**203.** Wakitani S, Nawata M, Kawaguchi A, Okabe T, Takaoka K, Tsuchiya T, Nakaoka R, Masuda H, Miyazaki K. Serum keratan sulfate is a promising marker of early articular cartilage breakdown. *Rheumatology* 2007;46:1652-1656.

**204.** Kılıç E, Ceyhan T, Çetinkaya DU. İnsan kemik iliği kaynaklı mezenkimal stromal hücrelerin kıkırdak ve kemik hücrelerine farklılaşma potansiyelinin değerlendirilmesi. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2007;41:295-301.

**205.** Doral MN, Sener E. Deneysel gonartrozda diklofenak sodyumun artroskopik yıkama sıvısında uygulama sonuçları (Hayvan deneyi). *Acta Orthop Traumatol Turc* 1990;24:337-340.

**206.** Doral MN. Artroskopik yıkama sıvısında kullanılan kolşisin ve diklofenak sodyum'un diz eklemi erken dejeneratif artritindeki etkileri. *Acta Orthop Traumatol Turc* 1990;24:38-42.

**207.** Tetik O, Doral MN, Atay AO, Leblebicioğlu G. Influence of irrigation solutions combined with colchicine and diclofenac sodium on articular cartilage in a rat model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2004;12:503-509.

**208.** Müezzinoğlu S, Buluç L. The role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, oral preparations, and viscosupplementation in conservative treatment of cartilage lesions. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2007;41(Suppl 2):48-53.

- 209.** Sen C, Güneş T, Saygi B, Erdem M, Köseoğlu RD, Kiliç N. The chondroprotective effect of intra-articular hyaluronic acid at early stages of osteoarthritis: an experimental study in rabbits. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2004;38:348-352.
- 210.** Atay T, Aslan A, Baydar ML, Ceylan B, Baykal B, Kırdemir V. The efficacy of low- and high-molecular-weight hyaluronic acid applications after arthroscopic debridement in patients with osteoarthritis of the knee. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2008;42:228-233.
- 211.** Uluçay C, Altıntaş F, Ugutmen E, Beksaç B. The use of arthroscopic debridement and viscosupplementation in knee osteoarthritis. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2007;41:337-342.
- 212.** Haklar U, Tüzüner T, Kocaoğlu B, Güven O. Mosaicplasty technique in the treatment of osteochondral lesions of the knee. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2008;42:344-349.
- 213.** Güneş T, Sen C, Erdem M, Köseoğlu RD, Filiz NO. Combination of microfracture and periosteal transplantation techniques for the treatment of full-thickness cartilage defects. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2006;40:315-323.
- 214.** Özenci AM, Gür S, Aydın AT. Osteochondral allograft transplantation in the knee. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2007;41(Suppl 2):87-92.
- 215.** Köse GT, Korkusuz F, Ozkul A, Soysal Y, Ozdemir T, Yildiz C, Hasirci V. Tissue engineered cartilage on collagen and PHBV matrices. *Biomaterials* 2005;26:5187-5197.

- 216.** Cirpar M, Korkusuz F. The future of treatment for chondral and osteochondral lesions. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2007;41(Suppl 2):153-159.
- 217.** Eckstein F, Adam C, Sittek H, Becker C, Milz S, Schulte E, Reiser M, Putz R. Non-invasive determination of cartilage thickness throughout joint surfaces using magnetic resonance imaging. *J Biomech* 1997;30:285-289.
- 218.** Winalski CS, Alparslan L. Imaging of articular cartilage injuries of the lower extremity. *Semin Musculoskelet Radiol* 2008;12:283-301.
- 219.** Potter HG, Chong le R, Sneag DB. Magnetic resonance imaging of cartilage repair. *Sports Med Arthrosc* 2008;16:236-245.
- 220.** Potter HG, Black BR, Chong le R. New techniques in articular cartilage imaging. *Clin Sports Med* 2009;28:77-94.