



T.C

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

KAYSERİ ŞEHİR HASTANESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİĞİ

**TAVŞAN DİZ KIKIRDAK DEFECTİ MODELİNDE
STATİK MANYETİK ALANIN KIKIRDAK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Kadir TATLISU

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

KAYSERİ – 2020



T.C

SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

KAYSERİ ŞEHİR HASTANESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİğİ

**TAVŞAN DİZ KIKIRDAK DEFECTİ MODELİNDE
STATİK MANYETİK ALANIN KIKIRDAK İYİLEŞMESİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Kadir TATLISU

Tez Danışman: Doç. Dr. Fırat OZAN

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

KAYSERİ – 2020

TEŞEKKÜR

Kayseri Şehir Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniğinde almış olduğum uzmanlık eğitimi boyunca bilgi birikimlerini, tecrübe ve öngörülerini, anlayış ve sabır içinde benden esirgemeyen, uzman olarak yetişmemde büyük katkılarını gördüğüm, beni her zaman destekleyen değerli hocam Doç. Dr. Fırat OZAN'a derin saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi hazırlamamda yardımını esirgemeyen değerli arkadaşlarım abilerim Uzm. Dr. Ali Eray GÜNAY, Asist. Dr. Safa GÖK, Asist. Dr. Eyüp Can MAZLUM'a ve Asist. Dr. Muhammed MELEZ 'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Multidisipliner bir çalışmanın sonucu hazırlamış olduğum tez çalışmamda büyük emekleri olan, bilgilerini ve tecrübelerini benden esirgemeyen, Kayseri Şehir Hastanesi Patoloji Kliniğinden Doç. Dr. Hatice KARAMAN ve Asist. Dr.İpek ÖZER'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli uzman abilerime ve birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca beni her koşulda destekleyen ve bu günlere gelmemde en büyük paya sahip olan anneme babama ablama ve bu zorlu süreçte motivasyon ve desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen sevgili eşime teşekkür eder, sevgilerimi sunarım.

Dr. Kadir Tatlısu Kayseri, 2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR ve SİMGELER	iv
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL VE GRAFİK LİSTESİ	vii
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xi
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. EKLEM KIKIRDAĞI GENEL ÖZELLİKLERİ.....	3
2.2. EKLEM KIKIRDAĞI BİLEŞENLERİ.....	5
2.2.a. Kondrositler.....	5
2.2.b. Ekstraselüler Matriks	5
2.2.b.1 Kollajen.....	6
2.2.b.2 Proteoglikanlar	6
2.2.b.3 Kollajenöz Olmayan Proteinler ve Glikoproteinler	7
2.3. OSTEOKONDRAL LEZYON	7
2.3.a Osteokondral Lezyon Sınıflamaları.....	9
2.3.b Osteokondral Lezyon Tedavi Değerlendirilmesi	10
2.3.c Kıkırdak Hasarında Tedavi Yöntemleri	12
2.3.c.1 Artroskopik Debritleme	13
2.3.c.2 Spongialization.....	14
2.3.c.3 Kemik İliği Sitümulasyon Yöntemleri	14
2.3.c.4 Osteokondral Otolog Transferi (Mozaikplasti).....	15
2.3.c.5 Periost Grefti	17
2.3.c.6 Mikrokırık ve Matriks	18
2.3.c.7 Macun Greft	18
2.3.c.8 Otolog Kondrosit İmplantasyonu	18
2.3.c.9 Matriks Destekli Otolog Kondrosit İmplantasyonu	19
2.4. MANYETİK ALAN TEDAVİSİ.....	21
2.4.a Manyetik Alan Tedavi Uygulamaları.....	21
2.4.a.1 Statik Manyetik Alan Tedavisi.....	22

2.4.a.2 Pulsatif Manyetik Alan Tedavisi	22
2.4.b Manyetik Alanın Tıptaki Uygulama Alanları	22
2.4.c Manyetik Alanın Kıkırdak ve Kemiğe Etkileri	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	25
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	25
3.2. Anestezi ve Cerrahi İşlem	25
3.3. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu	31
3.4 Değerlendirme.....	32
3.4.a Makroskopik Değerlendirme.....	32
3.4.b Histolojik Değerlendirme.....	32
3.5 İstatistiksel Analiz.....	33
4.BULGULAR.....	34
4.1 Makroskopik Değerlendirme	34
4.2 Histolojik Değerlendirme.....	39
4.2.a. ICRS 1 Histolojik Skorlama.....	39
4.2.b. ICRS 2 Histolojik Skorlama	46
5.TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	64
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ.....	85

KISALTMALAR ve SİMGELER

ACI	: Otolog kondrosit implantasyonu Autologous chondrocyte implantation
BMP	: Kemik morfogenetik protein, Bone morphogenetic protein
BMSC	: Kemik iliği stromal hücresi, Bone morphogenetic stromal cell
ECM	: Ekstrasellüler matriks
EMA	: Elektromanyetik alan
GAG	: Glikozaminoglikan
HA	: Hyalüronik asit
ICRS	: Uluslararası Kıkırdak Araştırma Derneği, International Cartilage Repair Society
IGF-1	: İnsulin benzeri büyüme faktörü, İnsulin like growth factor
MACI	: Matriks destekli otolog kondrosit implantasyonu, Matrix autolog chondrocyte implantation
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
mT	: Mili Tesla
OOT	: Osteokondral otolog transferi (Mozaikplasti)
OKD	: Osteokondral defekt
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu, Polimeraz chain reaction
TGF- β , γ	: Dönüştürücü büyüme faktörü-beta, Transforming growth factor-beta
T	: Tesla

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Kıkırdakta bulunan kollajen tiplerinin yeri görevleri.....	6
Tablo 2.	ICRS artiküler kıkırdak evreleme sistemi	9
Tablo 3.	Outbridge sınıflaması	9
Tablo 4.	OCD’da Diapola ve ark. nın sınıflaması	9
Tablo 5.	ICRS makroskopik kıkırdak tamir değerlendirme skalası	11
Tablo 6.	ICRS 1 kıkırdak tamir değerlendirme skalası.....	11
Tablo 7.	ICRS 2 kıkırdak tamir değerlendirme skalası.....	12
Tablo 8.	Her iki grubun ICRS makroskopik değerlendirme skorunun toplam sonuçları	34
Tablo 9.	Her iki grubun ICRS makroskopik değerlendirme skorunun defekt onarım derecesi sonuçları.....	35
Tablo 10.	Her iki grubun ICRS makroskopik değerlendirme skorunun sınır bölgesine entegrasyon sonuçları.....	36
Tablo 11.	Her iki grubun ICRS makroskopik değerlendirme skorunun makroskopik görünüm sonuçları.....	37
Tablo 12.	Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun toplam sonuçları	39
Tablo 13.	Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun yüzey sonuçları	40
Tablo 14.	Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun matriks sonuçları	41
Tablo 15.	Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun hücre dağılımı sonuçları.....	42
Tablo 16.	Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun hücre popülasyonu canlılığı sonuçları.....	43
Tablo 17.	Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun subkondral kemik sonuçları	44
Tablo 18.	Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun kıkırdak mineralizasyonu (kalsifiye kıkırdak) sonuçları	45
Tablo 19.	Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun toplam sonuçları	46

Tablo 20. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun doku morfolojisi sonuçları	47
Tablo 21. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun metakromazi sonuçları	48
Tablo 22. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun hücre morfolojisi sonuçları	49
Tablo 23. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun kondrosit kümelenmesi sonuçları.....	50
Tablo 24. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun yüzey mimarisi sonuçları.....	51
Tablo 25. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun bazal integrasyon sonuçları.....	52
Tablo 26. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun tidemark formasyonu sonuçları	53
Tablo 27. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun subkondral kemik anomalisi sonuçları.....	54
Tablo 28. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun inflamasyon sonuçları	55
Tablo 29. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun anormal kalsifikasyon sonuçları.....	56
Tablo 30. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun vaskülarizasyon sonuçları	57
Tablo 31. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun yüzey değerlendirmesi sonuçları	58
Tablo 32. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun derin zon değerlendirmesi sonuçları	59
Tablo 33. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun genel değerlendirme sonuçları	60

ŞEKİL VE GRAFİK LİSTESİ

Şekil 1.	Artiküler kıkırdağın şematik temsili görüntüsü 1	4
Şekil 2.	Artiküler kıkırdağın şematik temsili görüntüsü 2	5
Şekil 3.	Eklem kıkırdağında gerçekleşen kısmi kalınlıkta ve subkondral bölgeye kadar penetre etmiş tam kalınlıkta hasarların şematik gösterimi	8
Şekil 4.	Histolojik kıkırdak skorlarının gelişim kronolojisi	10
Şekil 5.	Mikrokırık cerrahi görüntüsü	15
Şekil 6.	Mozaikplasti uygulama tekniği	17
Şekil 7.	Otolog Kondrosit İmplantasyonu Şematik Gösterimi	19
Şekil 8.	Matriks rehberi otolog kondrosit implantasyonu uygulama tekniği.....	21
Şekil 9.	Tavşan her iki dizinin traş ve boyanma sonrası, örtünme öncesi görüntüsü	27
Şekil 10.	Tavşanın sağ dizinin anterior uzunlamasına cilt insizyonu sonrası cerrahi görünümü.....	27
Şekil 11.	Patella laterale devrildikten sonra eklem kapsülü açılarak diz fleksiyona alındıktan sonraki eklem içi görüntü.....	28
Şekil 12.	Tavşan femur medil kondilinde intramedüller kılavuz teli gönderilmeden sonraki görüntü	28
Şekil 13.	Kılavuz tel üzerinden oyucu yardımıyla osteokondral defektin oluşturulması	29
Şekil 14.	5mm × 5mm lik kıkırdak parçanın görünümü.....	29
Şekil 15.	Sağ diz medial kondilde oluşturulan defektin mıknatıs yerleştirilmeden önceki görüntüsü.....	30
Şekil 16.	Sağ diz medial femoral kondil osteokondral defektin merkezine silindirik 3×6 nikel kaplı mıknatısın yerleştirildikten sonraki görüntüsü	30
Şekil 17.	Cilt cilt altı dokular sütüre edilip pansuman sonrası fotoğraf	31
Şekil 18.	Femoral kondiller deney hayvanının vücudundan uzaklaştırıldıktan sonra toplu fotoğraf	31

Şekil 19. Kontrol grubu olarak kullanılan tavşanın sol dizinin medial femoral kondilindeki defektin (yuvarlak içine alınmış alan) onikinci haftadaki makroskopik görüntüsü.	38
Şekil 20. SMA grubu olarak kullanılan tavşanın sağ dizinin medial femoral kondilindeki defektin (yuvarlak içine alınmış alan) onikinci haftadaki makroskopik görüntüsü	38
Şekil 21. SMA grubu olarak 7 numaralı tavşanın sağ diz kayıtlı materyalinin deneysel defekt alanından alınan H&E kesitlerinin histolojik görüntüsünde; 1 numarada defekt alanında kıkırdak doku kaybı, ödem, inflamasyon 2 numarada defekt alanının komşuluğunda bir kısmı canlı kolumnar dizilim gösteren bir kısmı kümelenmiş hücrelerden oluşan kıkırdak doku, 3 numarada kıkırdak kalsifikasyonu izlendi	62
Şekil 22. SMA grubu olarak 8 numaralı tavşanın sağ diz kayıtlı materyalinin deneysel defekt alanından alınan H&E kesitlerinin histolojik görüntüsünde; 1 numarada defekt alanında belirgin damarlanma artışı 2 numarada tabanda fibröz bağ doku, 3 numarada defekt alanından keskin sınırla ayrılan kıkırdak doku.....	62
Şekil 23. Kontrol grubu olarak 13 numaralı tavşanın sol diz kayıtlı materyalinin deneysel defekt alanından alınan H&E kesitlerinin histolojik görüntüsünde; 1 numarada defekt alanında fibröz bağ doku ve multinükleer dev hücreler, 2 numarada hiposellüler kolumnar dizilimi bozulmuş çoğunluğu tek tek dizilim gösteren kıkırdak doku hücreleri ve damarlanma artışı , 3 numarada belirgin kıkırdak kalsifikasyonu izlendi	63
Şekil 24. Kontrol grubu olarak 8 numaralı tavşanın sol diz kayıtlı materyalinin deneysel defekt alanından alınan H&E kesitlerinin histolojik görüntüsünde; 1 numarada hiposellüler, az sayıda canlı hücre içeren defekt komşuluğundaki kıkırdak doku, 2 numarada fibröz bağ doku, 3 numarada hiyalin ve fibröz kıkırdak bir arada izlendi.	63

Grafik 1.	Çalışmadaki grupların ICRS makroskopik değerlendirme sonucunun grafiksel görünümü	37
Grafik 2.	Çalışmadaki grupların ICRS 1 histolojik değerlendirme sonucunun grafiksel görünümü	45
Grafik 3.	Çalışmadaki grupların ICRS 2 histolojik değerlendirme sonucunun toplam sonucunun grafiksel görünümü.....	61



ÖZET

Amaç: Bu çalışmada biz tavşanda diz kıkırdak defekti modeline uygun olarak medial femoral kondil eklem kıkırdağında tam kat oluşturulan dairesel kondral lezyonun iyileşmesi üzerine statik mantetik alanın etkisinin ne yönde olabileceği sorusunu değerlendirdik. Araştırma neticesinde ucuz ve cerrahi olarak uygulaması kolay olan SMA'nın kondral lezyonların iyileşmesinde diğer eklem içi uygulanan ajanlara ve cerrahi yöntemlere bir alternatif olup olamayacağı bilgisine ulaşılması amaçlanmıştır.

Metod: Çalışmamızda 15 adet tavşan kullanılmıştır. Tavşanların sağ dizlerinin medial kondilleri SMA grubunu, sol dizlerin medial kondilleri ise kontrol grubu oluşturacak şekilde planlandı. Çalışma süreci başında iki tavşanın ölmesi üzerine çalışmaya on üç tavşan (26 diz) ile devam edildi. Tavşanların her iki diz femur medial kondiline 5 mm çapında 5 mm derinliğinde osteokondral defekt oluşturuldu. Tavşanların SMA grubunu oluşturan sağ dizdeki defektin merkezine 3 mm çap 6mm derinliğinde manyetik alan özelliği 35mT olan nikel kaplı silindirik mıknatıs defekte sıfır olacak şekilde yerleştirildi. Kontrol grubunu oluşturan sol diz medial kondile 5 mm çapında 5 mm derinliğinde defekt oluşturuldu. Onikinci hafta sonunda tavşanlar sakrifiye edildi. Tavşanların her iki diz femoral kondilleri çıkarıldı. Femur medial kondil kıkırdak dokusundaki makroskopik değişiklikler ICRS makroskopik değerlendirme skalası kullanılarak değerlendirildi. Histolojik değerlendirme ICRS 1 ve ICRS 2 histolojik değerlendirme skalasına göre yapıldı.

Bulgular: ICRS makroskopik değerlendirme skalasına göre her iki grup karşılaştırıldığına toplam skorda ve değerlendirme skalasının diğer alt kategorilerindeki skorlarda SMA lehine anlamlı bir sonuç bulamadık ($p > 0.05$). ICRS 1 ve 2 histolojik değerlendirme skorlarında ise tüm alt kategorilerinde artış anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Toplam ICRS 1 ve ICRS 2 histolojik değerlendirme skorlarının arasındaki fark yine anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Sonuç: Tavşanlarda 35 mT değerindeki SMA diz osteokondral defekt modelinde kıkırdak iyileşmesi üzerinde olumlu etkisinin olmadığı makroskopik ve histolojik olarak gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kıkırdak defekti, Statik Manyetik Alan, Osteokondral Lezyon, Hayvan Modeli.

ABSTRACT

Aim: In this study, we assessed the effect of static magnetic field will be administered on healing of a full-thickness circular chondral lesion in the medial femoral condyle joint cartilage according to the knee cartilage defect model in rabbit. In the result of research, it has been aimed whether SMA, which is easy for practising as cheap and surgery, will be a choice of another intra articular agents and surgical methods on the healing of chondral lesion.

Method: 15 rabbits were used in our study. The right knees medial condyles of the rabbits were planned to form the SMA group and the left knees medial condyles of the rabbits were planned to form as the control group. At the beginning of the study, 2 rabbits died so the study was continued with 13 rabbits (26 knees). Osteochondral defects of 5 mm in diameter and 5 mm in depth were in the medial condyle of both knees of the rabbits. The nickel-coated cylindrical magnet with a magnetic field feature of 3 mm diameter and 6 mm depth of 35mT was placed in the center of the defect in the right knee creating the SMA group of the rabbits to be zero in the defect. A defect of 5 mm in diameter and 5 mm in depth was formed in the medial condyle of the left knee that created the control group. Rabbits were sacrificed at the end of 12th week. Both knee femoral condyles of the rabbits were removed. Macroscopic changes in the femoral medial condyle cartilage tissue were assessed using the ICRS macroscopic evaluation scale. Histological evaluation was done according to ICRS 1 and ICRS 2 histological evaluation scale.

Results: According to the ICRS macroscopic evaluation scale, when both groups were compared, we couldn't find a significant result in favor of SMA in the total score and scores in other subcategories of the evaluation scale ($p>0,05$). Also, the increase in ICRS 1 and 2 histological evaluation scores wasn't found significant in all subcategories ($p>0,05$). The difference between the total ICRS 1 and ICRS 2 histological evaluation scores wasn't found again significant ($p>0.05$).

Conclusion: It has been shown macroscopically and histologically that in the model of 35Mt evaluation SMA knee osteochondral defect in the rabbits has no positive effect.

Key words: Cartilage Defect, Static Magnetic Field, Rabbit Knee, Osteochondral Lesion, Experimental Model.

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Lokalize eklem kıkırdak defektleri diz cerrahisinde majör problemlerdir. Zayıf kıkırdak iç onarım kapasitesinden dolayı, kondral defektler iyileşmemekte ve sonrasında gelişen kıkırdak dejenerasyonunun ilerlemesini durduracak belirgin bir tedavi bulunmamaktadır. Eklem yüzeyini eski haline getirmek için klinik ve laboratuvar ortamlarında çeşitli tedaviler denenmiştir. Bu seçenekler arasında mikrokırık, osteokondral transplantasyon, mozaikplasti ameliyatı, defektin perikondral transplantasyonu, otolog kondrosit transplantasyonu, osteoartiküler allograft, osteojenik protein kullanım morfogenetik proteinleri, düşük yoğunluklu ultrason ve ayrıca çeşitli enzimatik tedaviler olarak sıralanabilir. Bu tekniklerin hiçbirisi kıkırdak defektlerinde öngörülebilir, uzun süreli bir iyileşme ile sonuçlanmamıştır (1). Manyetik alanlar, genellikle pulsatif olarak dışarıdan etki yöntemiyle geleneksel olarak tamamlayıcı veya alternatif terapi olarak kullanılmıştır. Son çalışmalarda, manyetik alanların hücreler, dokular ve bir bütün olarak canlı organizmalar üzerinde çeşitli etkileri olduğu tespit edilmiştir. Elektromanyetik alanların (EMA), hyalin kıkırdağının hücre dışı matrisini etkilediği, sığır kondrosit proliferasyonunu uyardığı, kıkırdak hücre dışı matriks oluşumunu arttırdığı ve proteoglikanların sentezlediği gösterilmiştir (2,3). Düşük frekanslı elektromanyetik alanların kıkırdak proliferasyonu, kondrosit farklılaşması ve sıçandaki matris üretimi üzerinde olumlu etkileri bulunmuştur (4). 0.6 Tesla (T) statik manyetik alan (SMA) nın insan kıkırdak dokusunda metabolik aktiviteyi arttırdığı (5), orta şiddette SMA nın hücre çoğalmasını indüklediği(6-10) ve yüksek yoğunluklu SMA nın (3T) insan kondrosit hücre proliferasyonunu azalttığı ve hücre apoptozuna yol açtığı tespit edilmiştir (11). Orta şiddette SMA ayrıca iskemik sıçan modelinde kemik oluşumunu arttırdığı ve kemik mineral yoğunluğunda azalmayı önlediği gösterilmiştir (12-14). Bunun dışında azalan inflamasyon ve ödem, SMA diğer etkileri arasındadır (15-17). Literatürdeki çalışmalara ve (1 mT-1 T) arasındaki manyetik alanların birçok biyolojik fonksiyona olan etkisini vurgulayan diğer çalışmalara göre (6) orta şiddetteki SMA (35 mT) tavşan kıkırdak defekti modeli üzerindeki etkilerini belirlemeye çalıştık. Ayrıca çalışmanın kıkırdak lezyon içerisindeki SMA etki sonucunu değerlendiren ilk çalışma olması nedeniyle de özgün bir değeri vardır.

Varsayımımız SMA kıkırdak defekti iyileşmesini ve matris üretimini iyileştireceği yönündedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. EKLEM KIKIRDAĞI GENEL ÖZELLİKLERİ

Vücudumuzda 3 tip kıkırdak vardır. Bunlar hiyalin kıkırdak, fibrokartilaj ve elastik kıkırdaktır. Hiyalin kıkırdak, bol camsı bir matris ile karakterizedir ve sinoviyal eklemlerde, trakeal halkalarda, gırtlak ve burnun bir parçası olarak burnun kemik yüzeylerinde bulunur. Bol miktarda kollajen lifleri içeren fibrokartilaj kıkırdak ise menisküs, omuz ve kalça labrumu, intervertebral disklerin annulus fibrosusu ve simfizis pubiste bulunur. Elastin liflerinin ağ yapması ile oluşan elastik kıkırdak dış kulakta, östaki borusunda ve gırtlakta bulunur. Hiyalin kıkırdak ve fibrokartilaj kıkırdak mekanik kuvvetlerin orantılı olarak yüzeylere dağıtılması, şokun emilmesi ve eklem hareketi sırasında sürtünmenin en aza indirilmesi amacıyla mükemmel bir şekilde tasarlanmıştır (18-20).

Eklem kıkırdağı, sinovyal eklemleri oluşturan kemiklerin eklem bakan yüzeylerini kaplayan ve diartrodial eklemde temel yük taşıyan yapısını oluşturan bağ dokusudur (21). Diartrodial eklemler hiyalin kıkırdak ile kaplıdır. Eklem kıkırdağının sinirleri lenfatikleri ve damarları yoktur. Bu bağ dokusu yük taşıyan elastik bir yapı olarak görev alır. Yük dağılımı ve basınç kuvvetlerine karşı dirençten sorumludur ve sinoviyal sıvı ile birlikte eklem komponentlerinin hareketi esnasında yüzeylerindeki sürtünmenin en aza indirgenmesini sağlar (22,23).

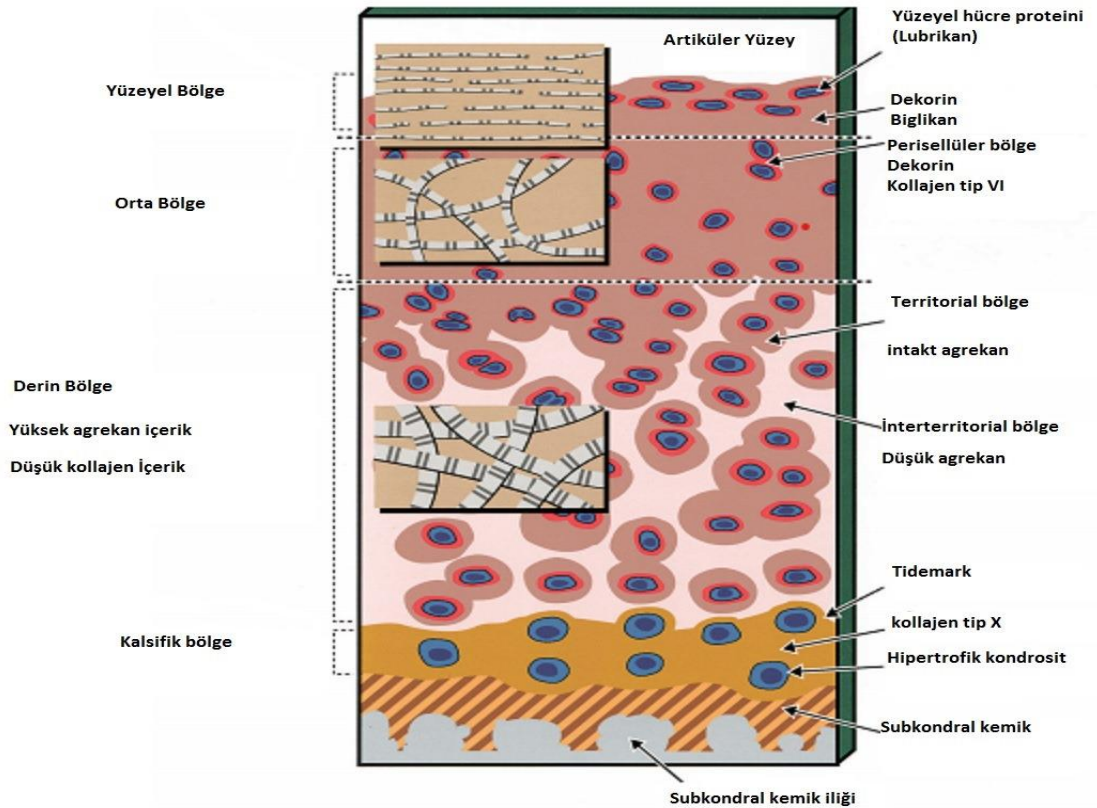
Eklem kıkırdağı dört yatay katmandan oluşur. Bunlar sırasıyla yüzeyel zon, transisyonel (orta) zon, derin zon, kalsifiye zondur (Şekil 1,2). Bu zonların organizasyonu fonksiyonel öneme sahiptir. Bu zonların büyüklüğü eklemler arasında ve türler arasında farklılıklar gösterebilir. Bu zonlardaki hücrelerde şekil, boyut ve metabolik aktivite açısından farklılıklar gösterir (24,25).

Yüzeyel zon düzleşmiş elipsoid hücrelerden oluşan en ince tabakadır. Lamina splendens veya lubricin adı verilen eklem yüzeyine paralel uzanan ince bir sinoviyal sıvı ile kaplıdır. Bu protein eklem yüzeyinin kaygan bir yüzeye sahip olmasından sorumludur. Bu bölgedeki kondrositler yüksek kollajen konsantrasyonuna, düşük proteoglikan konsantrasyonuna sahiptir. Bundan dolayı su miktarı en yüksek olan zondur. Paralel uzanan lifler büyük gerilim ve kayma gücünün sağlanmasından sorumludur. Bu zonda meydana gelecek değişimler eklemde mekanik özelliklerinin

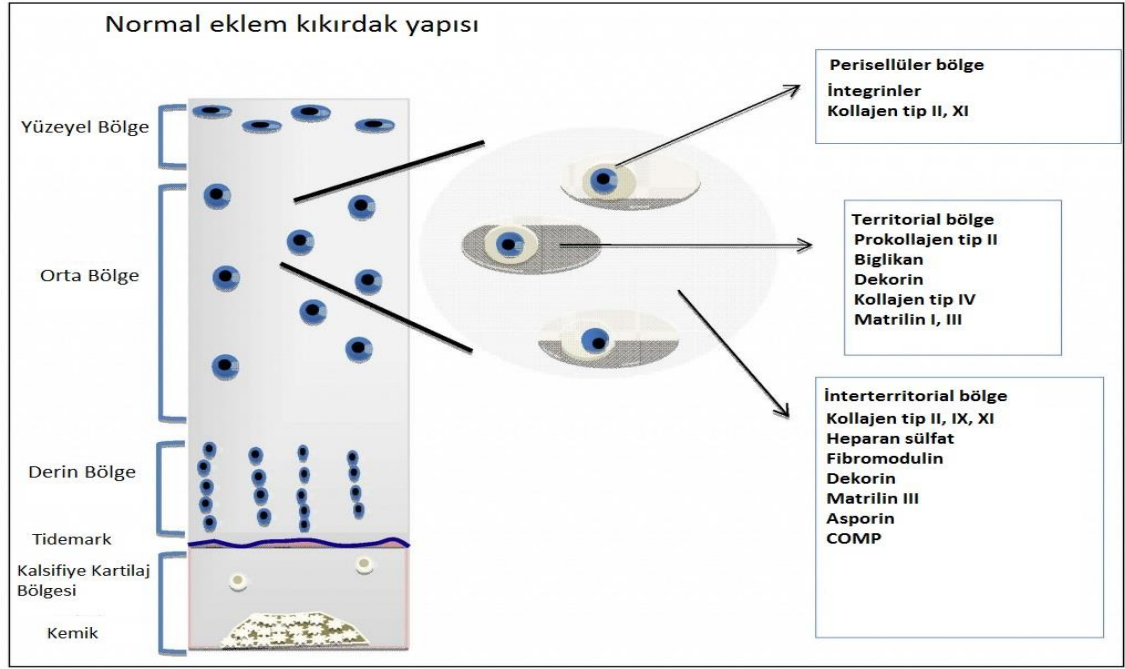
değişmesine sebep olarak osteoartrite yol açar. Bu zon ayrıca büyük makromoleküllere karşı bariyer görevi görür böylece kıkırdağı sinovial sıvı bağışıklık sisteminden korur.

Transisyonel (orta) zon düşük hücre yoğunluğuna sahiptir. Ağırlıklı olarak küresel hücreler bol miktarda ekstrasellüler matrikse gömülü olarak bulunur. Büyük çaplı kollajen lifleri bu zonda rastgele dizilmiştir. Proteoglikan miktarı bu bölgede daha yüksektir. Derin zon en büyük genişliğe sahiptir. Hücreler yüzeye dik olarak yerleşmiş ve küresel yapıya sahiptir. Bu zon en büyük kollajen lif çapına ve en yüksek proteoglikan miktarına sahiptir. Hücre yoğunluğunun en düşük olduğu zondur.

Kalsifiye zon bu mineralize zondaki düşük volümlü hücreler kalsifik matrikse gömülü olarak bulunur ve düşük metabolik aktiviteye sahiptir. Subkondral kemiğe en yakın zondur. Hücrelerin dizilimi derin zona benzer. Buradaki kondrositler tip X kollajen sentezlerler. Bu zon subkondral kemik ile yapısal bütünlüğü sağlamaktan ve yüksek proteoglikan özelliği ile şok absorbe etmekten sorumludur (26).



Şekil 1. Artiküler kıkırdağın şematik temsili görüntüsü 1 (27)



Şekil 2. Artiküler kıkırdığın şematik temsili görüntüsü 2

2.2. EKLEM KIKIRDAĞI BİLEŞENLERİ

2.2.a. Kondrositler

Kıkırdığın özelleşmiş ve yüksek oranda farklılaşmış mezenkimal hücreleridir. Yetişkin insanda bulunan doku hacminin yaklaşık %1-2 lik kısmını oluşturur (28). Kondrositler uniform özelliğe sahip değildir. Sayı, şekil, boyut olarak farklı bölgelerde farklı şekillerde bulunurlar. Kondrositler ekstrasellüler matriks üretimini, kollajenlerin organizasyonunu, proteoglikan ve kollajen olmayan proteinlerin düzenli yapısını sağlar. Metabolik aktiviteleri kıkırdığın farklı tabakalarında farklılıklar gösterir. Kondrositler ECM tarafından iletilen elektriksel, fizyokimyasal, mekanik sinyalleri alır ve metabolik aktiviteleri düzenler (29).

2.2.b. Ekstrasellüler Matriks

Ekstrasellüler matriks (ECM) %65 - %80 nini su oluşturmaktadır. ECM kalan kısmının büyük bölümünü ise kollajen, proteoglikan ve kollajenöz olmayan makromoleküllerden oluşur. Bu moleküllerin içeriği eklemlerin türüne, yaşa bağlı olarak farklılık gösterir. ECM'de başka birkaç molekül sınıfı daha küçük miktarlarda

bulunabilir (30,31). ECM oluşturan doku sıvısında ise çözülmüş elektrolitler, gazlar, küçük proteinler ve metabolitler bulunur(32).

2.2.b.1 Kollajen

Kollajen ağı kıkırdığın iç iskeletini oluşturur. Kıkırdakta %80 - %90 oranında bulunan tip II kollajen bir sarmalda bulunan özdeş üç adet $\alpha 1$ zincirinden oluşur ve kıkırdığın temel mimarisini oluşturur (33). Kollajen tip VI, V, VI, IX ve XI de düşük oranda kıkırdakta mevcuttur. Kıkırdak yapısında bulunan kollojenlerin görevi Tablo-1 de özetlenmiştir.

Tablo 1. Kıkırdakta bulunan kollajen tiplerinin yeri görevleri (26)

KOLLAJEN TİPİ	MORFOLOJİK YER	FONKSİYON
II	Makrofibrilin ana bileşeni (% 90-95)	Gerilme direnci
VI	Perisellüler matriks	Kondrositlerin matrise bağlanmasına yardımcı olur
IX	Makrofibrilin yüzeyine çapraz bağlı	Gerilme özellikleri ve fibriller arası bağlantılar
X	Kalsifiye kıkırdak tabakasındaki hipertrofik hücrelerle yakından ilişkili	Yapısal destek ve kıkırdak mineralizasyonuna yardımcı
XI	Makrofibrillerin içinde veya üzerinde	Nükleer fibril oluşumu

2.2.b.2 Proteoglikanlar

Proteoglikanlar, ağır bir şekilde glikozlanmış protein monomerleridir. Proteoglikanlar ECM deki ikinci büyük makromoleküller grubunu oluşturur. Proteoglikanlar bir veya daha fazla lineer glikozaminoglikan (GAG) zinciri ile kovalent bağlı protein çekirdeklerinden oluşur. Bu zincirler yüzden fazla monosakkarit içerir. GAG zincirleri itme kuvvetlerinin etkisiyle birbirinden ayrı olarak protein çekirdeğine doğru uzanır. Eklem kıkırdığı gerekli normal fonksiyonlarını gerçekleştirmek için agrekan, decorin, biglikan, fibromodulin adlı proteoglikanları içerir.

Boyut, miktar ve ağırlık olarak en büyük olan agrekan yüz adet kondrotin sülfat ve keratin sülfat zincirinden oluşur. Agrekan, hyalüronik asit (HA) ile etkileşime girme yeteneği sayesinde link proteini ile büyük proteoglikan molekülleri oluşturur (34). Agrekan ECM deki fibriller arası boşluğu kaplar. Agrekan kıkırdığın

osmotik özellikleri ve sıkıştırıcı kuvvetlere dayanma yeteneği açısından kritik öneme sahiptir.

Agrekan dışı proteoglikanlar kollajen ile etkileşimde görev alırlar. Boyut olarak agrekandan çok küçük olmalarına rağmen miktar olarak benzer sayılardadır. Bu moleküller protein yapısı ile yakından ilgilidir ancak farklı GAG bileşimi ve işlevi vardır. Decorin ve biglikan sırasıyla bir ve iki dermatan sülfat zincirine sahiptir. Fibromodulin ise birkaç keratin sülfat zincirinden oluşur. Decorin ve fibromodulin matrikste yer alan tip II kollajen ile etkileşime girer ve fibril yapımı ve fibriller arası etkileşimde rol oynar. Biglikan kondrosit çevresinde bulunur ve tip VI kollajen ile etkileşime girer.

2.2.b.3 Kollajenöz Olmayan Proteinler ve Glikoproteinler

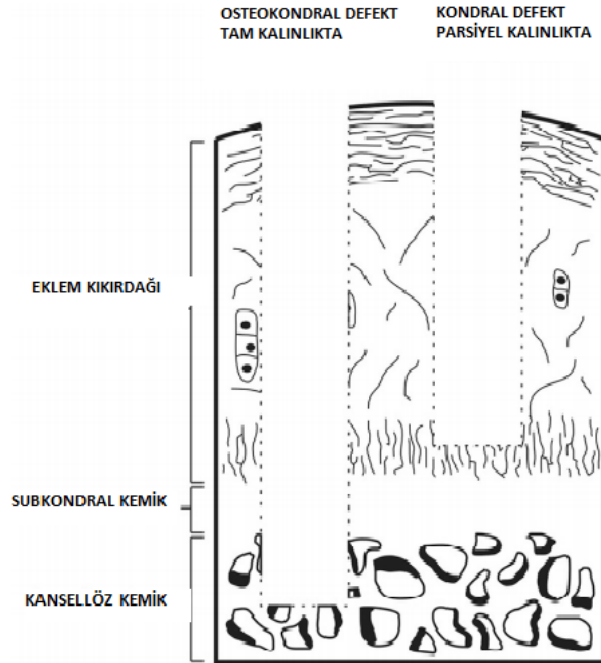
Eklem kıkırdığı içinde bir dizi kollajenöz olmayan protein ve glikoprotein bulunmasına rağmen, spesifik işlevleri tam olarak karakterize edilmemiştir. Bu moleküllerin bazıları (bir kondrosit yüzey proteini olan fibronektin ve CII gibi) ECM'nin makromoleküler yapısının organizasyonunda ve korunmasında rol oynar (35).

2.3. OSTEOKONDRAL LEZYON

Eklem kıkırdak yaralanmaları kendi kendini onarma kapasiteleri ve kondrositlerin yeterli ECM üretmeleri açısından sınırlı yeteneğe sahiptir. Bu nedenle tedavi edilmemiş kıkırdak hasarları osteoartrit (OA) gelişimine yol açar. Sınırlı kapasitenin ana nedenleri kendi kendini onarım yeteneğinin yetersiz olması ve kıkırdak dokunun damar yapısından yoksun olması nedeniyle iyileşme sürecinin ilk basamağı olan pıhtının gerçekleşmemesidir (36). Bu yüzden kan ve kemik iliğinde progenitor hücreler ve yerleşik kondrositler eklem kıkırdak hasarının olduğu bölgeye göç ederler. Kıkırdak dokusu diğer dokularda görülen nekroz, inflamasyon, onarım ve yeniden şekillenme basamaklarını takip etmez. Kondrositlerin çoğalma potansiyeli ve defekti yeterli miktarda ECM ile doldurma yeteneği sınırlıdır. Kıkırdak yaralanması sonrası birkaç farklı hücre harekete geçip matriks oluşturabilir fakat bu oluşturulan matriks orijinal matrikse göre morfoloji ve mekanik olarak daha düşük kaliteye sahiptir.

Eklem kıkırdak hasarları defektin derinliğine göre ayrılır. Subkondral kemiğe kadar uzanan ve kendiliğinden onarılmayan, tam kalınlıkta subkondral kemiğe uzanan kısmi onarım potansiyeli gösteren kıkırdak hasarları olarak (37). Kısmi defektler ortopedik cerrahide yaygın olarak görülür. Lezyonlara bitişik hücrelerde hücre ölümü gerçekleşir. Bununla birlikte hücre proliferasyonunda, kondrosit kümeleşmesinde, matriks üretiminde artış meydana gelir fakat bu defekti yeteri miktarda onarmaya yetmez. Yapılan çalışmalarda yaranlamanın yönünde kısmi defektlerin iyileşmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Eklem hareket aksına paralel olan yaralanmaların dik olanlara göre daha iyi iyileştiği gösterilmiştir (38-40).

Osteokondral bölge defektlerinde, kondral alandaki iyileşme dokusunda iki hafta sonrasında oluşan; matriks bileşiminde tip II kollajen ve proteoglikanların, tip I kollajen ve nonkollajen proteinler ile kondrosit benzeri hücrelerin bulunduğu gözlenmiştir. Altı hafta sonra defektin kondral kısmındaki doku yüksek oranda kondrosit benzeri hücreler, proteoglikan ve tip II kollajenden zengin bir matriks içerirken, yüksek miktarlarda tip I kollajen de bulundurmaktadır. Doku iyileşmesi sürecinin sonucunda yeni oluşum, yapı ve biyomekanik fonksiyon açısından normal eklem kıkırdağı dokusundan farklılıklar göstermektedir (41-43).



Şekil 3. Eklem kıkırdağında gerçekleşen kısmi kalınlıkta ve subkondral bölgeye kadar penetre etmiş tam kalınlıkta hasarların şematik gösterimi (44)

2.3.a Osteokondral Lezyon Sınıflamaları

Osteokondral lezyonlar MRG ve artroskopik görüntülere göre sınıflandırılmıştır. Bir çok sınıflama sistemi geliştirilmiştir. Bunlardan en sık kullanılanları artroskopik olan ICRS ve Outerbridge radyolojik olarak ise Dipaola sınıflamasıdır.

Tablo 2. ICRS artiküler kırık evreleme sistemi (45)

NORMAL	Grade 0
NORMALE YAKIN	Grade 1a - Yüzeysel yumuşak kırıkdağı lezyon Grade 1b - Yüzeysel çatlak
ANORMAL	Grade 2 - Kırıkdağı kalınlığının %50'si etkilenmiş
ŞİDDETLİ LEZYON	Grade 3a - >%50 Grade 3b - Kalsifiye tabakaya ulaşmış Grade 3c - Lezyon çevresinde kırıkdağı itilmesi
ÇOK ŞİDDETLİ LEZYON	Grade 4a - Subkondral bölgeye penetre, ancak defekt boyunca değil Grade 4b - Tüm defekt boyunca subkondral bölgeye penetre defekt

Tablo 3. Outerbridge sınıflaması (46)

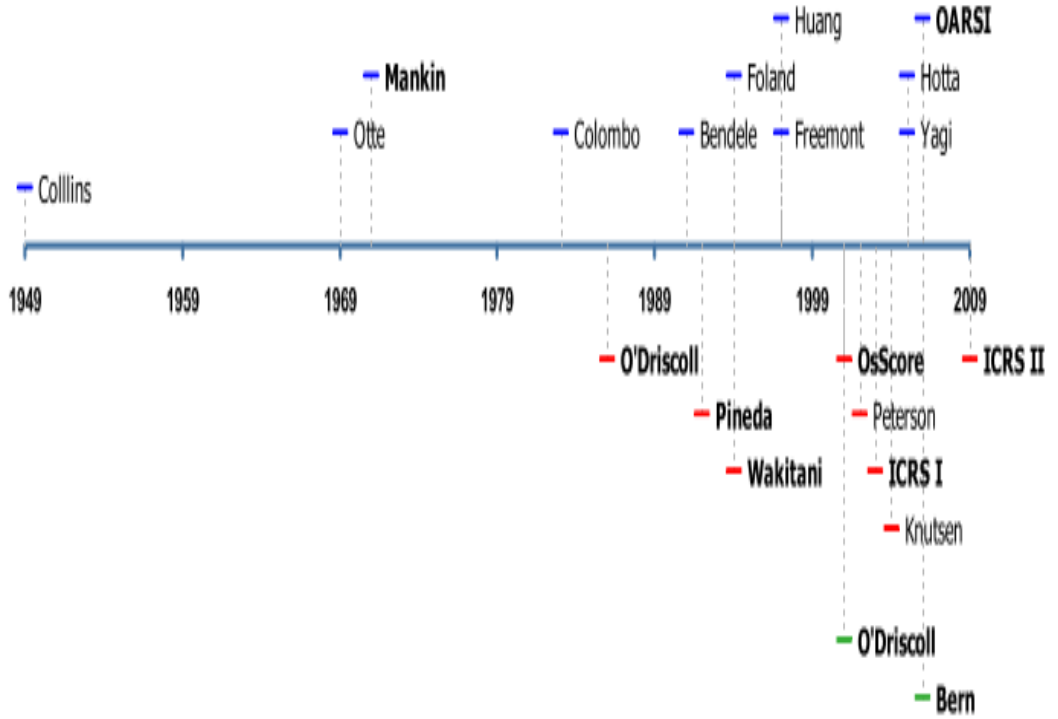
Grade 1	Eklem yüzü şişmiş, yumuşamış ve kabarmış
Grade 2	Çapı 1 cm'den az olan fissürler ve yarıklar
Grade 3	Çapı 1 cm'den büyük, subkondral kemiğe kadar uzanan fissürler
Grade 4	Subkondral kemik açıkta

Tablo 4. OCD'da Dipaola ve ark. nın sınıflaması (47)

STAGE	Artroskopi	MRG	Radyografi
I	Eklem kırıkdağının yumuşaması ve düzensizliği, tanımlanabilen fragman yok	Eklem kırıkdağının kalınlaşması, düşük sinyal değişikliği	Kompresyon lezyonu, görülen fragman yok
II	Eklem kırıkdağı yarılmış, fragman var fakat yer değiştirmemiş	Eklem kırıkdağı yarılmış, fibröz tutunmayı gösteren fragman arkasındaki kenarda düşük sinyal	Yapışık fragman
III	Eklem kırıkdağı yarılmış, fragman yer değiştirebilir fakat kırıkdağa kısmen tutunmakta	Eklem kırıkdağı yarılmış, fragman ve altındaki subkondral kemik arasında sinovial sıvı (yüksek sinyal değişikliği)	Yapışık olmayan fakat yer değiştirmemiş fragman
IV	Serbest cisim	Serbest cisim	Yer değiştirmiş fragman

2.3.b Osteokondral Lezyon Tedavi Değerlendirilmesi

Çok sayıda histolojik skorlama sistemi geliştirilmiş olup yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu skorlar eklem kıkırdığının değerlendirmesinde ana görevi üstlenmektedir. İlk olarak 1971 yılında Mankins ve ark. tarafından OA lezyonları 1971 yılında ilk olarak değerlendirilmiştir. Sınırlı OA zemininde olmayan lezyonlar için ilk sınıflama O'Driscoll ve arkadaşları tarafından 1986 yılında geliştirildi. İlerleyen yıllarda Pineda (1992), Wakitani (1994), Sellers (1997), Fortier ve arkadaşları (2002) tarafından başka yöntemler önerilmiştir. İnsan kıkırdak biyopsilerini değerlendirmek için 2003 ve 2010 yıllarında ICRS derneği tarafından iki adet skor geliştirilmiştir (48).



Şekil 4. Histolojik kıkırdak skorlarının gelişim kronolojisi (49)

Biz çalışmamızda ICRS'nin makroskopik skorunu ve mikroskopik ICRS 1, ICRS 2 skorlarını kullanacağız.

Tablo 5. ICRS makroskopik kırıkta tamir değerlendirme skalası (50)

1. Defekt onarımının derecesi	
Çevre kırıkta ile aynı seviyede	4 Puan
Defekt derinliğinin %75' i tamir dokusu	3 Puan
Defekt derinliğinin %50' si tamir dokusu	2 Puan
Defekt derinliğinin %25' i tamir dokusu	1 Puan
Defekt derinliğinin %0' ı tamir dokusu	0 Puan
2. Sınır bölgesine entegrasyon	
Çevre kırıkta ile tam entegrasyon	4 Puan
Çevreyi belirleyen doku < 1 mm	3 Puan
Greftin 3/4' ü entegre, 1/4' ü 1 mm'den geniş belirgin sınır ile ayrı	2 Puan
Greftin yarısı entegre, yarısı 1 mm' den geniş sınır ile ayrı	1 Puan
Her taraf ayrı ya da 1/4' e kadar ayrı	0 Puan
3. Makroskopik görünüm	
Sağlam düzgün yüzey	4 Puan
Liflenmiş yüzey	3 Puan
Küçük, dağınık çatlaklar, yarıklar	2 Puan
Bir miktar, küçük ya da az ama büyük çatlaklar	1 Puan
Greftli alanın toptan dejenerasyonu	0 Puan
Değerlendirme	Toplam Puan
Grade I = Normal	12
Grade II = Kısmen Normal	11-8
Grade III = Anormal	7-4
Grade IV = Ciddi Anormal	3-1

Tablo 6. ICRS 1 kırıkta tamir değerlendirme skalası (Mainil-Varlet et al., 2003) (48)

1- Yüzey:	
Düzgün, devamlı	3
Kesintili, irregüler	0
2- Matriks:	
Hyalin	3
Miks;hyalin/fibrokartilaj	2
Fibrokartilaj	1
Fibröz doku	0
3- Hücre Dağılımı:	
Kolumnar	3
Miks: kolumnar- cluster	2
Cluster	1
Tek tek hücreler	0
4- Hücre Populasyonu Canlılığı:	
Çoğu canlı	3
Parsiyel canlı	2
%10 altında canlı	0
5- Subkondral Kemik:	
Normal	3
Artmış remodelling	2
Kemik nekrozu, granülasyon Dokusu	1
Tutunmama,kırık, baziste kallis	0
6- Kırıkta Mineralizasyonu:	
Normal	3
Anormal,uygunsuz lokalizasyon	0

Tablo 7. ICRS 2 kıkırdak tamir değerlendirme skalası (Mainil-Varlet et al., 2010)
(48)

HİSTOLOJİK PARAMETRELER	SKOR
1.DOKU MORFOLOJİSİ(POLARİZE IŞIK ALTINDA)	%0:Tam kalınlıkta kollajen fiberleri
	%100:Normal kıkırdak çift kırılması
2.MATRİS LEKELENMESİ(METAKROMAZİ)	%0:Lekelenme yok
	%100:Tam metakromazi
3.HÜCRE MORFOLOJİSİ	%0:Yuvarlak/oval hücre yok
	%100:Çoğunlukla oval/yuvarlak hücreler
4.KONDROSİT KÜMELENMESİ	%0:Var
	%100:Yok
5.YÜZEY MİMARİSİ	%0:Delaminasyon veya majör irregülerite
	%100:Pürüzsüz yüzey
6.BAZAL İNTEGRASYON	%0:İntegrasyon yok
	%100:Tam integre
7.TİDEMARK FORMASYONU	%0:Kalsifikasyon alanı yok
	%100:Tidemark
8.SUBKONDRAL KEMİK ANOMALİSİ/İLİK FİBROZİS	%0:Anormal
	%100:Normal kemik iliği
9.İNFLAMASYON	%0:Var
	%100:Yok
10.ANORMAL KALSİFİKASYON/OSSİFİKASYON	%0:Var
	%100:Yok
11.VASKÜLARİZASYON	%0:Var
	%100:Yok
12.YÜZEY DEĞERLENDİRMESİ	%0:Total kayıp/tam bozulma
	%100:İntakt artiküler yüzey
13.DERİN ZON DEĞERLENDİRMESİ	%0:Fibröz doku
	%100:Hiyalin kıkırdak
14.GENEL DEĞERLENDİRME	%0:Kötü(fibröz doku)
	%100:İyi(hiyalin kıkırdak)

2.3.c Kıkırdak Hasarında Tedavi Yöntemleri

İdeal kıkırdak yaralanması tedavisi çevresiyle tamamen entegre, mekanik olarak işlevsel ve defekt alanında hiyalin kıkırdak oluşumu ile sonuçlanmalıdır (51).

Biyolojik olarak kabul edilebilir tamirde, kıkırdak dokusu; defekti kıkırdak benzeri aramaddeyle doldurmuş, eklem yüzey konturunu sağlamış, sağlam çevre kıkırdak ile birleşmiş ve yük taşımaya uygun şekilde sert olmalıdır (52). Bilinen tedavi yöntemleriyle hiyalin kıkırdak elde etmek mümkün değildir. Çoğu zaman iyileşme dokusu karışık bir histolojiye sahip olmakta ve doku içerisinde birden fazla kıkırdak tipine rastlanmaktadır. İdeali artiküler kıkırdak elde etmektir. Artiküler kıkırdak hiyalin kıkırdağın kolonlar şeklinde hücre dizilimi ve derinlerde radyal, yüzeyde paralel organize olmuş kollajen liflerinden oluşan ve bir tidemark ile kalsifiye kıkırdak ve dolayısı ile subkondral kemiğe bağlı şeklindedir. Yani hiyalin kıkırdak ile içeriği aynı olmakla birlikte organizasyon farkı içermektedir, ancak tamir yöntemleri ile bunu elde etmek zordur. Hiyalin kıkırdak tip II kollajen ve proteoglikan aramadde sentezleyerek salgılayan kondrositlerden oluşur. Fibröz kıkırdakta ise hem kondrosit hem de fibroblast bulunur. Bu nedenle ara madde ağırlıkla tip I kollajenden oluşur. Fibröz doku ise fibroblastlardan oluşur ve tip I kollajen ağırlıklı aramaddeye sahiptir. Bu kıkırdakların yük altındaki dayanıklılıkları da yukarıdaki sıraya göre düşmektedir (53).

Osteokondral lezyonların tedavisinde onarım ve rekonstrüksiyon şeklinde bir çok tedavi tanımlanmıştır (54). Onarım yöntemleri (mikrokirik, debridman) fibrokartilaj doku oluşmasına yardımcı olur ve böylece kondrogenез sağlayabilen kan damarlarının ve osteoprogenitör hücrelerin erişimini kolaylaştırır. Rekonstrüksiyon tekniklerinde (osteokondral otograft transferi, mozaikplasti, allograft) otolog eklem kıkırdak transplantasyonu veya allograftlar ile artroskopik yada mini cerrahi yaklaşımlarla eklem kıkırdağının doldurulması sağlanmaktadır. Son olarak, rejeneratif yöntemler (ACI, MSCs, MACI) biyomühendislik tekniklerinin de kullanarak hiyalin kıkırdak dokusu geliştirilmesi amaçlanmıştır. (54,55).

2.3.c.1 Artroskopik Debridman

Eklem debridmanı ilk olarak Magnuson tarafından tanımlanmıştır (56). Eklem debridmanı, osteofit temizliği, sinovektomi, menisektomiye içeren geniş bir terimdir. Tüm bu yöntemlerin kondral defektlere etkisini ölçmek zordur. Bu tür tedavilerin sonuçları kondral defektin büyüklüğü, sayısı ve dejenerasyonundan

etkilenir. Klinik uygulamada artroskopik debritleme mikrokirik gibi kemik iliği stimülasyon yöntemlerinin bir parçası olarak görülür (57).

2.3.c.2 Spongialization

Bu yöntem daha radikal olan delme ve debritleme modifikasyonudur. Ficat, subkondral kemik ile birlikte hasarlı kıkırdağın eksizyonunu içeren bu terimi tanımladı. Patellada dejeneratif kusuru olan seksenbeş hastada iyi ile mükemmel sonuç olarak %85 başarı sağlamıştır (58).

2.3.c.3 Kemik İliği Sitümulasyon Yöntemleri

Bu sistemler hücre göçünü ve kıkırdak onarımı için sitokin üretimini sağlar (59). Pridie'nin delme yönteminin bir modifikasyonu olan mikrokirik, basit bir artroskopidir ve semptomatik kondral defektler için birinci basamak tedavi olarak kullanılan en yaygın yöntemdir (60). Ortopedik cerrahide açık, hızlı ve ucuz olmasından dolayı sık kullanılan bir yöntemdir (61). Bu yöntemlerde kıkırdak lifli doku veya tip I kollajen içeren fibrokartilaj doku ile onarılır çünkü kondroprogenitor hücre sayısı doku rejenerasyonunu elde etmek için çok azdır ve yavaştır buda daha sonra dejenerasyonlara yol açar (62).

Mikrokirik yöntemi 1997 yılında Steadman ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Kolay uygulanabilmesi, ucuz olması, ek hazırlık gerektirmemesi ve diğer girişimlerin ileri uygulamalarını engellememesi nedeniyle kısa zamanda geniş kullanım alanı bulmuştur (63). Temelde delme yöntemi ile aynı olmakla birlikte ısı üretmediğinden çevredeki hücrelere zarar vermez (64). Mikrokirik başarısız olsa dahi daha ileri tedaviler engellenmez, yani mikrokirik geri dönüşümsüz değildir (63). Kıkırdak yaralanması olan bölge üzerinde kalan kıkırdak, iyileşme dokusunun oluşumunu engelleyici özelliğe sahiptir. Bu nedenle her türlü onarım girişiminden önce debride edilmesi gereklidir (65). Yöntemin başarı şansını artırabilmek için sağlam kıkırdağın defekt etrafında subkondral kemiğe dik açılı bir çerçeve oluşturacak şekilde hazırlanması gereklidir. Bu şekilde bir hazırlık iyileşme dokusunu basıdan ve makaslama kuvvetlerinden korurken fibrin pıhtının tutunmasına uygun ortam hazırlamaktadır (66).

Defekt kenarlarından başlayarak, sağlam kıkırdağa yakın bölgede kıkırdağın hemen yanına mikrokirik bizi ile subkondral kemiğe dik olacak şekilde delikler

açılır. Mikrokırık bizinin konik şekilde olması sayesinde girilen derinlik kontrol edilebilmekte ve cihazı delikten çıkartmak kolay olabilmektedir. Mikrokırık bizi, defekte dik olarak uygulanmalıdır. Bunu sağlamak amacıyla 30, 45 ve 90 derece eğimli bizler vardır. Mikrokırık oluşturma işlemi sırasında çekiç kullanılır ve deliklerin birbirlerine mümkün olduğu kadar yakın olması sağlanır. Çevreden başlayarak defekt ortasına doğru ilerlenir. Delikler 3-4 mm aralıklarla açılır ve aralarındaki duvarın kırılarak birleşmesinden kaçınılır. Deliklerin birleşmesi subkondral kemik plağının biyomekanik desteğini bozabilir. Yetersiz delik yoğunluğu, oluşacak olan kıkırdığın kalitesini ve defekti doldurma miktarını etkiler (67). Derinlikleri 3-4 mm olmalıdır (68). Açılan deliklerden yağ damlacıklarının çıktığı gözlemlendiğinde yani 3-4 mm inildiğinde yeterli derinliğe ulaşılmış demektir (69).



Şekil 5. Mikrokırık cerrahi görüntüsü (70)

2.3.c.4 Osteokondral Otolog Transferi (Mozaikplasti)

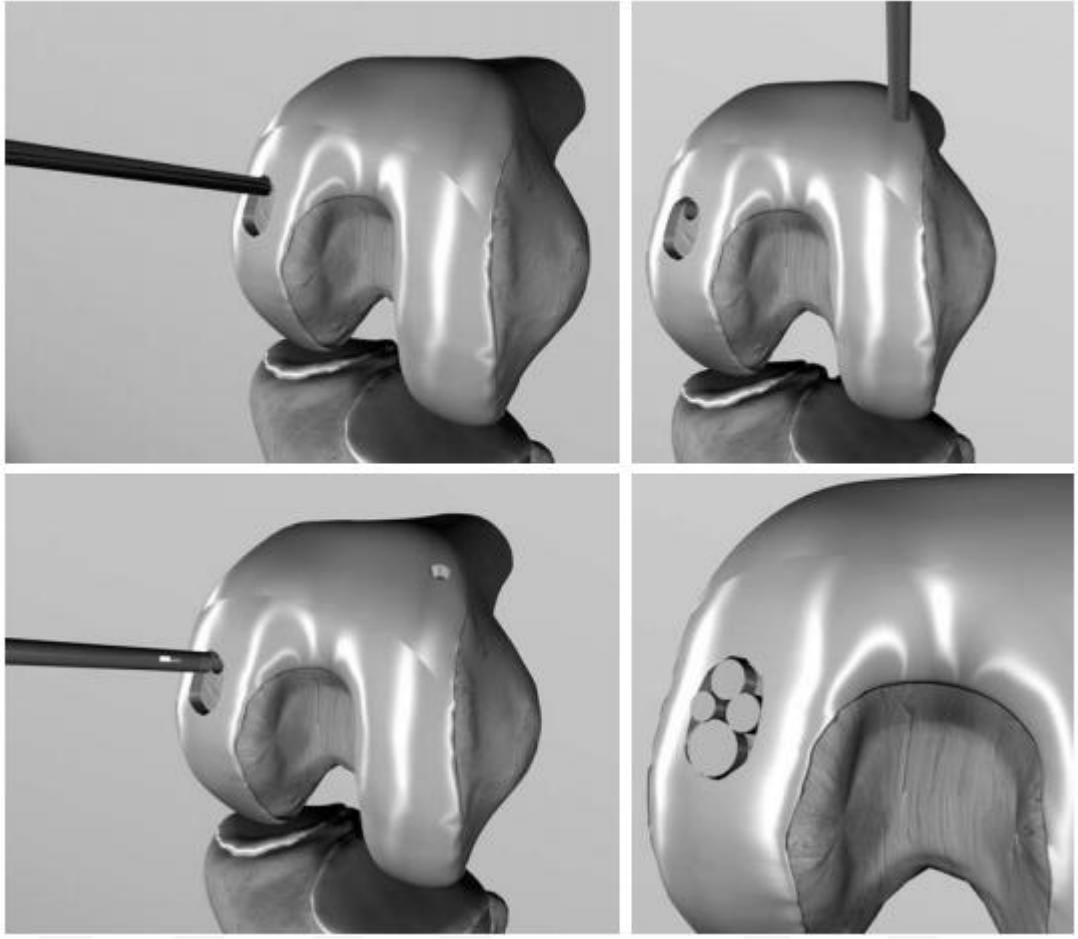
Osteokondral Otolog Transferi ilk olarak 1993 yılında tanımlanmıştır (71). 1991 yılında hayvan deneyleri yapılmış bunu izleyen süreçte 1992 yılında standart klinik cerrahi ekipmanlar geliştirilmiştir. 1997 yılındada klinik sonuçlara ait ilk yayınlar yayınlanmıştır (72). Küçük osteokondral greftlerin eklem içine dizildiği mozaikplasti yöntemi ise 1996 yılında yayınlanmıştır (72,73).

Hiyalin kıkırdak elde etmekteki güçlükler osteokondral otogreft ve allogreftlerin geliştirilmesine yol açmıştır. Bu yöntemde kemiğin kemiğe kaynaması

nedeniyle kıkırdak iyileşmesindeki zorluklar minimize edilmiştir (74). Yeri değiştirilmiş hiyalin kıkırdağın en önemli avantajı sağlam bir tidemark ve subkondral kemik ile beraber transfer edilmiş olmasıdır (75). Mozaikplastide greftler arası boşluklar dışsal dokular ve matriks ile dolar. Mozaikplastideki kıkırdağın büyük bir kısmını artiküler kıkırdak oluştururken boşluklar arasındaki küçük kısımları fibrözkarilaj oluşturur (76).

Defekt derinliğinin 1 cm den büyük olduğu kemik defektinin eşlik ettiği durumlarda ilk tercih tedavi yöntemidir (77). OOT için defekt derinliği kıkırdak kalınlığının en az %50 si olmalıdır ve 2-6 cm² defekler için uygulanabilir (78-80). ICRS ye göre mozaikplastide için defekt çapı alt sınırı 1 cm iken klinik uygulamalarda 2 cm den küçük defeklere donör saha problemlerinden kaçınmak için uygulanır (78,81). Tek, tam kalınlık ve çapı 1-2.5 cm arasındaki kıkırdak defektleri artroskopik osteokondral greftleme ile tedavi edilebilir (82). Özetle, 50 yaşın altındaki hastalarda eklemlerin ağırlık taşıyan yüzeylelerinin odaksal kondral ve osteokondral yaralanmalarında, instabilite, dizilim bozukluğu, menisküs ve bağ yaralanmalarının eş zamanlı tedavisi ile birlikte OOT endikasyonu vardır (79). Üç cm² den büyük, sağlam kıkırdak ile çevrili olmayan, 1 cm den derin defektlerde osteokondral taze ya da taze donmuş allogreft kullanılma endikasyonu da vardır (83).

Mozaikplastide Hangody ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (84). Artroskopik, açık, miniartrotomi şeklinde uygulanabilir. Teknikler arasında çok fazla farklılık mevcut değildir (79). Dört, altı parçadan az defekt çapının 2cm den küçük olduğu durumlarda artroskopik teknik kullanılabilir (72). Artroskopik olarak alınabilecek en büyük greftler 6 mm boyutundadır. Altı mm daha büyük greftler patella ile donör saha arasındaki teması artırır ve artrotomi gerektirir (82). Femoral kondilin anteriorundaki lezyonların artroskopik tamiri mümkünken, posteriordaki defektler artrotomi gerektirebilir (85).Tibiada yer alan ve patello femoral bölge defektleri için açık yöntem önerilir (79).



Şekil 6. Mozaikplasti uygulama tekniği (79)

2.3.c.5 Periost Grefti

Defekt çevresi tam dik olmayan ya da tam kapsanmayan olgularda bir matriks kullanmanın fibrin pıhtının tutunmasına yardımcı olacağı savunulmuştur. (86) Mikro kırıkla uygulanacağı gibi tek başınada uygulanabilir. Mikrokırık ile uygulananların kırıkta kalınlığının daha kalın olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. (87) Periostla kapama iyileşme dokusunu korur ve çatı görevi görür ayrıca kendide mezenkimal kök hücreler içerir. (88,89) TGF- β , IGF 1, büyüme farklılaşma faktörü 5, BMP 2 ve integrinler gibi kondrojenez sırasında rolü olan büyüme faktörleri sentezlediğide bilinmektedir. (89)

2.3.c.6 Mikrokırık ve Matriks

Matriksler kök hücreleri içinde tutarak eklem içine kaçırları önlemektedir. Matriks uygulamasının periost greft uygulamasından daha başarılı olduğu gösterilmiştir. Bu yöntem ACI ve MACI'nın aksine artroskopik olarak tek seansta uygulanabilmektedir. Bu yöntem 2 cm² den büyük lezyonlara mikrokırık uygulanmasında sağlar. Matriks ile kapama iyileşme dokusunda oluşan hipertrofiye engellemektedir. Bu özelliklerinden dolayı ACI ve MACI'ye alternatif olarak bile önerilmektedir. (86)

Matriks olarak sodyum hyaluronan kaplı eriyebilen polimer keçe, tip I ve III çift katmanlı kollajen membran yada chitosan-gliserolfosfat implantlar kullanılmıştır. (65,86,90) Hyaluronan'ın mezenkimal kök hücrelerinin kondrosite farklılaşmasında olumlu etkisi gösterilmiştir. Deneysel çalışmalarda chitosan gliserol ve fosfat implantlarının iyileşme dokusunda daha çok proteoglikan ve tip II kollajen içerdiğinden hiyaline yakın bir kıkırdak dokusu oluşturduğu düşünülmektedir. (65,86)

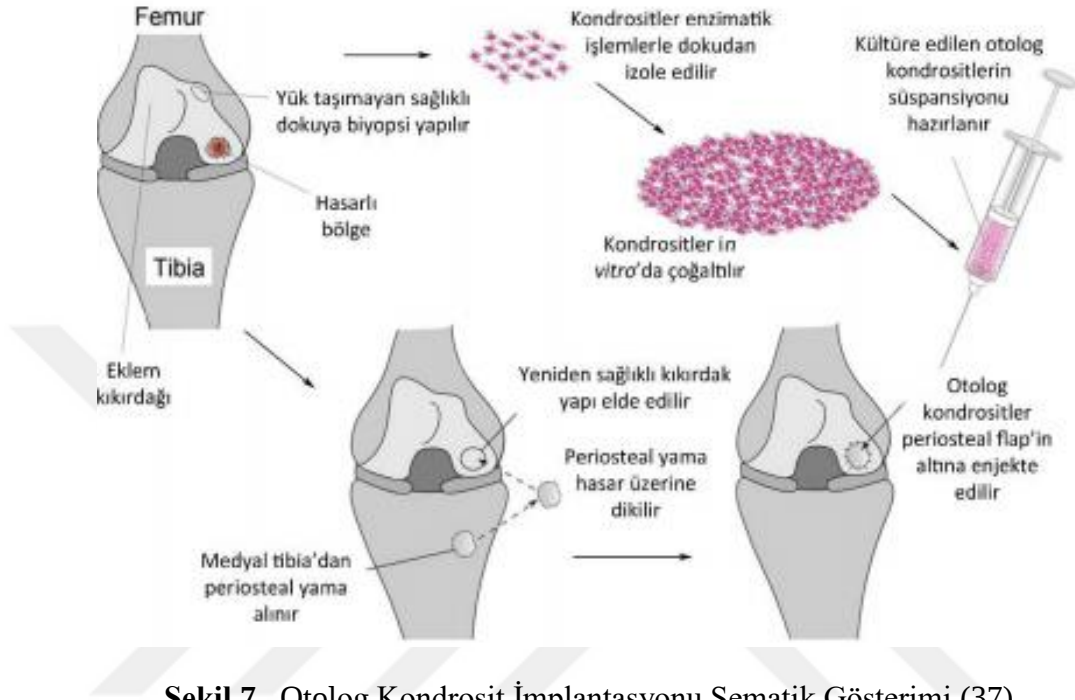
2.3.c.7 Macun Greft

Geniş defekti olan OA dizlerde uygulanan bir yöntemdir. Dizde interkondiller çentikten alınan greftler macun haline getirilir ve mikrokırık deliklerine doldurulur. Bu macun greftin kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelere matriks oluşturarak fibröz kıkırdakla iyileşme sağladığı bildirilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda aksine hiyalin kıkırdakla iyileşme sağladığını bildirmiştir. (91)

2.3.c.8 Otolog Kondrosit İmplantasyonu

Otolog Kondrosit İmplantasyonu ilk defa 1984 ve 1987 yıllarında Peterson arkadaşları tarafından uygulanmıştır. Ortopedik cerrahide ilk defa doku mühendisliği bu teknik ile kullanılmıştır. Diz ekleminin yük taşımayan bir bölgesinden küçük bir kıkırdak parçası alınır. Kondrositler özel bir doku kültürü laboratuvarında enzimatik olarak izole edilir. Hücreler daha çok sayıda milyonlarca aktif kondrosit üretmek için in vitro şartlarda çoğaltılır. 2-3 hafta sonra eklem açılır kondral defekt tibia yüzeyinden alınan periosteal doku ile kaplanır. Daha sonra in vitro şartlarda üretilen kondrosit süspansiyonu periosteal yamanın altına enjekte edilir. (92)

Otolog kondrosit implantasyonu yöntemini takiben yapılan histolojik çalışmalarda oluşan kıkırdağın hiyalin yada hiyaline benzer yapıda olduğu bildirilmiştir. Kıkırdağın bir kısmında fibrokartilajdan oluşmaktadır fakat bu fibrokartilaj kalite olarak yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir. (93)



Şekil 7. Otolog Kondrosit İmplantasyonu Şematik Gösterimi (37)

2.3.c.9 Matriks Destekli Otolog Kondrosit İmplantasyonu

Otolog Kondrosit İmplantasyonu hassas bir hücre süspansiyonu kullanmak, periostu su geçirmez bir şekilde kapatmak ve bu nedenle kıkırdağa dikiş geçirmek gerekir. İkinci seansta artrotomi yapmak gerekir ki artrotomi ve periost grefti kullanımı komplikasyonlara açıktır. Standart tek katman hücre kültüründe kondrositler fenotipik olarak geri farklılaşmaya zorlanmaktadır. Hücre süspansiyonu enjeksiyonu, homojen olmayan dağılıma ve periost greftinden sızarak hücre kaybına neden olmaktadır, ayrıca cerrahi süreside uzundur. Tüm bu sebeplerden dolayı çözüm amaçlı 1999 yılında MACI geliştirilmiştir. 2002 yılından itibaren ACI'nın ikinci nesli olan biyobozunur üç boyutlu matrikslerin kullanıldığı MACI geliştirildi. (94-96)

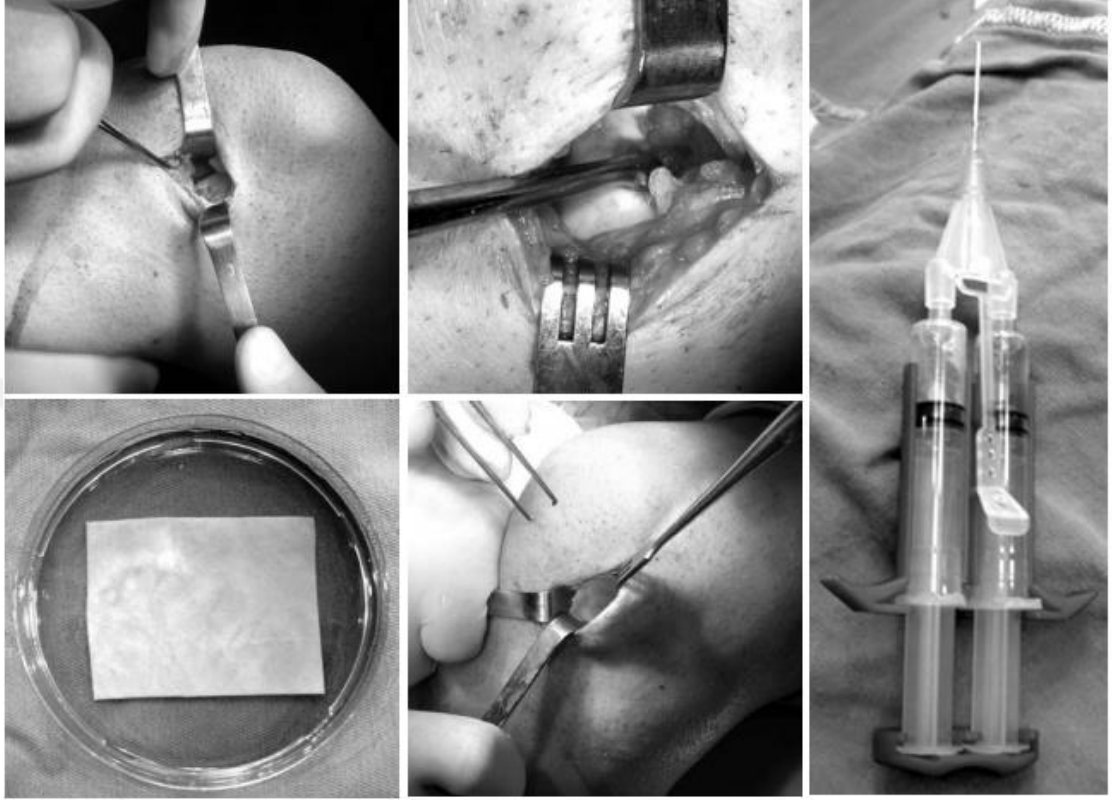
Matriksler ve kıkırdak aramaddesi hücreleri, defekt içerisinde tutunmalarını ve işlevlerini sürdürmelerini destekleyecek yapısal çatılar oluşturmaktadır. (52)

Matriks olarak en sık kollajen ve hyaluronan temelli malzemeler kullanılmaktadır. (96) Hücrelerin eşit dağılımını sağlamak için ilk olarak tip I ve tip III kollajenden oluşan membran kullanılmış, kondrositler bu membran üzerine ekilerek implante edilmiştir. (97) Kollajen membrana ekilen hücrelerin, homojen dağılım gösterdikleri ve kondrosit fenotiplerini korudukları bildirilmiştir. Tip I kollajen fibroblastik hücre morfolojisini uyarmakta ve hücreleri bu yönde yönlendirerek fibröz aramadde üretirmektedir. Tip II kollajen ise kondroblastik morfolojiyi uyarak GAG aramaddesini üretmeye yönlendirir. Bir matriksin por büyüklüğü azaldıkça (<50 mikrometre) sağlamlığı artar, ancak hücreleri daha çok fibroblastik morfolojiye yönlendirir. (98)

Suni matriksler biyobozunur olmalı, biyouyumlu olmalı, uygun sürede bozunmalı ve hücre kolonizasyonuna izin vermelidir. (99) Kondroitin sülfat-A ve çitosan tipi matriksler mitozu engellerken tip 2 kollojen sentezini uyarmaktadır. (100) Liyofilize allojenik kıkırdak matriks deneysel olarak başarılı bulunmuştur. (101,102) Tip II kollajene ekilmiş kondrositlerle yapılan deneysel çalışmada oluşan kıkırdak normalden yirmi kat daha yumuşak olduğu gösterilmiştir. (103) Ticari formları bulunan iskeletlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada jel sistemlerinin daha homojen hücre dağılımı sağladığı, daha fazla tip II kollajen salgılanımını desteklediği bildirilmiştir. Membran tipi iskeletlerde hücreler birden fazla tabakalar halinde yerleşmektedir. Ancak jel sistemlerinin mekanik özellikleri defekt tedavisinde sorun yaratabilmektedir. Belki de her iki tipin birlikte kullanımı ile daha iyi sonuç alınabilecektir. (104)

Matriks rehberli otolog kondrosit implantasyonu cerrahi tekniğinin ilk aşaması ACI ile aynıdır. Yüz mililitre otolog kan ile birlikte 5x10 mm boyutunda kıkırdak doku alınarak laboratuvara gönderilir. Üç - dört hafta içerisinde otolog serum ve büyüme faktörleri de kullanılarak 15-20 milyon hücre üretilir. Domuz kaynaklı tip I/III iki katmanlı kollajen membranın her bir santimetrekaresi başına canlılığı %85'in üzerinde olan en az 1 milyon hücre ekilmelidir. (97,105,106) Defekt ACI'da olduğu gibi hazırlanır. Kanama kontrolü yapılır. Alüminyum folyo yada eldiven kağıdı ile defektin şablonu çıkarılır. İmplant şablon şeklinde kesilir. İmplantı kesmek ve yerleştirmek için uygulanan manipülasyonun tutunmuş hücrelere zarar vermediği gösterilmiştir. (107) Fibrin yapıştırıcı ile hücreli retiküler pürüzlü kısım subkondral

kemiğe bakacak şekilde yapıştırılır. Üç dakika boyunca basınç uygulayarak yapışma beklenir. Gerekirse dikiş ile kuvvetlendirilebilir. (108) Dize birkaç defa fleksiyon-ekstansiyon yaptırılarak implatın stabilitesi kontrol edilir (109).



Şekil 8. Matriks rehberi otolog kondrosit implantasyonu uygulama tekniği (110)

2.4. MANYETİK ALAN TEDAVİSİ

Fiziksel bir tedavi yöntemi olan magnetoterapi manyetik alan etkileşimine dayanan girişimsel olmayan bir tedavi yöntemidir. Tıp alanında görüntüleme ve tedavi amaçlı kullanılmaktadır (111-114).

2.4.a Manyetik Alan Tedavi Uygulamaları

Tedavide kullanılmak üzere magnetotron, vitapulse ve medisend gibi değişik titreşimli ve farklı tip elektrotlarla kullanılan manyetik alan cihazları geliştirilmiştir. Elde edilen manyetik alanlar sabit yani statik yada değişken pulsatif olabilmektedir (111,113,115).

2.4.a.1 Statik Manyetik Alan Tedavisi

Statik manyetik alan oluşturmak için çeşitli elementlerden oluşturulmuş mıknatıslar veya bantlar kullanılmıştır (111). Cilt üzerine sıklıkla tetik noktalara konarak ağrı tedavisinde kullanılmıştır. Tedavide ana amaç olarak yara iyileşimi, analjezi, dolaşımı arttırmak için kullanılmıştır(116). Statik manyetik alan sürekli sinyal göndermesin dolayı bozucu ve zararlı etkilere de sebep olabilir (117).

2.4.a.2 Pulsatif Manyetik Alan Tedavisi

Dr. Wolfgang Ludwig'e göre uyarım, biyolojik rezonans efektleri adı verilen bir mekanizma yoluyla gerçekleşmelidir. Yaptığı araştırmalar sonucunda biyolojik etkinin oluşması ve fizyolojik olarak etkili olabilmesi için üretilen manyetik alanın doğadakine benzer olması gerektiğini bildirmiştir. Bunun için üretilen manyetik alan pulsatif olmalı, biyolojik pencere içinde olmalı ve schumann, jeomanyetik ve solar frekans yelpazesini içeriyor olması gerekir (115).

Pulsatif manyetik alan vücut dokularını etkileyerek hücre zarlarının geçirgenliğini artırır. Organizmada molekül, hücre ve sistemler düzeyinde karmaşık biyofiziksel aktivitelerin oluşmasını aktive eder (112,118).

2.4.b Manyetik Alanın Tıptaki Uygulama Alanları

1990 yılından beri değişik dalga boyu frekanstaki cihazlar değişik alanlarda tedavi alanında kullanılmıştır ve bu alanda birçok çalışma devam etmektedir (111).

Literatüre göre manyetik alanın endike olduğu hastalıklar şu şekilde sıralanabilir (111-122).

1. Periferik fasiyal paralizi
2. Yanıklar
3. Alt ekstremitenin iskemik bozuklukları
4. Trofik ülserlerin tedavisi
5. Baş ağrıları
6. Posttravmatik ödem ve hematomlar
7. Bronşit, sinüzit

8. Lipid metabolizma hastalıkları
9. Lokalize osteoporoz
10. Hiper ve hipotiroidi
11. Romatizmal hastalıklar
12. . Kraniofasiyal ağrılar
13. Tendinitler ve yumuşak doku yaralanmaları
14. Spastisite
15. Geç ve zor kaynayan kırıklar
16. Refleks sempatik distrofi

2.4.c Manyetik Alanın Kıkırdak ve Kemiğe Etkileri

Düşük ve orta frekanslı EMA ların kemik kıkırdak gibi birçok biyolojik dokuyu etkilediği gösterilmiştir. Birçok bilimsel çalışma bu etkileri doğrulamıştır. Laboratuvar ortamında ve in vivo yapılan çalışmalar EMA ların birçok fizyolojik parametreyi değiştirebileceği gösterilmiştir (123).

Bir çok çalışmada zayıf ve orta düzey SMA nın in vivo ve in vitro kemik iyileşimini arttırdığı gösterilmiştir (124-128). 8-10 T lik SMA nın kemik matrik proteinlerinin oryantasyonu ve düzenlenmesine etkisi in vitro ve in vivo ortamlarda gösterilmiştir (129-132). Yamamoto sıçan kafatası kemik oluşumunun 160 mt 280 mt 340 mt SMA ile orantısal olarak arttığını göstermiştir. Bunu SMA hücresel düzeyde yaptığı p38 fosforilasyonu ile osteoblastik aktiviteyi uyardığı düşünülmektedir (133). SMA ameliyatın neden olduğu kemik yoğunluğundaki azalışı önlemek için kullanılmıştır (134). SMA ek olarak pulsatif EMA nın kemik kırık iyileşimini, spinal füzyonu, tibia gecikmiş kaynama yada kaynamamaları etkili olduğu gösterilmiştir (135-139).

Yapılan çalışmalarda SMA nın in vitro olarak terminal kondrojenik farklılaşmanın önemli bir göstergesi olan BMSC'ler tarafından GAG üretimini uyarmıştır. Bu etkiyi doza bağımlı olarak göstermiştir. Maksimum etkisini 0.4 T ve 3.haftada göstermiştir ve daha uzun zamanlı sonuçları değerlendirilmemiştir. PCR

alışmaları SMA'da kültürlenen BMSC'lerin, erken kondrojenik transkripsiyon faktörü SOX9'un (1.1 ve 3.2 kat daha yüksek) daha yüksek seviyeleri gösterdiği grlmştir. 0.4 T SMA da, güçlü kondrojenik büyüme faktörü TGF-β3 olmadan bile BMSC lerin GAG üretimini uyarmıştır. SMA'nın BMSC lerin TGF-β3 üretimini belirgin şekilde uyardığını göstermiştir (140).

Düşük frekanslı EMA kıkırdak proliferasyonuna etkisi, kondrosit uyarımı ve matris üretimini arttırdığı sıçanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (4). 0.6 T SMA nın insan kıkırdak dokusundaki metabolik aktiviteyi arttırdığı gösterilmiştir, bunun yanısıra orta yoğunluktaki SMA nın hücre proliferasyonunu indüklediği ve yüksek yoğunluktaki 3 T ve zeri SMA nın kondrosit hücre proliferasyonunu azalttığı ve hücre apoptozunu indüklediği gösterilmiştir. Orta yoğunluktaki SMA iskemik rat modellerinde kemik formasyonunu desteklediği ve kemik mineral dansitesini arttırdığı gösterilmiştir. SMA nın diğer etkileride ödemi ve inflamasyonu azaltmasıdır. Yapılan deneyler ve çalışmalarda 1Mt-1T arası SMA değerlerinin bir çok biyolojik fonksiyona sahip olduğu gösterilmiştir (4-17).

EMA olumlu etkilerini wolf kanunu ve piezoelektrik stndende gösterir. EMA kıkırdak ve kemikte bulunan Ca, K, Mg iyonlarının hareketliliğini etkileyerek kollajen sentezinde olumlu yönde etki eder (141). Kollajenler α zinciri olarak bilinen 3 adet polipeptid biriminden oluşur. Yirmiden fazla kollajen çeşidi hayvan dokularında bulunmaktadır (142). ECM, fibriller protein, proteoglikan ve GAG lar hücrelerin çevresinde elektrokimyasal bir alan oluştururlar ve hücrelerin dışardan içeriye içerden dışarıya sinyal iletiminde rol alırlar. ECM komponentlerinden olan suda çözünebilen iyonlar, GAG ve proteinlerin yüklü grupları EMA etkilenir. Proteinlerin EMA boyunca hareket ederek hücre zarındaki bağlanma bölgelerindeki reseptörlere ulaştığı bildirilmiştir. Elektromanyetik stimülasyonun serum proteinlerinin ve özellikle fibronektinin adsorpsiyonunu etkilediği bildirilmiştir (143).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

“Tavşan Kıkırdak Defekti Modelinde Statik Manyetik Alanın Kıkırdak İyileşmesi Üzerine Etkisi ” başlıklı projemiz Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 28. 08. 2019 tarih, Toplantı Sayısı: 08, Karar No: 19/149 kararıyla bilimsel ve etik açıdan uygun görülüp onaylanmıştır. Deneyler Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi araştırma ünitesi ve ameliyathanelerinde yapılmıştır. Araştırma projemiz Kayseri Şehir Hastanesi Tıpta Uzmanlık Kurulu 12.07.2019 tarih ve 28 nolu kararı ile Kayseri Şehir Hastanesi Döner Sermaye Eğitim Giderleri Bütçesinden / Genel Bütçe Kaynaklarından desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Çalışmamızda Saki Yenilli Deney Hayvanları Üretim Laboratuvarından temin edilen, iskelet maturasyonunu tamamlamış, 6 aylıktan büyük, 2500 gram üzerinde, beyaz Yeni Zelanda türü 15 adet tavşan kullanıldı. Hayvanlar çalışmaya başlamadan önce standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz-12 saat gece olacak şekilde ışıklandırma altında, %50-60 nem ve 20-22 C oda sıcaklığında) tekli kafeslerde bekletildi, hayvanların laboratuvar ortamına alışmaları sağlandı. Serbest yem ve su erişimi yapıldı.

Tavşanlar her iki dizlerinden opere edildi. Tavşanların sağ dizleri miknatis yerleştirilecek olan SMA grubunu, sol dizler ise kontrol grubu oluşturacak şekilde planlandı. Çalışma süreci başında iki tavşanın ölmesi üzerine çalışmaya on üç tavşan (26 diz) ile devam edildi.

3.2. Anestezi ve Cerrahi İşlem

Hayvanlar tartıldıktan sonra tüm hayvanlara cerrahi işlem öncesi intramüsküler 35mg / kg Ketamin Hidroklorid (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul) ve 6mg/kg Xylazine® (Rhompun, Bayer, İstanbul) intramuskuler yolla verilerek genel anestezi uygulandı. Preoperatif cerrahi enfeksiyon profilaksisi amacıyla hayvanlara birinci kuşak sefalosporin (sefazolin sodyum, Sefazol, Mustafa Nevzat İlaç Sanayii A.Ş. İstanbul) 50mg/kg dozda verildi. Genel anestezinin yeterliliği kontrol edildikten sonra tavşanların her iki diz bölgesi traş makinesi ile traşlanarak temizlendi. Cerrahi

bölge polyvidon iyot (Batticon®, Adeka İlaç San. ve Tic. A.Ş Maslak / İSTANBUL) kullanılarak lokal antisepsi sağlanmasının ardından steril olarak örtüldü (Şekil 8).

Kullanılan cerrahi aletler, Avrupa Sterilizasyon Enstitüsü kriterlerine uygun olarak 135 derece ve 2 atm basınç altında buhar ile otoklavda sterilize edildi. Literatürde tarif edildiği gibi yaklaşık 5 cm lik longitudinal cilt insizyonu sonrası subkutan yumuşak dokular diseke edilip medial parapatellar yaklaşımla eklem kapsülüne ulaşıldı (Şekil 9). Patella laterale devrildikten sonra eklem kapsülü açılarak diz fleksiyona alınarak femoral kondiller ve femur patellar oluğu açığa çıkarıldı (Şekil 10).

İntraartiküler yapılar enfeksiyon veya deformite gibi herhangi bir anormal durum için incelendi ve tüm eklem içi yapının normal olduğu doğrulandıktan sonra sol dize bir adet kılavuz kirschner teli (k teli) teli intramedüller olarak gönderildi (Şekil 11). Daha sonra oyucu yardımıyla 5mm çapında 5 mm derinliğinde osteokondral defekt sol diz medial kondilin yük taşıyan kısmında oluşturuldu (Şekil 12,13). Sağ dizde bir adet kılavuz kirschner teli ve oyucu yardımıyla 5mm çapında 5 mm derinliğinde OKD medial kondilin yük taşıyan kısmında oluşturuldu ve kirschner teli üzerinden 2.7mm kanüllü dril ucuyla 6mm derinliğinde delinerek bu deliğe 3mm çaplı 6 mm uzunluğundaki silindirik nikel kaplı mıknatıs defekte sıfır olacak şekilde yerleştirildi (Şekil 14,15).

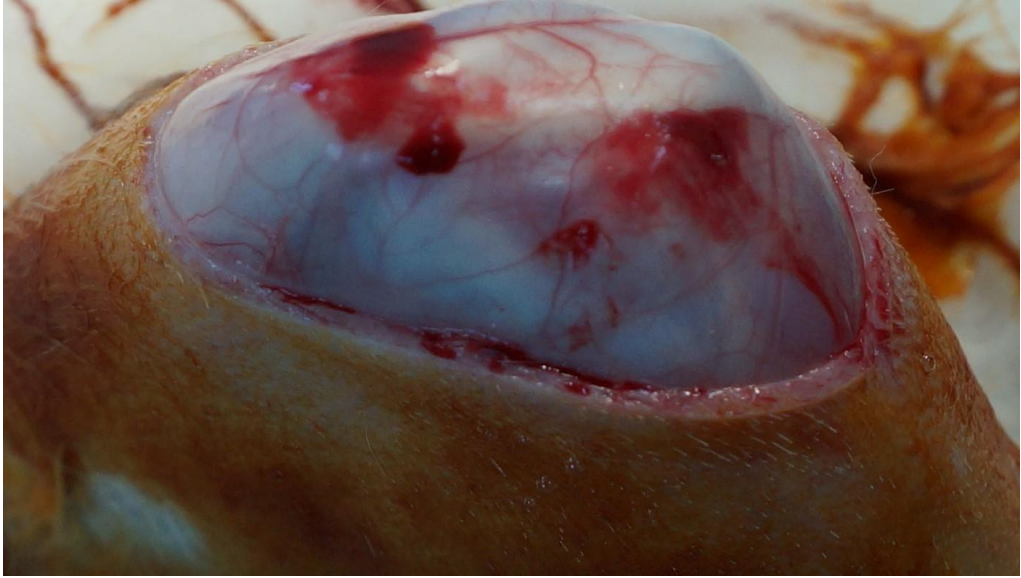
İşlem sonrası tüm cerrahi bölge steril serum fizyolojik ile yıkandı. Eklem kapsülü ve fasya emilebilir sütürlerle (Vicryl 4/0), cilt ise primer olarak yine emilebilir sütürler (Vicryl 2/0) ile usulüne uygun kapatıldı. Cilt kapandıktan sonra pansuman yapıldı ve hayvanlar operasyon sonrası takibe alındı. (Şekil 16).

Çalışmamızdaki tavşanların cerrahi işlem sonrasında standart yem ve su ile serbest beslenmesi sağlanarak, günlük yara yeri bakımı ve takibi yapıldı. Tüm tavşanların kafes içerisinde serbest yürümelerine izin verilerek, herhangi bir hareket kısıtlılığı uygulanmadı. Postoperatif ilk gün antibiyotik ve analjezi uygulandı. Cerrahi bölge enfeksiyonu veya tavşanda gelişebilecek sistemik enfeksiyon bulguları bakımından gözlem altında tutuldu. Tavşanlar, Erviyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında tek hayvan barındıran kafeslerde 12

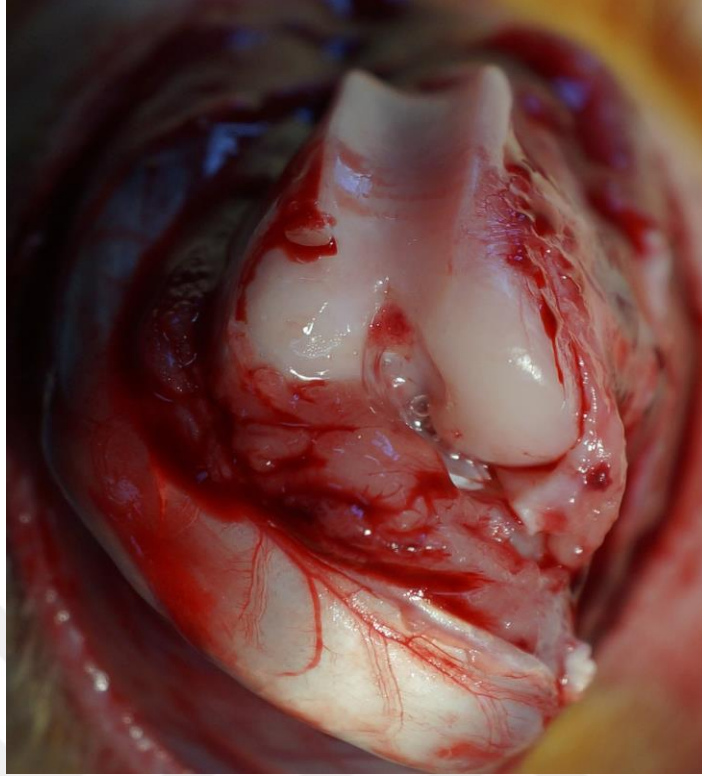
hafta takip edildi. Çalışma süresince 2 adet hayvan post op dönemde öldü. Deney hayvanlarında lokal veya sistemik bir enfeksiyon yaşanmadı.



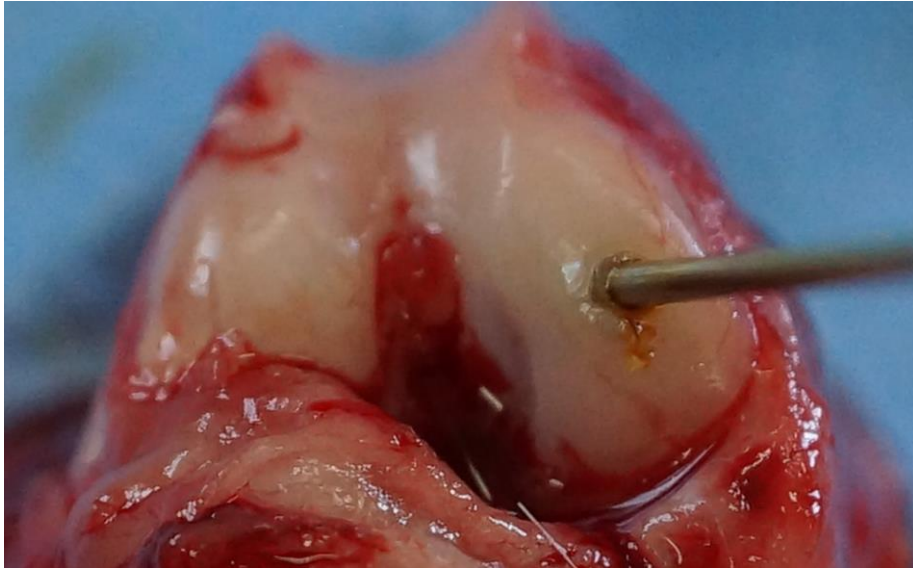
Şekil 9. Tavşan her iki dizinin traş ve boyanma sonrası, örtünme öncesi görüntüsü



Şekil 10. Tavşanın sağ dizinin anterior uzunlamasına cilt insizyonu sonrası cerrahi görünümü



Şekil 11. Patella laterale devrildikten sonra eklem kapsülü açılarak diz fleksiyona alındıktan sonraki eklem içi görüntü



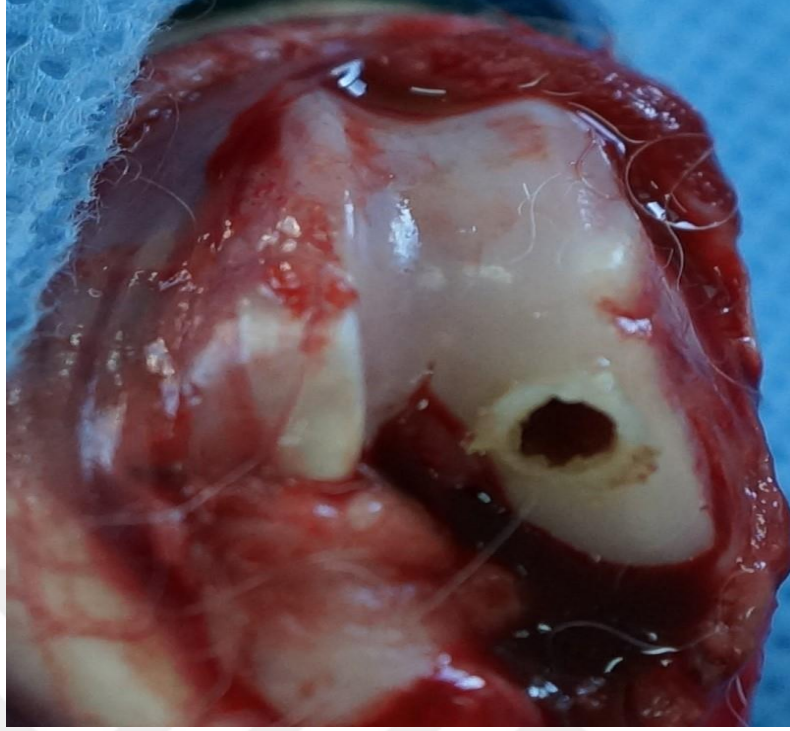
Şekil 12. Tavşan femur medil kondilinde intramedüller kılavuz teli gönderildikten sonraki görüntü



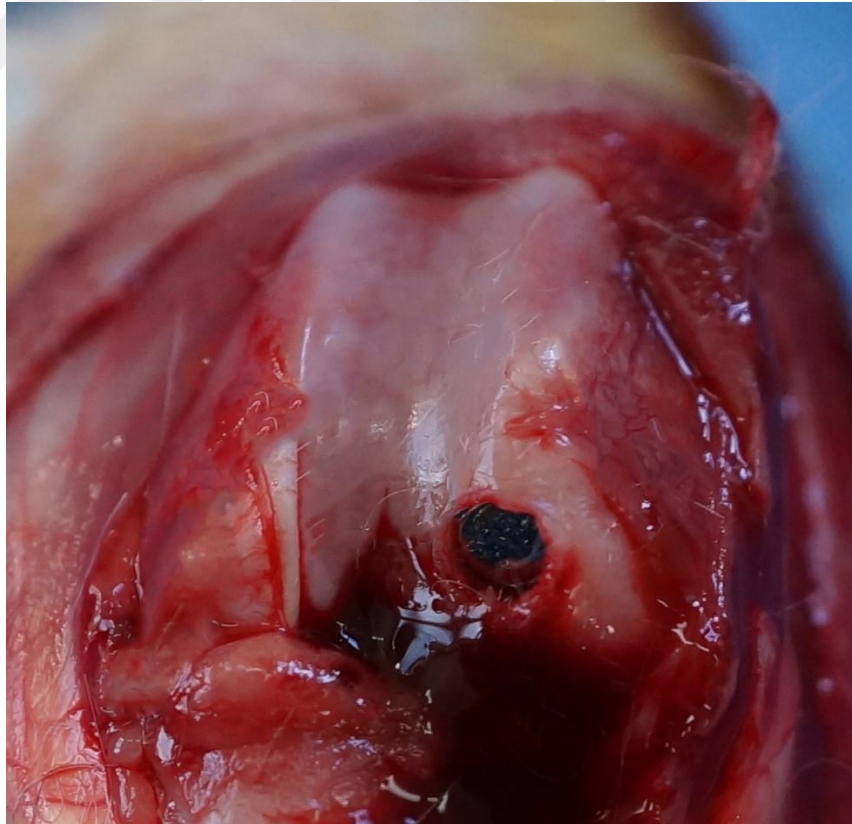
Şekil 13. Kılavuz tel üzerinden oyucu yardımıyla osteokondral defektin oluşturulması



Şekil 14. 5mm × 5mm lik kıkırdak parçanın görünümü



Şekil 15. Sağ diz medial kondilde oluşturulan defektin mıknatıs yerleştirilmeden önceki görüntüsü



Şekil 16. Sağ diz medial femoral kondil osteokondral defektin merkezine silindirik 3×6 nikel kaplı mıknatısın yerleştirildikten sonraki görüntüsü



Şekil 17. Cilt cilt altı dokular sütüre edilip pansuman sonrası fotoğraf

3.3. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu

Planlanan on iki haftalık takip süresinin sonunda, tüm hayvanlar yüksek doz thiopental sodium (Pental, İbrahim Etem Ulagay İlaç Sanayi Türk A.Ş.) uygulanarak sakrifiye edildi. Sakrifikasyon sonrasında, deney hayvanlarının her iki diz eklemleri tekrar açılarak, diz eklemleri etrafındaki tüm yumuşak dokular temizledi. Femur distalleri net olarak ortaya konduktan sonra her iki diz femur distali kondiler bölgedeki sağlam ve hasar oluşturulmuş tüm eklem kıkırdığını içerecek şekilde eklem hizasının yaklaşık 2 cm proksimalinden aksiyel planda testere yardımı ile kesildi ve femoral kondiller deney hayvanının vücudundan uzaklaştırıldı (Şekil17). Makroskopik değerlendirmeler yapıldıktan sonra %10' luk formolin içeren kaplarda histokimyasal inceleme için saklandı.



Şekil 18. Femoral kondiller deney hayvanının vücudundan uzaklaştırıldıktan sonra toplu fotoğraf

3.4 Değerlendirme

3.4.a Makroskopik Değerlendirme

Femur medial kondil kırıldak dokusundaki makroskopik dejeneratif değişiklikler ICRS makroskopik değerlendirme skalası kullanılarak bağımsız iki ortopedi uzmanı tarafından kör olarak değerlendirildi ve bulunan değerlerin ortalamaları alındı. Değerlendirme sonrası örnekler %10' luk formolin içerisinde saklandı.

3.4.b Histolojik Değerlendirme

Dokular histokimyasal incelemeler için %10'luk formolde 24–48 saat bekletilerek fiske edildi. Ardından kemik dokunun dekalsifikasyonu için dokular, nitrik asit de 1 hafta bekletildi. Daha sonra nitrik asitin uzaklaştırılması amacıyla 15 dakika akarsu altında yıkandı. Dehidratasyon amacıyla sırasıyla %70, %80 ve %96'lık etil alkol serilerinde 20'şer dakika; ardından 4 farklı aseton serisinde 20'şer dakika tutuldu. Şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki farklı ksilene tabi tutuldu. 1'er saatlik 2 kez yumuşak parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular sert parafin bloklar içerisine gömüldü. Rotary mikrotom (RM 2255, Leica) aracılığı ile 5µ kalınlığında kesitler alındı. Kesit alanındaki mıknatıslar çıkarıldı.

Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde tutuldu. Ardından ilki 20 dakika (etüvde) diğer ikisi 10'ar dakikalık üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra dehidratasyon işlemi için 5 değişim azalan alkol serilerinden geçirildi, kesitler distile su ile çalkalandıktan sonra 10 dakika hematoksilen (Ref:Bs-001 Bes Lab, Harris Hematoxylin solution) ile boyandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 2 dakika eozin (Ref: 6766007, Shandon Eozin Y Alcholic) boyası ile boyandı. Boyamadan sonra sırasıyla %70, %80, %96 ve 2 seri absölü alkolden geçirilen kesitler şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dakika üç değişim ksilende tutulduktan sonra (UN 1866, Cell Path, DPX) ile kapatıldı.

Her örnek patolojiye numaralandırılarak gönderildiği ve örneğin hangi gruba dahil olduğunu bilinmediği için patoloğun kör değerlendirme yapması sağlandı. Histopatolojik analizler, bir patolog tarafından kör bir şekilde yapıldı. Kesitler ışık

mikroskobu (Nikon Eclipse Nİ) altında değ erlendirildi. Tüm kesitler daha önce tanımlanan ICRS-2, ICRS 1 skorlamasıyla değ erlendirildi.

3.5 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM, Armonk, NY, ABD) kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğunu test etmek için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Veriler Mann-Whitney U-testi kullanılarak karşılaştırıldı. $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4.BULGULAR

4.1 Makroskopik Değerlendirme

ICRS makroskopik kıkırdak tamir değerlendirme skalasına göre SMA grubundaki örneklerin beş tanesi grade iki (kısmen normal) beş tanesi grade üç (anormal) ve üç tanesi grade dört (ciddi anormal) bulunmuştur. Kontrol grubunda ise beş örnek grade iki, yedi örnek grade üç ve diğer bir örnek grade dört olarak bulundu. Ortalama toplam değer SMA grubunda 5.92 ± 4.11 (Dağılım, 0-11) kontrol grubunda 6.62 ± 1.89 (Dağılım, 3-10) olarak hesaplanmıştır. Toplam ICRS makroskopik değerlendirme skalası skorlarına göre SMA grubu ile kontrol grubu arasındaki fark anlamsız bulunmuştur ($p=0.756$) (Tablo 8).

Tablo 8. Her iki grubun ICRS makroskopik değerlendirme skorunun toplam sonuçları

ICRS Makroskopik Toplam		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	5	5
2	9	3
3	0	10
4	11	6
5	0	6
6	0	9
7	6	6
8	7	6
9	8	8
10	5	6
11	4	5
12	11	8
13	11	8
Ortalama	5.92±4,11	6.62±1.89
P değeri	0.756	

SMA grubundaki beş örnekte defekt tamamen dolmuştu, kontrol grubunda ise dört örnekte defekt tamamen dolmuştu. SMA grubundaki dört örnekte defektin %75' i tamir dokusu ile doluydu, bir örnekte defektin %50' si geri kalan üç örnekte %0' ı tamir dokusu ile dolmuştu. Kontrol grubunda ise yedi örnekte defektin %75' ini, bir örnekte %50' sini, bir örnekte ise %25' ini tamir dokusu doldurmuştu. ICRS kıkırdak

tamir değerlendirme skalasına göre SMA grubunda defektin tamir derecesi skorları ortalama 2.62 ± 1.60 (Dağılım, 0-4) bulunurken kontrol grubunda 3.08 ± 0.86 (Dağılım, 1-4) bulunmuştur. SMA ve kontrol grubu karşılaştırıldığında defektin dolum derecesi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0.743$) (Tablo 9).

Tablo 9. Her iki grubun ICRS makroskopik değerlendirme skorunun defekt onarım derecesi sonuçları

Defekt Onarımın Derecesi		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	3	3
2	4	1
3	0	4
4	4	3
5	0	4
6	0	4
7	3	2
8	3	4
9	4	3
10	3	3
11	2	3
12	4	3
13	4	3
Ortalama	2.62 ± 1.60	3.08 ± 0.86
P değeri	0.743	

Statik manyetik alan grubundaki üç örnekte çevre sınır doku ile tamir dokusu tam entegreydi, bu durum kontrol grubunda hiç bir örnekte yoktu. Yapılan incelemede SMA grubunda sınır bölgesine entegrasyon için ortalama değer 1.85 ± 1.51 (Dağılım, 0-4) kontrol grubunda 2.0 ± 0.91 (Dağılım, 1-3) bulunmuştur. İki grubun defektin dolum derecesi skorları karşılaştırıldığında fark anlamsız bulunmuştur ($p=0.673$) (Tablo 10).

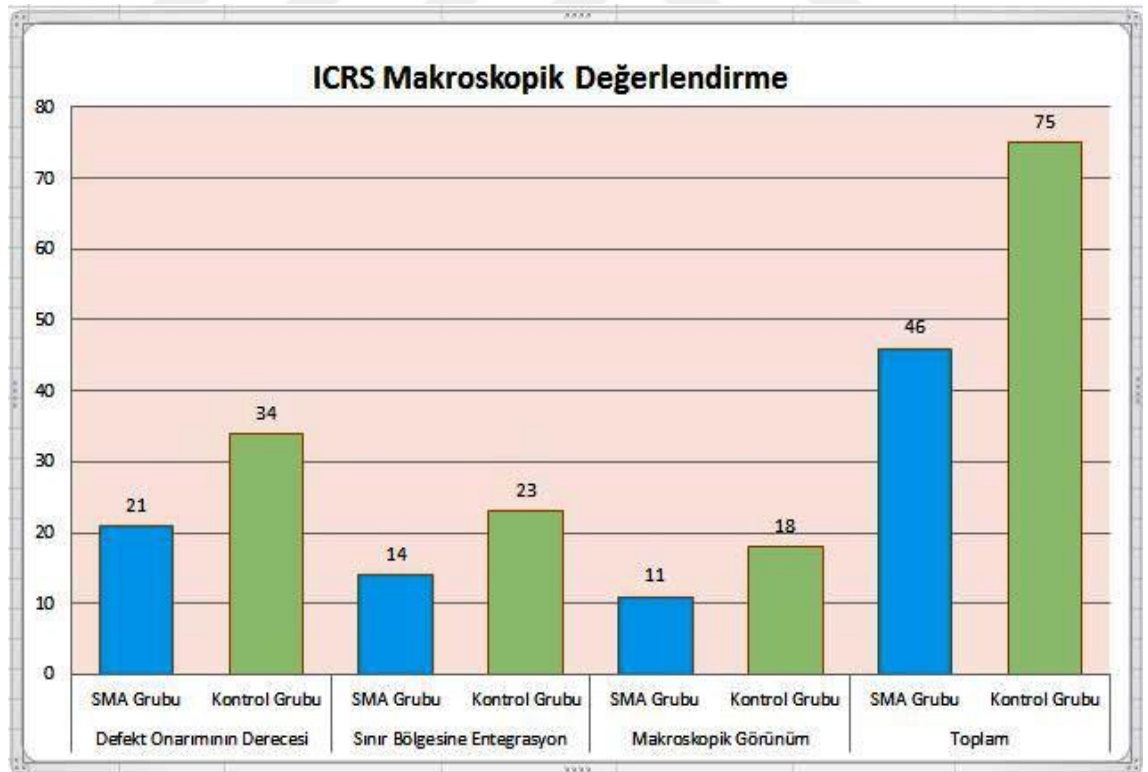
Tablo 10. Her iki grubun ICRS makroskopik değerlendirme skorunun sınır bölgesine entegrasyon sonuçları

Sınır Bölgesine Entegrasyon		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	1	1
2	3	1
3	0	3
4	4	2
5	0	1
6	0	3
7	2	2
8	2	1
9	2	3
10	1	2
11	1	1
12	4	3
13	4	3
Ortalama	1.85±1.51	2.0±0.91
P değeri	0.673	

Makroskopik olarak tamir dokusunun yüzeyi incelendiğinde SMA grubundaki üç örnekte yüzey liflenmiş gözüküyordu, üç örnekte küçük dağınık çatlaklar mevcuttu, dört örnekte ise tamir dokusunun yüzeyi büyük yarıklar mevcuttu, üç örnekte ise total dejenerasyon mevcuttu. Kontrol grubunda bir örnekte liflenmiş yüzey, beş örnekte küçük çatlaklar, yedi örnekte büyük yarıklar mevcuttu. Makroskopik görünüme göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer 1.46 ± 1.12 (Dağılım , 0-3) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 1.54 ± 0.66 (Dağılım, 1-3) bulunmuştur. Bu skorlar arasındaki farklar anlamlı bulunmamıştır ($p=0.807$) (Tablo 11).

Tablo 11. Her iki grubun ICRS makroskopik değerlendirme skorunun makroskopik görünüm sonuçları

Makroskopik Görünüm		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	1	1
2	2	1
3	0	3
4	3	1
5	0	1
6	0	2
7	1	2
8	2	1
9	2	2
10	1	1
11	1	1
12	3	2
13	3	2
Ortalama	1.46±1.12	1.54±0.66
P değeri	0.807	



Grafik 1. Çalışmadaki grupların ICRS makroskopik değerlendirme sonucunun grafiksel görünümü



Şekil 19. Kontrol grubu olarak kullanılan tavşanın sol dizinin medial femoral kondilindeki defektin (yuvarlak içine alınmış alan) onikinci haftadaki makroskopik görüntüsü.



Şekil 20. SMA grubu olarak kullanılan tavşanın sağ dizinin medial femoral kondilindeki defektin (yuvarlak içine alınmış alan) onikinci haftadaki makroskopik görüntüsü

4.2 Histolojik Değerlendirme

4.2.a. ICRS 1 Histolojik Skorlama

Histolojik olarak incelendiğinde ICRS 1 histolojik skorlama sisteminin toplam skorları açısından SMA grubunda ortalama değer 8.08 ± 3.59 (Dağılım, 2-13) , kontrol grubunda 9.54 ± 4.40 (Dağılım, 1-15) bulunmuştur. İki grup arasında ICRS 1 toplam skorları açısından anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.328$) (Tablo 12).

Tablo 12. Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun toplam sonuçları

ICRS 1 Toplam		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	12	12
2	10	11
3	2	8
4	8	8
5	12	15
6	13	14
7	10	15
8	4	9
9	11	5
10	8	5
11	5	7
12	6	14
13	4	1
Ortalama	8.08 ± 3.59	9.54 ± 4.40
P değeri	0.328	

Histolojik olarak incelendiğinde ICRS 1 histolojik skorlama sistemine göre tamir dokusu yüzeyi SMA grubunda iki örnekte yüzey düz (regüler) iken kontrol grubundaki dört örnekte regülerdi. Ortalama toplam değer SMA grubunda 0.46 ± 1.12 (Dağılım, 0-3) kontrol grubunda 0.92 ± 1.44 (Dağılım, 0-3) olarak hesaplandı. İki grup skorları arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.361$) (Tablo 13).

Tablo 13. Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun yüzey sonuçları

Yüzey		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	3	3
6	3	3
7	0	3
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	3
13	0	0
Ortalama	0.46±1.12	0.92±1.44
P değeri	0.361	

Matriks incelendiğinde kontrol grubundaki dört örnekte tamir dokusu hyalin kıkırdaktan oluşmaktaydı. Kontrol grubundaki beş örnekte matriks karışık vasıfta, yani hyalin ve fibrokartilaj yapı birlikteydi. İki örnekte ise tamamen fibrokartilaj vasıftaydı. İki örnekte ise fibröz doku vasıftaydı. SMA grubundaki yedi örnekte matriks karışık vasıftaydı, beş örnekte ise tamamen fibrokartilaj vasıftaydı, bir örnekte ise fibröz doku vasıftaydı. Kıkırdak matriksi histolojik incelemesine göre SMA grubundaki ortalama skor 1.46 ± 0.66 (Dağılım, 0-2), kontrol grubunda 1.85 ± 1.06 (Dağılım, 0-3) olarak bulundu. Aradaki fark anlamlı değildi ($p=0.208$) (Tablo 14).

Tablo 14. Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun matriks sonuçları

Matriks		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	2	2
2	2	3
3	1	0
4	1	1
5	1	3
6	2	3
7	2	3
8	1	2
9	2	1
10	2	2
11	1	2
12	2	2
13	0	0
Ortalama	1.46±0.66	1.85±1.06
P değeri	0.208	

Hücre dağılımına bakıldığında sadece kolumnar hücrelerden oluşma hiçbir örnekte yoktu. SMA grubunda üç örnekte, kontrol grubunda dört örnekte miks / kolumnar hücre kümeleri mevcuttu. SMA grubunda on örnekte, kontrol grubunda dokuz örnekte tek tek organize olmayan hücreler mevcuttu. Hücre dağılımı açısından SMA grubundaki ortalama skorlar 0.46 ± 0.87 (Dağılım, 0-2), kontrol grunda 0.62 ± 0.96 (Dağılım, 0-2) idi. Aradaki fark anlamlı değildi ($p=0.665$) (Tablo 15).

Tablo 15. Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun hücre dağılımı sonuçları

Hücre Dağılımı		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	2	2
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	2
9	2	0
10	2	0
11	0	2
12	0	2
13	0	0
Ortalama	0.46±0.87	0.62±0.96
P değeri	0.665	

Hücre popülasyonu canlılığı açısından SMA grubundaki beş örnekte canlı baskındı, altı örnekte parsiyel canlı hücre popülasyonu görüldü, iki örnekte ise canlı hücre sayısı %10 un altındaydı. Kontrol grubunda sekiz örnekte canlı baskındı. Kontrol grubunda bir örnekte canlı hücre popülasyonu % 10' un altındaydı, dört örnekte hücre popülasyonu parsiyel canlı idi. Ortalama skorlar SMA grubunda 2.08 ± 1.03 (Dağılım, 0-3), kontrol grubunda 2.46 ± 0.87 (Dağılım, 0-3) idi. İki grup arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.245$) (Tablo 16).

Tablo 16. Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun hücre popülasyonu canlılığı sonuçları

Hücre Popülasyon Canlılığı		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	3	3
2	3	3
3	0	3
4	2	2
5	3	3
6	3	3
7	3	3
8	2	3
9	0	2
10	2	2
11	2	2
12	2	3
13	2	0
Ortalama	2.08±1.03	2.46±0.87
P değeri	0.245	

Subkondral kemik incelendiğinde kontrol grubunda iki örnekte subkondral kemik normal bulunurken, yedi örnekte artmış remodelling gözlemlendi, dört örnekte kemik nekrozu/granülasyon dokusu tespit edildi. Kontrol grubunda kırık/kallus tespit edilmedi. SMA grubunda ise subkondral kemik hiç bir örnekte normal tespit edilmedi. On bir örnekte artmış remodelling vardı. İki örnekte subkondral kemikte kemik nekrozu/granülasyon dokusu tespit edildi. Kırık/kallus tespit edilmedi. Ortalama skorlar SMA grubunda 1.85 ± 0.37 (Dağılım, 1-2) iken, kontrol grubunda 1.85 ± 0.68 (Dağılım, 1-3) idi. İki grup arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.899$) (Tablo 17).

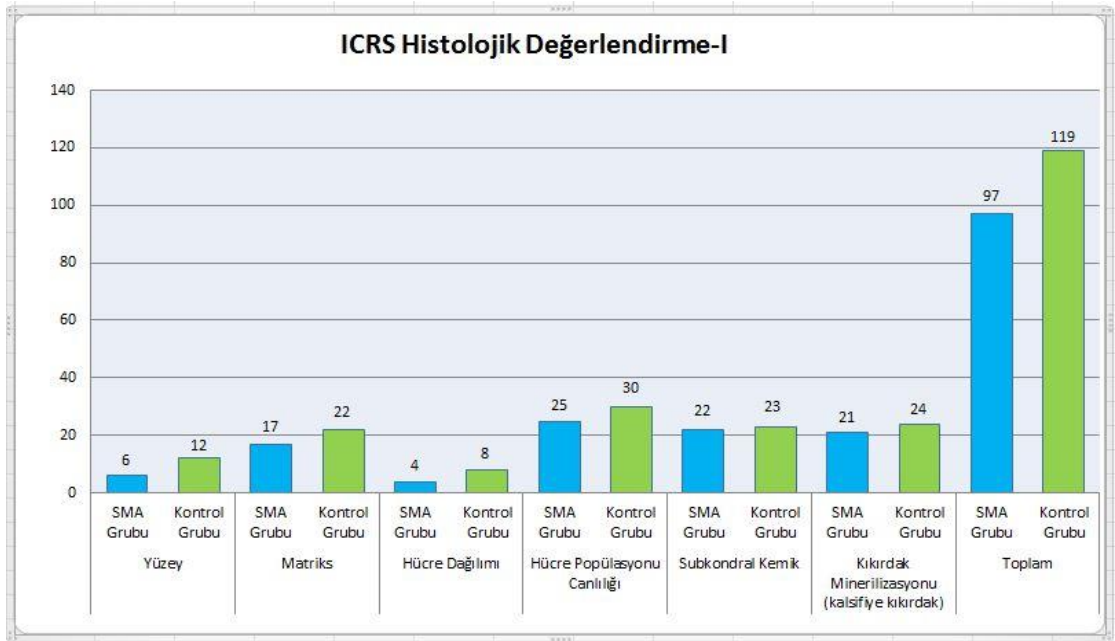
Tablo 17. Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun subkondral kemik sonuçları

Subkondral Kemik		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	2	2
2	2	2
3	1	2
4	2	2
5	2	3
6	2	2
7	2	3
8	1	2
9	2	2
10	2	1
11	2	1
12	2	1
13	2	1
Ortalama	1.85±0.376	1.85±0.689
P değeri	0.899	

Kıkırdak mineralizasyonu açısından histolojik olarak değerlendirildiğinde SMA grubundaki yedi örnekte kalsifiye kıkırdak bulunuyordu. Kontrol grubunda ise sekiz örnekte kalsifiye kıkırdak mevcuttu. SMA grubunda altı örnek, kontrol grubunda beş örnek anormal uygunsuz lokalizasyona sahipti. Ortalama skorlar SMA grubunda 1.62±1.55 (Dağılım, 0-3), kontrol grubunda 1.85±1.51 (Dağılım, 0-3) idi. İki grup arasındaki fark anlamlı bulunmadı (p=0.697) (Tablo 18).

Tablo 18. Her iki grubun ICRS 1 histolojik değerlendirme skorunun kıkırdak mineralizasyonu (kalsifiye kıkırdak) sonuçları

Kıkırdak Minerilizasyonu		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	3	3
2	3	3
3	0	3
4	3	3
5	3	3
6	3	3
7	3	3
8	0	0
9	3	0
10	0	0
11	0	0
12	0	3
13	0	0
Ortalama	1.62±1.55	1.85±1.51
P değeri	0.697	



Grafik 2. Çalışmadaki grupların ICRS 1 histolojik değerlendirme sonucunun grafiksel görünümü

4.2.b. ICRS 2 Histolojik Skorlama

Kondrosit fenotipi ve doku yapısı ile ilgili parametreleri değerlendirmek için 14 kriterden oluşan yeni bir histolojik skorlama sistemi olan ICRS II geliştirilmiştir (48).

ICRS 2, mevcut histolojik kırıldak onarım derecelendirme sistemlerinde okuyucunun yeniden değerlendirmesi açısından üstün olarak değerlendirilmiştir (48).

Bu sebeplerden dolayı bizde çalışmamızda hem ICRS 1 ve hem de ICRS 2 histolojik değerlendirme skorlarını kullandık.

ICRS 2 histolojik değerlendirme sistemi on dört adet alt başlıktan oluşmaktadır. Her parametre % 0 ve %100 olmak üzere iki adet değer almaktadır.

Histolojik olarak incelendiğinde ICRS 2 histolojik skorlama sisteminin toplam skorları açısından SMA grubunda ortalama değer 553.85 ± 284.65 (Dağılım, 300-1100), kontrol grubunda 661.54 ± 359.48 (Dağılım, 200-1200) bulunmuştur. İki grup arasında ICRS 2 toplam skorları açısından anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0.421$) (Tablo 19).

Tablo 19. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun toplam sonuçları

ICRS 2 Toplam		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	600	500
2	600	500
3	300	500
4	400	400
5	1100	1200
6	1100	1200
7	800	1100
8	300	700
9	500	500
10	400	300
11	300	400
12	500	1100
13	300	200
Ortalama	553.85 ± 284.65	661.54 ± 359.48
P değeri	0.421	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun morfolojisi incelendiğinde SMA grubundaki üç örnek % 100 (polarize ışık altında normal kıkırdak çift kırılmasına sahipti), on örnek % 0 (tam kalınlıkta kollajen fiberlerine sahipti), kontrol grubunda dört örnekte % 100, dokuz örnekte % 0 doku morfolojisine sahipti. Mikroskopik görünümüne göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer 30.77 ± 48.03 (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 38.46 ± 50.63 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki farklar anlamlı bulunmamıştır. ($p=0.686$) (Tablo 20).

Tablo 20. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun doku morfolojisi sonuçları

Doku Morfolojisi		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	100	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	100
6	100	100
7	100	100
8	0	100
9	100	0
10	0	0
11	0	0
12	0	100
13	0	0
Ortalama	30.77 ± 48.03	38.46 ± 50.63
P değeri	0.686	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun matriks lekelenmesi incelendiğinde SMA grubundaki iki örnek % 100 (matriks lekelenmesi var) ,on bir örnek % 0 (matriks lekelenmesi yok), kontrol grubunda bir örnekte % 100, on iki örnekte % 0 matriks lekelenmesine sahipti. Mikroskopik görünüme göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer 15.38 ± 37.55 (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 7.69 ± 27.73 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki farklar anlamlı bulunmamıştır ($p=0.547$) (Tablo 21).

Tablo 21. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun metakromazi sonuçları

Örnek	Metakromazi	
	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	100	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	100	0
8	0	100
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0
Ortalama	15.38 ± 37.55	7.69 ± 27.73
P değeri	0.547	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun hücre morfolojisi incelendiğinde SMA grubundaki on üç örnek % 100 (çoğunlukla oval/yuvarlak hücreler), kontrol grubunda sekiz örnekte % 100 beş örnekte % 0 (yuvarlak/oval hücre yok) hücre morfolojisine sahipti. Mikroskopik görünüme göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer $100 \pm$ (Dağılım, 100-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 69.23 ± 48.03 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki farklar SMA lehine anlamlı bulunmuştur ($p=0.033$) (Tablo 22).

Tablo 22. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun hücre morfolojisi sonuçları

Örnek	Hücre Morfolojisi	
	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	100	0
2	100	100
3	100	0
4	100	0
5	100	100
6	100	100
7	100	100
8	100	100
9	100	100
10	100	0
11	100	100
12	100	100
13	100	0
Ortalama	$100 \pm$	69.23 ± 48.03
P değeri	0.033	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun kondrosit kümelenmesi incelendiğinde SMA grubundaki on bir örnek % 100 kondrosit kümelenmesi yoktu, iki örnekte ise % 0 kondrosit kümelenmesi mevcuttu. Kontrol grubunda on örnekte % 100 kondrosit kümelenmesi yoktu, üç örnekte % 0 kondrosit kümelenmesi mevcuttu. Mikroskopik görünüme göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer 84.62 ± 37.55 (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 76.92 ± 43.85 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki farklar anlamlı bulunmamıştır ($p=0.626$) (Tablo 23).

Tablo 23. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun kondrosit kümelenmesi sonuçları

Örnek	Kondrosit Kümelenmesi	
	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	0	100
2	100	100
3	100	100
4	100	100
5	100	100
6	100	100
7	100	100
8	100	0
9	0	100
10	100	100
11	100	0
12	100	0
13	100	100
Ortalama	84.62 ± 37.55	76.92 ± 43.85
P değeri	0.626	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun yüzey mimarisi incelendiğinde SMA grubundaki iki örnek % 100 pürüzsüz yüzeye sahipti , on iki örnekte ise % 0 yüzeyde delaminasyon veya majör irregülerite mevcuttu. Kontrol grubunda dört örnekte % 100 yüzey pürüzsüzken , dokuz örnekte % 0 delaminasyon veya majör irregülerite mevcuttu. Mikroskopik görünüme göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer 15.38 ± 37.55 (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 30.77 ± 48.03 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki farklar anlamlı bulunmamıştır ($p=0.361$) (Tablo 24).

Tablo 24. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun yüzey mimarisi sonuçları

Yüzey Mimarisi		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	100	100
6	100	100
7	0	100
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	100
13	0	0
Ortalama	15.38 ± 37.55	30.77 ± 48.03
P değeri	0.361	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun bazal integrasyonu incelendiğinde SMA grubundaki üç örnek % 100 tam integrale iken, on örnekte ise % 0 integrasyon yoktu. Kontrol grubunda dört örnekte % 100 tam integrale iken, dokuz örnekte %0 integrasyon yoktu. Mikroskopik görünümüne göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer $23,08 \pm 43.85$ (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 30.77 ± 48.03 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki farklar anlamlı bulunmamıştır ($p=0.665$) (Tablo 25).

Tablo 25. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun bazal integrasyon sonuçları

Örnek	Bazal İntegrasyon	
	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	100	100
6	100	100
7	0	100
8	0	0
9	0	0
10	100	0
11	0	0
12	0	100
13	0	0
Ortalama	$23,08 \pm 43.85$	30.77 ± 48.03
P değeri	0.665	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun tidemark formasyonu incelendiğinde SMA grubundaki on üç örnek % 0 kalsifikasyon alanı yoktu. Kontrol grubunda bir örnekte % 100 tidemark mevcutken , on iki örnekte % 0 kalsifikasyon alanı yoktu. Mikroskopik görünümüne göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer $0 \pm$ (Dağılım, 0-0) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 7.69 ± 27.73 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki farklar anlamlı bulunmamıştır ($p=0.317$) (Tablo 26).

Tablo 26. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun tidemark formasyonu sonuçları

Tidemark Formasyonu		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	100
13	0	0
Ortalama	$0 \pm$	7.69 ± 27.735
P değeri	0.317	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun subkondral kemik anomalisi incelendiğinde SMA grubundaki altı örnek % 100 normal kemik iliğine sahipken, yedi örnek % 0 anormal kemik iliğine sahipti. Kontrol grubunda on bir örnekte % 100 normal kemik iliğine sahipken, iki örnekte % 0 anormal kemik iliği mevcuttu. Mikroskopik görünümüne göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer 46.15 ± 51.88 (Dağılım ,0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 84.62 ± 37.55 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki farklar kontrol grubu lehine anlamlı bulunmuştur ($p=0.043$) (Tablo 27).

Tablo 27. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun subkondral kemik anomalisi sonuçları

Örnek	Subkondral Kemik Anomalisi	
	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	100	100
2	100	100
3	0	100
4	0	0
5	100	100
6	100	100
7	100	100
8	0	100
9	0	100
10	100	100
11	0	100
12	0	100
13	0	0
Ortalama	46.15 ± 51.88	84.62 ± 37.55
P değeri	0.043	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun inflamasyon açısından incelendiğinde SMA grubundaki üç örnek % 100 inflamasyon yok, on örnek % 0 inflamasyon mevcuttu. Kontrol grubunda on örnekte % 100 inflamasyon yok, üç örnekte % 0 inflamasyon mevcuttu. Mikroskopik görünüme göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer 23.08 ± 43.85 (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 76.92 ± 43.85 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki fark kontrol grubu lehine anlamlı bulunmuştur ($p=0.007$) (Tablo 28).

Tablo 28. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun inflamasyon sonuçları

Örnek	Inflamasyon	
	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	0	0
2	0	100
3	0	100
4	100	100
5	100	100
6	100	100
7	0	100
8	0	100
9	0	100
10	0	0
11	0	100
12	0	100
13	0	0
Ortalama	23.08 ± 43.85	76.92 ± 43.85
P değeri	0.007	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusu anormal kalsifikasyon açısından incelendiğinde SMA grubundaki on iki örnek % 100 anormal kalsifikasyon yokken, bir örnekte % 0 anormal kalsifikasyon mevcuttu. Kontrol grubundaki on iki örnek % 100 anormal kalsifikasyon yokken, bir örnekte % 0 anormal kalsifikasyon mevcuttu. Mikroskopik görünümüne göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer 92.31 ± 27.73 (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 92.31 ± 27.73 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p=1$) (Tablo 29).

Tablo 29. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun anormal kalsifikasyon sonuçları

Örnek	Anormal Kalsifikasyon	
	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	100	100
2	100	100
3	100	100
4	100	100
5	100	100
6	100	100
7	100	100
8	100	100
9	100	100
10	0	100
11	100	100
12	100	0
13	100	100
Ortalama	92.31 ± 27.73	92.31 ± 27.73
P değeri	1	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun vaskülarizasyon açısından incelendiğinde SMA grubunda bir örnekte % 100 vaskülarizasyon yoktu, on iki örnekte % 0 vaskülarizasyon mevcuttu. Kontrol grubunda beş örnekte % 100 vaskülarizasyon yok, sekiz örnekte % 0 vaskülarizasyon mevcuttu. Mikroskopik görünümüne göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer 7.69 ± 27.73 (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 38.46 ± 50.63 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p=0.68$) (Tablo 30).

Tablo 30. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun vaskülarizasyon sonuçları

Örnek	Vaskülarizasyon	
	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	100	100
6	0	100
7	0	100
8	0	100
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	100
13	0	0
Ortalama	7.69 ± 27.73	38.46 ± 50.63
P değeri	0.68	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun vaskülarizasyon açısından incelendiğinde SMA grubunda iki örnekte % 100 intakt artiküler yüzey, on bir örnekte % 0 total kayıp/tam bozulma mevcuttu. Kontrol grubunda dört örnekte % 100 intakt artiküler yüzey, dokuz örnekte % 0 total kayıp/tam bozulma mevcuttu. Mikroskopik görünüme göre değerlendirildiğinde SMA grubunda ortalama değer 15.38 ± 37.55 (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 30.77 ± 48.03 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p=0.361$) (Tablo 31).

Tablo 31. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun yüzey değerlendirmesi sonuçları

Örnek	Yüzey	
	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	100	100
6	100	100
7	0	100
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	100
13	0	0
Ortalama	15.38 ± 37.55	30.77 ± 48.03
P değeri	0.361	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun derin zon incelenmesinde SMA grubunda yedi örnekte % 100 hiyalin kıkırdak, altı örnekte % 0 fibröz doku mevcuttu. Kontrol grubunda altı örnekte % 100 hiyalin kıkırdak, yedi örnekte % 0 fibröz doku mevcuttu. Mikroskopik görünümüne göre değerlendirildiğinde SMA ortalama değer 53.85 ± 51.88 (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 46.15 ± 51.88 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p=0.701$) (Tablo 32).

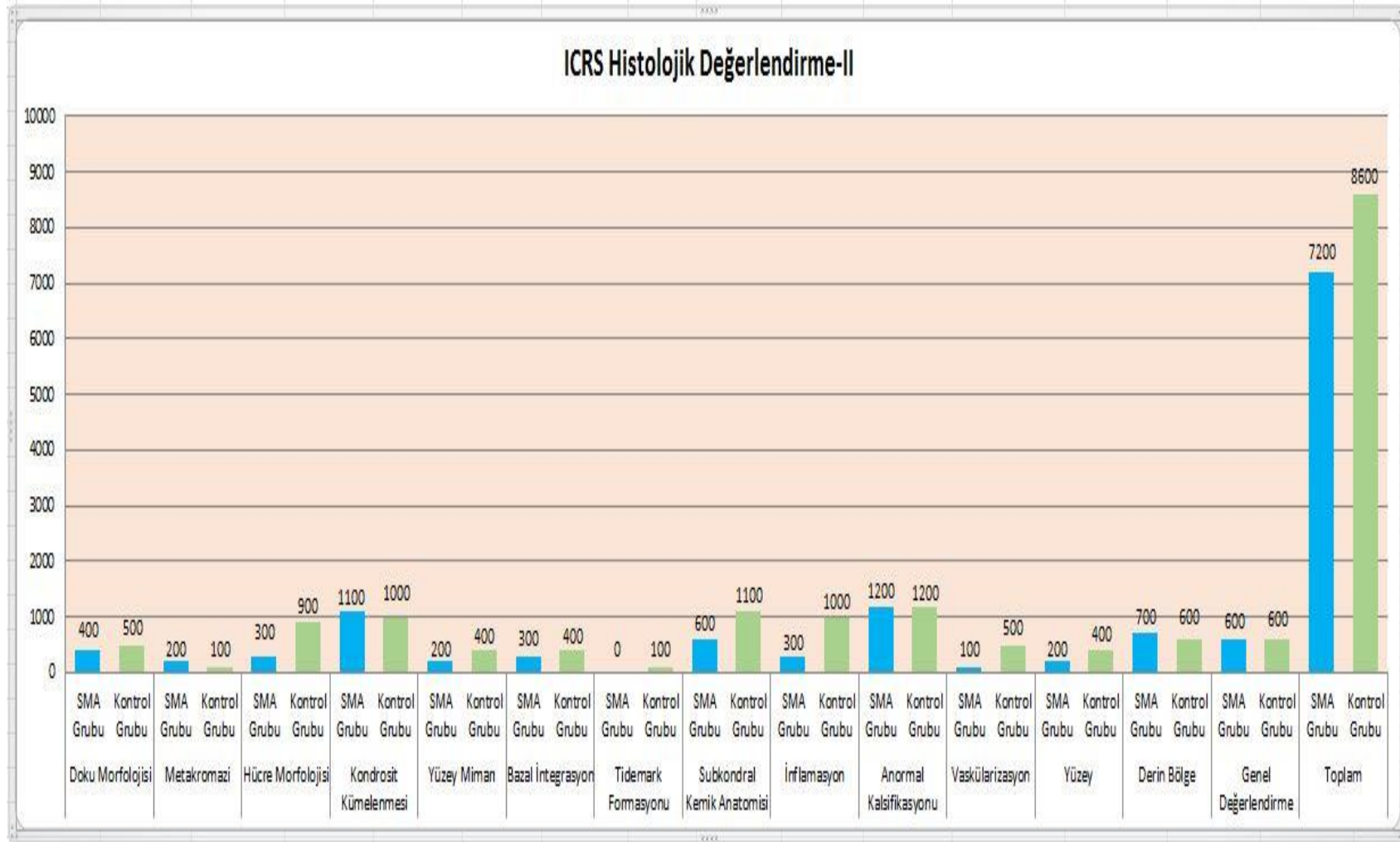
Tablo 32. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun derin zon değerlendirmesi sonuçları

Derin Zon		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	100	100
2	100	0
3	0	0
4	0	0
5	100	100
6	100	100
7	100	100
8	0	100
9	100	0
10	0	0
11	0	0
12	100	100
13	0	0
Ortalama	53.85 ± 51.88	46.15 ± 51.88
P değeri	0.701	

Mikroskopik olarak ICRS 2 histolojik skoruna göre tamir dokusunun genel değerlendirmesinde SMA grubunda altı örnekte % 100 iyi, yedi örnekte % 0 kötü olarak değerlendirildi. Kontrol grubunda altı örnekte % 100 iyi, yedi örnekte % 0 kötü olarak değerlendirildi. Mikroskopik görünüme göre değerlendirildiğinde SMA ortalama değer 46.15 ± 51.88 (Dağılım, 0-100) olarak bulunmuştur, bu değer kontrol grubunda 46.15 ± 51.88 (Dağılım, 0-100) bulunmuştur. İki grup arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p=1$) (Tablo 33).

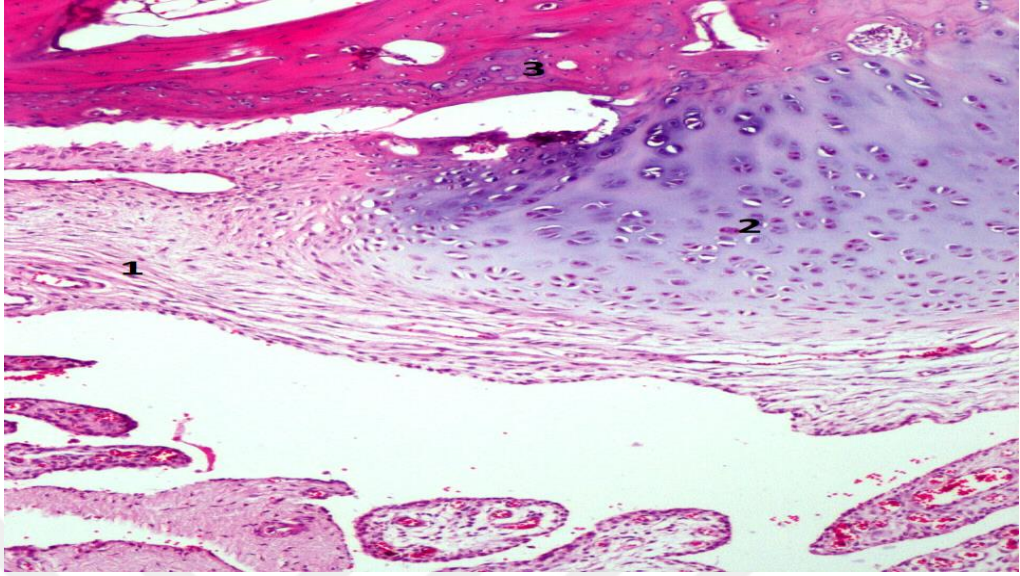
Tablo 33. Her iki grubun ICRS 2 histolojik değerlendirme skorunun genel değerlendirme sonuçları

Genel Değerlendirme		
Örnek	Statik Manyetik Alan Grubu	Kontrol Grubu
1	0	100
2	100	0
3	0	0
4	0	0
5	100	100
6	100	100
7	100	100
8	0	100
9	100	0
10	0	0
11	0	0
12	100	100
13	0	0
Ortalama	46.15 ± 51.88	46.15 ± 51.88
P değeri	1	

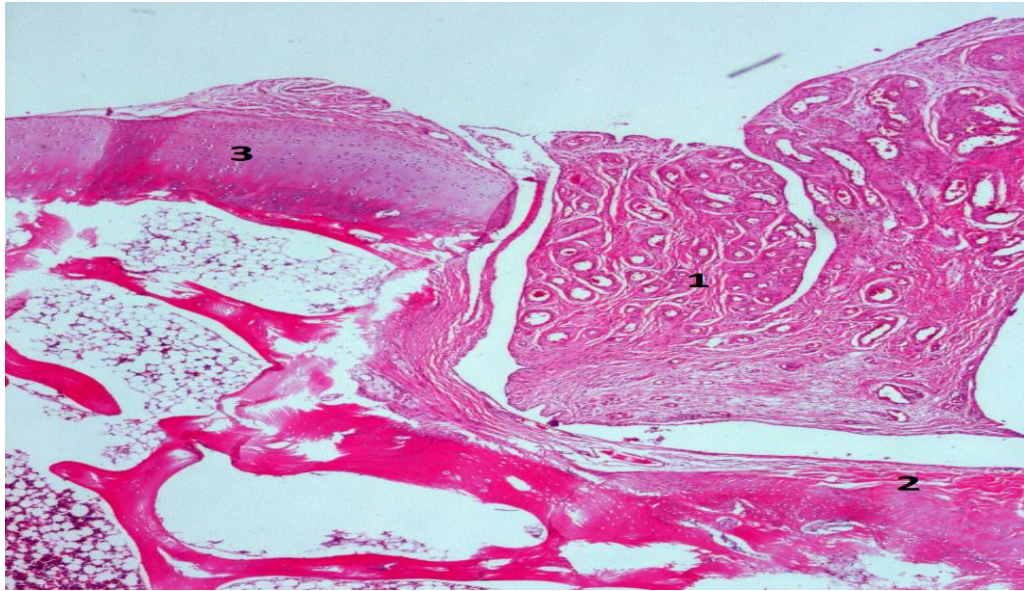


Grafik 3. Çalışmadaki grupların ICRS 2 histolojik değerlendirme sonucunun toplam sonucunun grafiksel görünümü

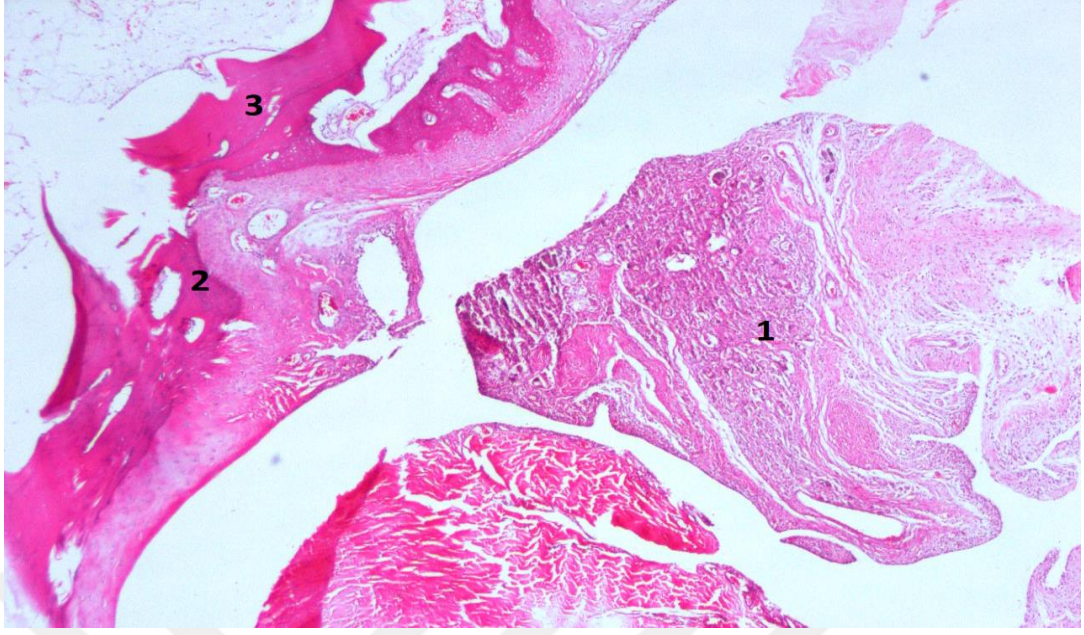
4.2.c. Histolojik preparat görüntüleri



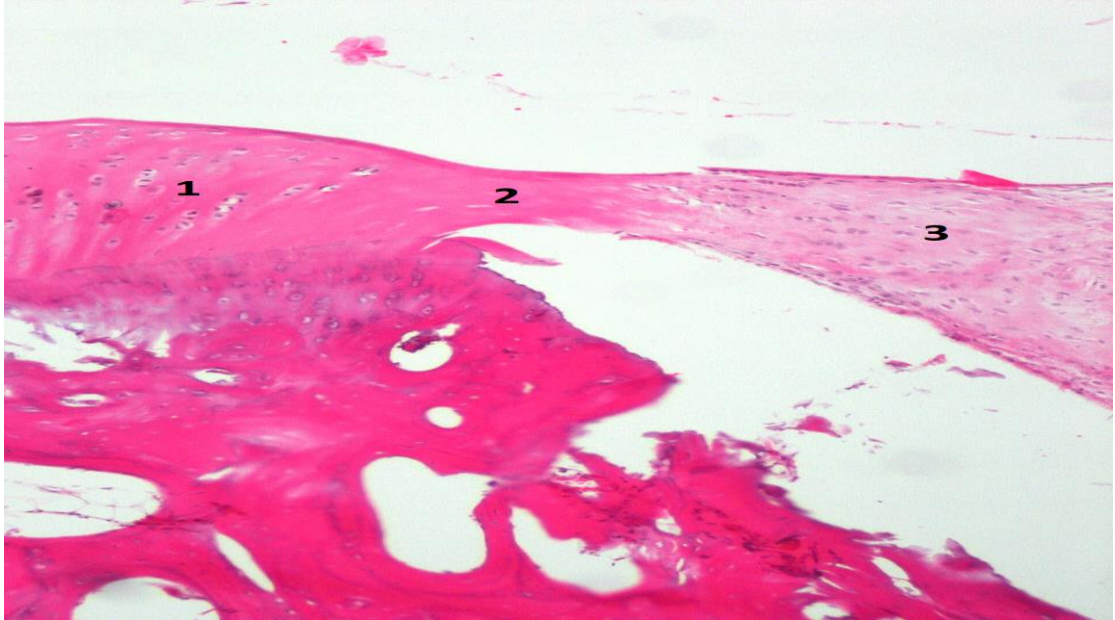
Şekil 21. SMA grubu olarak 7 numaralı tavşanın sağ diz kayıtlı materyalinin deneysel defekt alanından alınan kesitlerinin histolojik görüntüsünde; 1 numarada defekt alanında kıkırdak doku kaybı, ödem, inflamasyon 2 numarada defekt alanının komşuluğunda bir kısmı canlı kolumnar dizilim gösteren bir kısmı kümelenmiş hücrelerden oluşan kıkırdak doku, 3 numarada kıkırdak kalsifikasyonu izlendi. (H&E boyama; $\times 100$)



Şekil 22. SMA grubu olarak 8 numaralı tavşanın sağ diz kayıtlı materyalinin deneysel defekt alanından alınan kesitlerinin histolojik görüntüsünde; 1 numarada defekt alanında belirgin damarlanma artışı 2 numarada tabanda fibröz bağ doku, 3 numarada defekt alanından keskin sınırla ayrılan kıkırdak doku. (H&E boyama; $\times 200$)



Şekil 23. Kontrol grubu olarak 13 numaralı tavşanın sol diz kayıtlı materyalinin deneysel defekt alanından alınan kesitlerinin histolojik görüntüsünde; 1 numarada defekt alanında fibröz bağ doku ve multinükleer dev hücreler, 2 numarada hiposellüler kolumnar dizilimi bozulmuş çoğunluğu tek tek dizilim gösteren kıkırdak doku hücreleri ve damarlanma artışı , 3 numarada belirgin kıkırdak kalsifikasyonu izlendi (H&E boyama; ×40)



Şekil 24. Kontrol grubu olarak 8 numaralı tavşanın sol diz kayıtlı materyalinin deneysel defekt alanından alınan kesitlerinin histolojik görüntüsünde; 1 numarada hiposellüler, az sayıda canlı hücre içeren defekt komşuluğundaki kıkırdak doku, 2 numarada fibröz bağ doku, 3 numarada hiyalin ve fibröz kıkırdak bir arada izlendi. (H&E boyama; ×100)

5.TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Kondral lezyon iyileşmesine 35mT statik manyetik alanın etkisini araştırmak üzere oluşturduğumuz deney modelinde elde ettiğimiz sonuçlarda, kıkırdak hasarından sonra intramedüller SMA oluşturulan grup ile kontrol grubu arasındaki makroskopik ve histolojik sonuçlar arasında olumlu yada olumsuz bir fark görülmemiştir. Bu durum bize 35mT statik manyetik alanın kıkırdak iyileşimi üzerine bir etkisinin olmadığını göstermiştir.

Eklem kıkırdak yaralanmaları kendi kendini onarma kapasiteleri ve kondrositlerin yeterli ECM üretmeleri açısından sınırlı yeteneğe sahiptir. Bu nedenle tedavi edilmemiş kıkırdak hasarları OA gelişimine yol açar. Sınırlı kapasitenin ana nedenleri kendi kendini onarım yeteneğinin yetersiz olması ve kıkırdak dokunun damar yapısından yoksun olması nedeniyle iyileşme sürecinin ilk basamağı olan pıhtının gerçekleşmemesidir (36). Bu yüzden kan ve kemik iliğinde progenitör hücreler ve yerleşik kondrositler eklem kıkırdak hasarının olduğu bölgeye göç ederler. Kıkırdak dokusu diğer dokularda görülen nekroz, inflamasyon, onarım ve yeniden şekillenme basamaklarını takip etmez. Kondrositlerin çoğalma potansiyeli ve defekti yeterli miktarda ECM le doldurma yeteneği sınırlıdır. Kıkırdak yaralanması sonrası birkaç farklı hücre harekete geçip matriks oluşturabilir fakat bu oluşturulan matriks orijinal matrikse göre morfolojik ve mekanik olarak daha düşük kaliteye sahiptir (37).

İdeal kıkırdak yaralanması tedavisi çevresiyle tamamen entegre, mekanik olarak işlevsel ve defekt alanında hiyalin kıkırdak oluşumu ile sonuçlanmalıdır (51). Biyolojik olarak kabul edilebilir tamirde, kıkırdak dokusu; defekti kıkırdak benzeri ara maddeyle doldurmuş, eklem yüzey konturunu sağlamış, sağlam çevre kıkırdak ile birleşmiş ve yük taşımaya uygun şekilde sert olmalıdır (52). Bilinen tedavi yöntemleriyle hiyalin kıkırdak elde etmek mümkün değildir. Çoğu zaman iyileşme dokusu karışık bir histolojiye sahip olmakta ve doku içerisinde birden fazla kıkırdak tipine rastlanmaktadır. İdeali artiküler kıkırdak elde etmektir. Artiküler kıkırdak hiyalin kıkırdağın kolonlar şeklinde hücre dizilimi ve derinlerde radyal, yüzeyde paralel organize olmuş kollajen liflerinden oluşan ve bir tidemark ile kalsifiye kıkırdak ve dolayısı ile subkondral kemiğe bağlı şeklindedir. Yani hiyalin kıkırdak ile

içeriği aynı olmakla birlikte organizasyon farkı içermektedir ancak tamir yöntemleri ile bunu elde etmek zordur (54).

Magnetoterapi, doğrudan yaralanma bölgesine uygulanması ve hücre fizyolojisini modüle etmesi nedeniyle çekici bir strateji olarak artan ilgi görmektedir ve böylece tıp camiasına güvenli ve invazif olmayan bir tedavi yöntemi sunmaktadır. Tedavide kullanılmak üzere magnetotron, vitapulse ve medisend gibi değişik, titreşimli ve farklı tip elektrotlarla kullanılan manyetik alan cihazları geliştirilmiştir. Elde edilen manyetik alanlar sabit yani statik yada değişken pulsatif olabilmektedir (111,113,115). 1990 yılından beri değişik dalga boyu frekanstaki cihazlar değişik alanlarda tedavi alanında kullanılmıştır ve bu alanda bir çok çalışma devam etmektedir. Literatüre göre manyetik alanın endike olduğu hastalıklar şu şekilde sıralanabilir. Periferik fasiyal paralizisi, yanıklar, alt ekstremitenin iskemik bozuklukları, trofik ülserlerin tedavisi, baş ağrıları, posttravmatik ödem ve hematomlar, bronşit, sinüzit, lipid metabolizma hastalıkları, lokalize osteoporoz, hiper ve hipotiroidi, romatizmal hastalıklar, kraniofasiyal ağrılar, tendinitler ve yumuşak doku yaralanmaları, spastisite, geç ve zor kaynayan kırıklar, refleks sempatetik distrofi (111-122).

Literatürdeki kıkırdak iyileşmesi üzerine manyetik alan çalışmalarının büyük kısmını pulsatif elektro manyetik alan çalışmaları oluşturmaktadır. Kenjiro Iwasa ve arkadaşları 2000-2016 yılları arasında gerçekleştirdikleri çalışmalarında eklem kıkırdağı, tendonlar ve bağlar üzerine pulsatif manyetik alanın etkileri üzerine yapılan çalışmaları sistematik olarak gözden geçirmişlerdir. Bu çalışmada on sekiz adet in vitro dokuz adet in vivo pulsatif manyetik alanın kıkırdak iyileşmesine etkisini içeren çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada pulsatif manyetik alanın TGF- β ve BMP'lerin yukarı regülasyonu ile kondrosit proliferasyonu, matris sentezi ve kondrojenik farklılaşma üzerinde faydalı bir etkiye sahip olduğu ve in vitro çalışmalarda A2 ve A3 adenosin reseptörleri yoluyla antienflamatuvar sitokinleri azalttığı gösterilmiştir. İn vivo çalışmalarda OA ilerlemesi ve kıkırdak defektleri üzerinde yararlı etkileri gösterilmiştir. Bazı çalışmalar ise hücre proliferasyonu üzerinde hiçbir etkisi olmadığını göstermiştir (144). Pulsatif manyetik alan hem klinik kullanım açısından hemde kıkırdak iyileşmesi üzerine etkisi açısından

literatürde daha geniş yer tutmaktadır ve çok fazla çalışma bulunmaktadır. Manyetik alanın etkileri konusunda literatürde farklı yayınlar mevcuttur. Bunu sebebinin uygulanma şekli, süresi manyetik alanın çeşidinden kaynaklandığını düşünüyoruz. Uygulanacak yöntemin standardize edilmesi için yapılan her çalışmanın büyük bir önemi vardır. SMA'nın klinik kullanımı ve kıkırdak iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalar ise sınırlıdır.

SMA klinikte cilt üzerine sıklıkla tetik noktalara konarak ağrı tedavisinde kullanılmıştır. Tedavide ana amaç olarak yara iyileşimi, analjezi, dolaşımı arttırmak için kullanılmıştır (116). Literatürde SMA'nın kıkırdak iyileşmesi üzerine yapılan in vivo ve in vitro sınırlı çalışmalar mevcuttur. Klinik çalışma ise henüz bulunmamaktadır.

Literatürdeki SMA kıkırdak çalışmalarının neredeyse tamamına yakını dışarıdan cihazlarla oluşturulmaktadır. Literatürde bir adet hayvan deneyi çalışmasında cilt altına yerleştirilen magnetik özelliği olan tabaka kullanılmıştır. Bizim çalışmamızın diğer çalışmalardan farkı ise SMA'nın defekte sıfır olarak yerleştirdiğimiz silindirik mıknatıs yardımı ile kemik içinden oluşturulmasıdır.

İstatiksel olarak ICRS makroskopik değerlendirmesinde total sonuç ve alt başlıkların tamamında $p > 0.05$ olarak bulduk. Buda iki grup arasında makroskopik değerlendirme açısından anlamlı bir farkın olmadığını gösterdi. Histolojik olarak kullandığımız ICRS 1 ve ICRS 2 skorlarında toplam sonuçlarında $p > 0.05$ bulduk. ICRS 1 alt başlıklarının tamamında $p > 0.05$ sonucunu bulduk. ICRS 2 alt başlıklarından hücre morfolojisinde $p < 0.05$ SMA lehine anlamlıydı, subkondral anomali ve inflamasyon açısından $p < 0.05$ kontrol grubu lehine anlamlıydı. Bu sonuçlarda kullanılan yabancı cismin (mıknatıs) ve mıknatısın yerleştirme şeklinin etkili olduğunu düşünüyoruz. ICRS 2 diğer alt başlıklarında $p > 0.05$ değerini bulduk. Genel olarak değerlendirdiğimizde SMA grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptayamadık.

Oluşturmuş olduğumuz iki grup arasındaki değerlendirme gözününde bulundurulduğunda karşımıza çıkan sonuç; kıkırdak hasarı yaratıldıktan sonra on iki haftalık SMA uygulaması yöntemi ile tedavi edilen çalışma grubundaki iyileşmenin

histolojik ve makroskopik olarak yalnızca kıkırdak hasarı yaratılarak takip edilen kontrol grubundan farklı olmadığı görülmüştür. Bu durum SMA'nın eklem içinden uygulandığında SMA'nın literatürde yer alan in vivo ve in vitro olarak gösterilmiş etkilerini tartışmaya açmıştır.

Osteokondral lezyonların tedavisinde onarım ve rekonstrüksiyon şeklinde bir çok tedavi tanımlanmıştır (54). Onarım yöntemleri (mikrokirik ,debritman) fibrokartilaj doku oluşmasına yardımcı olur ve böylece kondrojeniz sağlayabilen kan damarlarının ve osteoprogenitör hücrelerin erişimini kolaylaştırır. Rekonstrüksiyon tekniklerinde (osteokondral otograft transferi, mozaikplasti, allograft) otolog eklem kıkırdak transplantasyonu veya allograftlar ile artroskopik yada mini cerrahi yaklaşımlarla eklem kıkırdağının doldurulması sağlanmaktadır. Son olarak, rejeneratif yöntemler (ACI, MSCs, MACI) biyomühendislik tekniklerinde kullanarak hiyalin kıkırdak dokusu geliştirmeyi amaçlamıştır (54,55). Bizde çalışmamızda yeni bir onarım yöntemi olarak kullanılabilecek SMA etkisiyle fibrokartilaj doku oluşturup kondrojeniz sağlayabilen kan damarlarının ulaşımını ve bu manyetik alanla dolaşımını arttırmayı ve osteoprogenitör hücrelerin SMA etkisiyle ulaşımını kolaylaştırıp hiyalin yada benzeri bir kıkırdak iyileşme dokusu sağlamayı hedefledik. Yaptığımız çalışma sonucunda kullandığımız SMA gücü ve derecesinin yada tamamıyla SMA'nın orijinal benzeri kıkırdak oluşumunda yeterli katkıyı sağlamadığını gördük ve iki grup arasında anlamlı bir fark saptayamadık.

Amin HD ve ark tarafından yapılan çalışmalarda SMA'nın in vitro olarak terminal kondrojenik farklılaşmanın önemli bir göstergesi olan BMSC'ler tarafından GAG üretimini uyarmıştır. Bu etkiyi doza bağımlı olarak göstermiştir. Maksimum etkisini 0.4 T ve 3. haftada göstermiştir ve daha uzun zamanlı sonuçları değerlendirilmemiştir. PCR çalışmaları SMA'da kültürlenmiş BMSC'lerin, erken kondrojenik transkripsiyon faktörü SOX9'un (1.1 ve 3.2 kat daha yüksek) daha yüksek seviyeleri gösterdiği görülmüştür. 0.4 T SMA da, güçlü kondrojenik büyüme faktörü TGF- β 3 olmadan bile BMSC lerin GAG üretimini uyarmıştır. SMA'nın BMSC lerin TGF- β 3 üretimini belirgin şekilde uyardığını göstermiştir (140). Osteokondral dokunun onarımı minimum 4 hafta ile 6 hafta arasında değişmelidir (85). Tavşan kıkırdağının hasar görmesi sonrası, spontan rejenerasyonun

tamamlamasıda 24. haftayı bulmaktadır (145). Buda tavşan kıkırdak modellerinde uygulama sürenin önemini ortaya koymaktadır. Biz çalışmamızda yaklaşık 12 haftalık süreyi tercih ettik. Erken dönemde görülen bazı sonuçlar yanıltıcı olabilir ve etkisini uzun dönemde yitirebilir.

Düşük frekanslı EMA kıkırdak proliferasyonuna etkisi, kondrosit uyarımı ve matriks üretimini arttırdığı sıçanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (4). 0.6 T SMA'nın insan kıkırdak dokusundaki metabolik aktiviteyi arttırdığı gösterilmiştir bunun yanı sıra orta yoğunluktaki SMA'nın hücre proliferasyonunu indüklediği ve yüksek yoğunluktaki 3 T ve üzeri SMA'nın kondrosit hücre proliferasyonunu azalttığı ve hücre apoptozunu indüklediği gösterilmiştir. Orta yoğunluktaki SMA'nın iskemik rat modellerinde kemik formasyonunu desteklediği ve kemik mineral dansitesini arttırdığı gösterilmiştir. SMA'nın diğer etkileride ödemi ve inflamasyonu azaltmasıdır. Yapılan deneyler ve çalışmalarda 1mT - 1T arası SMA değerlerinin bir çok biyolojik fonksiyona sahip olduğu gösterilmiştir (4-17). Çalışmamızda literatürde belirtilen toksik dozları, daha önce yapılan in vivo ve in vitro çalışmaları göz önüne alarak orta şiddette 35 mT gücünde 3mm çap 6mm derinliğinde silindirik tipte nikel kaplı mıknatısı kullandık. Mıknatısı oluşturduğumuz defektin merkezine sıfır olacak şekilde subkondral kemiğe yerleştirdik. Bu orta şiddette bir manyetik alanı temsil ederken 1mT ve 1T arası çok geniş bir aralık oluşturmaktadır. Kullandığımız değer orta şiddet aralığının alt sınırını yakındır. Bu şiddet değerinde anlamlı bir sonuç alınamamıştır. Yaptığımız çalışma ile bundan sonra yapılacak çalışmalarda daha yüksek değerlerin kullanılması gerektiğini düşük değerlerde anlamlı sonuçların çıkmadığını da göstererek literatüre katkı sağlanmıştır.

EMA olumlu etkilerini wolf kanunu ve piezoelektrik üstündende gösterir. EMA kıkırdak ve kemikte bulunan Ca, K, Mg iyonlarının hareketliliğini etkileyerek kollajen sentezinde olumlu yönde etki eder (141). Kollajenler α zinciri olarak bilinen 3 adet polipeptid biriminden oluşur. Yirmiden fazla kollajen çeşidi hayvan dokularında bulunmaktadır (142). ECM, fibriller protein, proteoglikan ve GAG lar hücrelerin çevresinde elektrokimyasal bir alan oluştururlar ve hücrelerin dışardan içeriye içerden dışarıya sinyal iletiminde rol alırlar. ECM komponentlerinden olan

suda çözünebilen iyonlar, GAG ve proteinlerin yüklü grupları EMA etkilenir. Proteinlerin EMA boyunca hareket ederek hücre zarındaki bağlanma bölgelerindeki reseptörlere ulaştığı bildirilmiştir. Elektromanyetik stimülasyonun serum proteinlerinin ve özellikle fibronektinin adsorpsiyonunu etkilediği bildirilmiştir (143).

Fereidoon M. Jaber ve ark. 2011 yılında tavşanlar üzerinde yaptığı hayvan deneyinde cilt altına yerleştirilmiş mıknatısın 40mT gücünde matriks üretimi ve kırık iyileşmesini SMA ılımlı şekilde arttırdığını göstermiştir. Yapılan çalışmada defekt boyutu olarak 3mm çap 6mm derinlik kullanılmıştır (126). Kırık iyileşmesi araştırmalarında kullanılan deney hayvanları modellerinde, kırık defekti genellikle hayvanların femur medial kondil, troklea yada tibia plato kırıktağında tam kat (1 mm ile 5 mm çapında olacak şekilde) kırık defekti oluşturmak şeklindedir. Tavşanlarda oluşturulan bu hasar boyutlarında bile spontan iyileşme görüldüğü rapor edilmiş olup, tavşanlarda oluşturulan kritik kırık defekt çapının 4 mm – 5 mm olması gerektiği belirtilmiştir (85,146-148). Yaptığımız çalışmada 5mm çapında OKD kullanmış olmamız kırıktağın kendi kendine iyileşme etkisini minimize ederek SMA kırıktağ üzerine etkisini daha net değerlendirmemizi sağlamıştır. Biz yaptığımız çalışmada daha büyük çapta ve benzer değerdeki SMA nın kırıktağ iyileşmesine anlamlı bir etkisinin olmadığını gösterdik.

MS Dikina ve arkadaşları tarafından 2017 yılında yapılan in vitro çalışmada hem SMA hem de pulsatif manyetik alanın mezenkimal kök hücre tabakaları üzerinde kondrojeneze etkisini değerlendirilmiştir. 1.44-1.45 T değerindeki SMA sahip mıknatıslar ile haftada 5 gün 24 saat 3 hafta boyunca mezenkimal kök hücre tabakalarına SMA uygulamışlardır. Çalışma sonucunda sadece mezenkimal kök hücre tabakası ve manyetik partikül yüklü mezenkimal kök hücre tabakalarında manyetik alan stimülasyonu kondrojenezi arttırmamıştır. Nicelleştirilmiş toplam GAG içeriği, farklı stimülasyon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgular, her iki donördeki tüm stimülasyon rejimleri için benzer olan GAG için Safranin O boyaması ile desteklenmiştir (149). Dikina ve arkadaşlarının bu in vitro çalışmasında yapmış olduğumuz deneysel çalışmayı

desteklemektedir. Kondrojen ve GAG içeriği yapmış olduğumuz immunhistokimyasal değerlendirmede anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızın bazı sınırlamaları mevcuttur. İlk olarak çalışmamızda mıknatısın yerleştirilme şekli ve yeri çalışma sonucuna etkisi olabilir. İkinci olarak on iki haftalık bir zaman dilimi kullanılmıştır. Daha uzun süreli çalışmalarda sonuçlarda farklılık gözlenebilir. Literatürdeki in vitro etkiler genelde daha kısa sürelerde belirtilmiştir ancak kısa sürede etkisi olsa bile bunun kalıcı olup olmayacağı tartışmalıdır. Üçüncü olarak literatürde olumlu etkiler için çok geniş bir manyetik alan güç aralığı sunulmuştur. Kullandığımız değerin daha üstünde ya da altında değerlerde farklı sonuçlar alınabilir.

Sonuç olarak, 35 mT gücünde 3 mm çap 6 mm derinliğinde nikel kaplı silindirik tipte mıknatıs ile gerçekleştirdiğimiz SMA'nın, oluşturulan tavşan kırık defekti modelinde kondral iyileşme üzerine makroskopik ve mikroskopik olarak anlamlı bir etkinliğinin olmadığı tespit ettik. Literatürde özellikle in vitro çalışmalar arasında farklı sonuçlar bildirilmektedir. Yaptığımız bu hayvan deneyi çalışması deneysel olarak literatürdeki SMA kırık iyileşmesine etkisini değerlendiren sınırlı çalışmadan biridir. Çalışmamızın literatüre yapacağı katkılar da göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızın eksik yönleri göz önüne alınarak gelecekte yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

1. Getgood A, Bhullar T. ve Rushton N. Eklem kıkırdağı onarımında güncel kavramlar. Orthop Trauma. 2009; 23: 189.
2. De Mattei M, Pellati A, Pasello M. Effects of physical stimulation with electromagnetic field and insulin growth factor-I treatment on proteoglycan synthesis of bovine articular cartilage. Osteoarthr Cartilage. 2004; 12: 793-800.
3. De Mattei M, Fini M, Setti S. Proteoglycan synthesis in bovine articular cartilage explants exposed to different low-frequency lowenergy pulsed electromagnetic fields. Osteoarthr Cartilage. 2007; 15: 163-168.
4. Ciombor DM, Lester G, Aaron RK. Low frequency EMF regulates chondrocyte differentiation and expression of matrix proteins. J Orthop Res. 2002; 20: 40-50.
5. Stolfa S, Skorvanek M, Stolfa P. Effects of static magnetic field and pulsed electromagnetic field on viability of human chondrocytes in vitro. Physiol Res. 2007; 56(suppl 1) : 45-49.
6. Dini L, Abbro L. Bioeffects of moderate-intensity static magnetic fields on cell cultures. Micron 2005;36:195e217. 31. Tenuzzo B, Chionna A, Panzarini E, et al. Biological effects of 6 mT static magnetic fields: a comparative study in different cell types. Bioelectromagnetics. 2006; 27: 560-577.
7. Okano H, Onmori R, Tomita N. Effects of a moderate-intensity static magnetic field on VEGF-A stimulated endothelial capillary tubule formation in vitro. Bioelectromagnetics. 2006; 27: 628-640.
8. A Wong M, Carter DR. Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective. Bone. 2003; 33: 1-13.
9. Okano H, Tomita N, Ikada Y. Effects of 120 mT static magnetic field on TGF-b1-inhibited endothelial tubular formation in vitro. Bioelectromagnetics. 2007; 28: 497-499.

10. Okano H, Tomita N, Ikada Y. Spatial gradient effects of 120 mT static magnetic field on endothelial tubular formation in vitro. *Bioelectromagnetics*. 2008; 29: 233-236.
11. Hsieh CH, Lee MC, Tsai-Wu JJ. Deleterious effects of MRI on chondrocytes. *Osteoarthr Cartilage*. 2008; 16: 343-351.
12. Yan QC, Tomita N, Ikada Y. Effects of static magnetic field on bone formation of rat femurs. *Med Eng Phys*. 1998; 20: 397-402.
13. Xu S, Tomita N, Ikeuchi K. Recovery of small-sized blood vessels in ischemic bone under static magnetic field. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2007; 4: 59-63.
14. Xu S, Tomita N, Ohata R. Static magnetic field effects on bone formation of rats with an ischemic bone model. *Biomed Mater Eng*. 2001; 11: 257-263.
15. Man D, Man B, Plosker H. The influence of permanent magnetic field therapy on wound healing in suction lipectomy patients: a doubleblind study. *Plast Reconstr Surg*. 1999; 104: 2261-2266.
16. Taniguchi N, Kanai S, Kawamoto M. Study on application of static magnetic field for adjuvant arthritis rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2004; 1: 187-191.
17. Morris CE, Skalak TC. Acute exposure to a moderate strength static magnetic field reduces edema formation in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008; 294: 50-57.
18. Wong M, Carter DR. Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective. *Bone*. 2003; 33: 1-13.
19. Eyre D. Collagen of articular cartilage. *Arthritis Res*. 2002; 4: 30-35.
20. Sanchez-Adams J, Leddy HA, McNulty AL, O'Connor CJ, Guilak F. The mechanobiology of articular cartilage: bearing the burden of osteoarthritis. *Curr. Rheumatol. Rep*. 2014; 16: 451.
21. Lee JH, Kisiday J, Grodzinsky AJ. Tissue-engineered versus native cartilage: linkage between cellular mechano-transduction and biomechanical properties.

- In: Bock G, Groode J (Eds): Tissue Engineering of Cartilage and Bone. Wiley, Chichester (Novartis Foundation Symposium 249), 2003, pp 52-69.
22. Brower TD, Hsu WY. Normal articular cartilage. Clin Orthop 1969; 64: 9–17.
 23. Mankin HJ, Radin EL. Structure and function of joints. In: McCarty DJ, Koopman WJ, eds. Arthritis and allied conditions, 12th ed. Philadelphia, PA: Lea & Febiger. 1993: 181–197.
 24. Aydelotte MB, Kuettner KE. Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes, I: Morphology and cartilage matrix production. Connect Tissue Res. 1988; 18: 205–222.
 25. Aydelotte MB, Greenhill RR, Kuettner KE. Differences between subpopulations of cultured bovine articular chondrocytes, II: Proteoglycan metabolism. Connect Tissue Res. 1988; 18: 223–234.
 26. British Medical Bulletin, Volume 87, Issue 1, September 2008, Pages 77–95.
 27. Modified with permission from Poole AR: Cartilage in Health and Disease. In Koopman W [ed]. Arthritis and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology. Ed 14. Vol 1. New York, Lippincott Williams & Wilkins 2001; 2260–2284.
 28. Stockwell RA. The cell density of human articular and costal cartilage. J Anat. 1967; 101: 753–76.
 29. Aydelotte MB, Greenhill RR, Kuettner KE. Differences between subpopulations of cultured bovine articular chondrocytes, II: Proteoglycan metabolism. Connect Tissue Res. 1988; 18: 223–234.
 30. Meachim G. Effect of age on the thickness of adult articular cartilage at the shoulder joint. Ann Rheum Dis. 1971; 30: 43–46.
 31. Gurr E, Mohr W, Pallasch G. Proteoglycans from human articular cartilage: The effect of joint location on the structure. J Clin Chem Clin Biochem. 1985; 23: 811–819.

32. Poole AR, Pidoux I, Reiner A, Rosenberg L. An immunoelectron microscope study of the organization of proteoglycan monomer, link protein and collagen in the matrix of articular cartilage. *J Cell Biol.* 1982; 93: 921–937.
33. Eyre DR, Wu JJ, Woods PE. The cartilage collagens: Structural and metabolic studies. *J Rheumatol.* 1991; (suppl 27)18: 49–51.
34. Buckwalter JA, Rosenberg LA, Hunziker EB. *Articular Cartilage and Knee Joint Function: Basic Science and Arthroscopy.* New York, NY: Raven Press; 1990.
35. *The Basic Science of Articular Cartilage: Structure, Composition, and Function* - Alice J. Sophia Fox, Asheesh Bedi, Scott A. Rodeo, 2009.
36. Mow VC, Rosenwasser M. Articular cartilage: biomechanics. In: Woo SL-Y, Buckwalter JA, editors. *Injury and repair to the musculoskeletal soft tissues.* Park Ridge (IL): American Academy of Orthopaedic Surgeons; 1988; 427–46.
37. Redman SN, Oldfield SF, Archer CW. Current strategies for articular cartilage repair. *Eur Cell Mater* 2005; 9: 23–32.
38. Yoshioka M, Kubo T, Coutts RD. Differences in the repair process of longitudinal and transverse injuries of cartilage in the rat knee. *Osteoarthritis Cartilage* 1998; 6: 66–75.
39. Morito T, Muneta T, Hara K. Synovial fluid-derived mesenchymal stem cells increase after intra-articular ligament injury in humans. *Rheumatology Oxford.* 2008; 47: 1137–43.
40. Sekiya I, Ojima M, Suzuki S. Human mesenchymal stem cells in synovial fluid increase in the knee with degenerated cartilage and osteoarthritis. *J Orthop Res* 2012; 30: 943–9
41. Mankin H J, Mow V C, Buckwalter J A. Articular cartilage repair and osteoarthritis. *Orthopaedic basic science.* 2000: 472-488.
42. Mankin H J. The response of articular cartilage to mechanical injury. *J Bone Joint Surgery.* 1982: 460-466.

43. Buckwalter J A, Mow V C, Mankin H. Articular Cartilage. Structure, function, metabolism, injury, pathogenesis, Philadelphia. 2003: 225-236. 4.
44. Reprinted from Robi K, Jakob N, Matevz K, et al. Current Issues in Sports and Exercise Medicine. The Physiology of Sports Injuries and Repair Processes Chapter 2. Croatia: InTech; 2013. p. 43–86.
45. Brittberg M, Winalski CS. Evaluation of cartilage injuries and repair. In: Journal of Bone and Joint Surgery - Series A. 2003; 58–69.
46. Outbridge RE. The etiology of chondromalacia patellae. J Bone Joint Surg Br. 1961; 43: 752–7.
47. Miller III RH, Azar FM. Diz Yaralanmaları, Spor Hekimliği, Çeviri Ed: Başbozkurt M, Yıldız C. Campbell's Operative Orthopaedics, 11.baskıdan çeviri, sayfa: 2395-2600, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2011.
48. Orth P, Madry H. Complex and elementary histological scoring systems for articular cartilage repair. Histol Histopathol. 2015; 30: 911-9.
49. Rutgers M, van Pelt MJ, Dhert WJ, Creemers LB, Saris DB. Evaluation of histological scoring systems for tissue-engineered, repaired and osteoarthritic cartilage. Osteoarthritis Cartilage. 2010; 18. 1: 12-23.
50. Varlet PM, Aigner T, Brittberg M, Ballough P, Hollander A. Histological assesment of cartilage repair. J Bone Joint Surg. 2003; 85: 43–57.
51. Magnussen RA, Dunn WR, Carey JL, Spindler KP. Treatment of focal articular cartilage defects in the knee: a systematic review. Clin Orthop Relat Res. 2008; 466: 952-62.
52. Coutts RD, Healey RM, Ostrander R, Sah RL, Goomer R, Amiel D. Matrices for cartilage repair. Clin Orthop Relat Res. 2001; (391 Suppl): 271-9.
53. Pearce SG, Hurtig MB, Clarnette R, Kalra M, Cowan B, Miniaci A. An investigation of 2 techniques for optimizing joint surface congruency using multiple cylindrical osteochondral autografts. Arthroscopy. 2001; 17: 50-5.
54. Forriol F. Growth factors in cartilage and meniscus repair. Injury Int J Care Injured. 2009; 40(Suppl.): S12–6.

55. Moseley JB, O'Malley K, Petersen NJ, Menke TJ, Brody BA, Kuykendall DH, et al. A controlled trial of arthroscopic surgery for osteoarthritis of the knee. *N Engl J Med.* 2002; 347: 81–8.
56. Magnuson PB. Eklem debridmanı, dejeneratif artritın cerrahi tedavisi, *Surg Jinekoloji Obstet.* 1941; 73: 1-9.
57. Hubbard MJS. Medial femoral kondil dejenerasyonu için artiküler debridman. Beş yıllık bir çalışma, *J Kemik Eklemi Surg Br.* 1996; 78: 217-219.
58. Ficat RP, Ficat C, Gedeon PK, Toussant JB. Spongiolization: hastalıklı patella için yeni bir tedavi, *Clin Orthop Rel Res.* 1979; 144: 74-83.
59. Lotz M. Cytokines in cartilage injury and repair. *Clin Orthop Relat Res.* 2001; 391(Suppl.): 108–15.
60. Rodrigo JJ, Steadman JR, Silliman JF, Fulstone HA. Sürekli pasif hareket kullanılarak debridman ve mikrokırık sonrası insan dizinde tam kalınlıkta kondral defekt iyileşmesinin iyileştirilmesi, *Am J Diz Cerrahı.* 1994; 7: 109-116.
61. Wakitani S, Kawaguchi A, Tokuhara Y, Takaoka K. Present status of and future direction for articular cartilage repair. *J Bone Miner Metab.* 2008; 26: 115–22.
62. Koga H, Engebretsen L, Brinchmann JE, Muneta T, Sekiya I. Mesenchymal stem cell-based therapy for cartilage repair: a review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2009; 17: 1289–97.
63. Gobbi A, Nunag P, Malinowski K. Treatment of full thickness chondral lesions of the knee with microfracture in a group of athletes. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2005; 13: 213-21.
64. Bhosale AM, Richardson JB. Articular cartilage: structure, injuries and review of management. *Br Med Bull.* 2008; 87: 77-95.
65. Hoemann CD, Hurtig M, Rossomacha E, Sun J, Chevrier A, Shive MS, et al. Chitosan-glycerol phosphate/blood implants improve hyaline cartilage repair in ovine microfracture defects. *J Bone Joint Surg.* 2005; 87: 2671-86.

66. Zantop T, Petersen W. Arthroscopic implantation of a matrix to cover large chondral defect during microfracture. *Arthroscopy*. 2009; 25: 1354-60.
67. Mithoefer K, Williams RJ 3rd, Warren RF, Potter HG, Spock CR, Jones EC, et al. Chondral resurfacing of articular cartilage defects in the knee with the microfracture technique. Surgical technique. *J Bone Joint Surg*. 2006; 88 Suppl 1 Pt 2: 294-304.
68. Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ. Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. *Clin Orthop Relat Res*. 2001; (391 Suppl): S362-9.
69. Cole BJ, Lee SJ. Complex knee reconstruction: articular cartilage treatment options. *Arthroscopy*. 2003; 19 Suppl 1: 1-10.
70. Vaquero J, Forriol F. Knee chondral injuries: clinical treatment strategies and experimental models. *Injury*. 2012 ; 43 : 694-705.
71. Matsusue Y, Yamamuro T, Hama H. Arthroscopic multiple osteochondral transplantation to the chondral defect in the knee associated with anterior cruciate ligament disruption. *Arthroscopy*. 1993; 9: 318-21.
72. Hangody L, Kish G, Kárpáti Z, Szerb I, Udvarhelyi I. Arthroscopic autogenous osteochondral mosaicplasty for the treatment of femoral condylar articular defects. A preliminary report. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 1997; 5: 262-7.
73. Hangody L, Kish G, Kárpáti Z, Szerb I, Eberhardt R. Treatment of osteochondritis dissecans of the talus: use of the mosaicplasty technique-a preliminary report. *Foot Ankle Int*. 1997; 18: 628-34
74. Marcacci M, Kon E, Zaffagnini S, Iacono F, Neri MP, Vascellari A, et al. Multiple osteochondral arthroscopic grafting (mosaicplasty) for cartilage defects of the knee: prospective study results at 2-year follow-up. *Arthroscopy*. 2005; 21: 462-70.
75. Bobic' V. Arthroscopic osteochondral autograft transplantation in anterior cruciate ligament reconstruction: a preliminary clinical study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 1996; 3: 262-4.

76. Pearce SG, Hurtig MB, Clarnette R, Kalra M, Cowan B, Miniaci A. An investigation of 2 techniques for optimizing joint surface congruency using multiple cylindrical osteochondral autografts. *Arthroscopy*. 2001; 17: 50-5.
77. Gross AE. Repair of cartilage defects in the knee. *J Knee Surg*. 2002; 15: 167-9.
78. Gautier E, Kolker D, Jakob RP. Treatment of cartilage defects of the talus by autologous osteochondral grafts. *J Bone Joint Surg*. 2002; 84: 237-44.
79. Hangody L, Ráthonyi GK, Duska Z, Vásárhelyi G, Füles P, Módis L. Autologous osteochondral mosaicplasty. Surgical technique. *J Bone Joint Surg*. 2004; 86-A Suppl 1: 65-72.
80. Thaunat M, Couchon S, Lunn J, Charrois O, Fallet L, Beaufils P. Cartilage thickness matching of selected donor and recipient sites for osteochondral autografting of the medial femoral condyle. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2007; 15: 381-6.
81. Cole BJ, Lee SJ. Complex knee reconstruction: articular cartilage treatment options. *Arthroscopy*. 2003;19 Suppl 1: 1-10.
82. Coons DA, Barber FA. Arthroscopic osteochondral autografting. *Orthop Clin North Am*. 2005; 36: 447-58.
83. Gross AE. Cartilage resurfacing: filling defects. *J Arthroplasty*. 2003; 18(3 Suppl 1): 14-7.
84. Hangody L, Kish G, Kárpáti Z, Udvarhelyi I, Szigeti I, Bély M. Mosaicplasty for the treatment of articular cartilage defects: application in clinical practice *Orthopedics*. 1998; 21: 751-6.
85. Buckwalter JA. Articular cartilage injuries. *Clin Orthop Relat Res*. 2002; 402: 21-37.
86. Zantop T, Petersen W. Arthroscopic implantation of a matrix to cover large chondral defect during microfracture. *Arthroscopy*. 2009; 25: 1354-60.

87. Arøen A, Heir S, Løken S, Engebretsen L, Reinholt FP. Healing of articular cartilage defects. An experimental study of vascular and minimal vascular microenvironment. *J Orthop Res*. 2006; 24: 1069-77.
88. Siebold R, Lichtenberg S, Habermeyer P. Combination of microfracture and periosteal-flap for the treatment of focal full thickness articular cartilage lesions of the shoulder: a prospective study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2003; 11: 183-9.
89. O'Driscoll SW. Technical considerations in periosteal grafting for osteochondral injuries. *Clin Sports Med*. 2001; 20: 379-402.
90. Fuss M, Ehlers EM, Russlies M, Rohwedel J, Behrens P. Characteristics of human chondrocytes, osteoblasts and fibroblasts seeded onto a type I/III collagen sponge under different culture conditions. A light, scanning and transmission electron microscopy study *Ann Anat*. 2000; 182: 303-10.
91. Lehman RC, Perry CR. Modified osteochondral autograft implantation for full- thickness articular cartilage lesions. *Arthroscopy*. 2003; 19: 318-20.
92. Peterson L, Menche D, Grande D, maden ocağı işçisi M. Kondrosit nakli - tavşanlarda deneysel bir model, *Trans Orthop Res Soc*.1984; 9: 218.
93. Roberts S, McCall IW, Darby AJ. Kıkırdak onarımı için otolog kondrosit implantasyonu: manyetik rezonans görüntüleme ve histoloji ile başarısının izlenmesi, *Artrit Res Ther*. 2003; 5: 60-73.
94. Marcacci M, Kon E, Zaffagnini S, Filardo G, Delcogliano M, Neri MP, et al. Arthroscopic second generation autologous chondrocyte implantation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2007; 15: 610-9.
95. Selmi TA, Verdonk P, Chambat P, Dubrana F, Potel JF, Barnouin L, et al. Autologous chondrocyte implantation in a novel alginate-agarose hydrogel: outcome at two years. *J Bone Joint Surg [Br]* 2008; 90: 597-604 engineering. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2009; 17: 561-77.
96. Iwasa J, Engebretsen L, Shima Y, Ochi M. Clinical application of scaffolds for cartilage tissue engineering. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2009; 17: 561-77.

97. Gikas PD, Bayliss L, Bentley G, Briggs TW. An overview of autologous chondrocyte implantation. *J Bone Joint Surg.* 2009; 91: 997-1006.
98. Nehrer S, Breinan HA, Ramappa A, Hsu HP, Minas T, Shortkroff S, et al. Chondrocyte-seeded collagen matrices implanted in a chondral defect in a canine model. *Biomaterials.* 1998; 19: 2313-28.
99. Vanlauwe J, Almqvist F, Bellemans J, Huskin JP, Verdonk R, Victor J. Repair of symptomatic cartilage lesions of the knee: the place of autologous chondrocyte implantation. *Acta Orthop Belg.* 2007; 73: 145-58.
100. Sechriest VF, Miao YJ, Niyibizi C, Westerhausen-Larson A, Matthew HW, Evans CH, et al. GAG-augmented polysaccharide hydrogel: a novel biocompatible and biodegradable material to support chondrogenesis. *J Biomed Mater Res.* 2000; 49: 534-41.
101. Toolan BC, Frenkel SR, Pereira DS, Alexander H. Development of a novel osteochondral graft for cartilage repair. *J Biomed Mater Res.* 1998; 41: 244-50.
102. Peretti GM, Randolph MA, Caruso EM, Rossetti F, Zaleske DJ. Bonding of cartilage matrices with cultured chondrocytes: an experimental model. *J Orthop Res.* 1998; 16: 89-95.
103. Lee CR, Grodzinsky AJ, Hsu HP, Spector M. Effects of a cultured autologous chondrocyte-seeded type II collagen scaffold on the healing of a chondral defect in a canine model. *J Orthop Res.* 2003; 21: 272-81.
104. Gavénis K, Schmidt-Rohlfing B, Mueller-Rath R, Andereya S, Schneider U. In vitro comparison of six different matrix systems for the cultivation of human chondrocytes. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2006; 42: 159-67.
105. Manfredini M, Zerbinati F, Gildone A, Faccini R. Autologous chondrocyte implantation: a comparison between an open periosteal-covered and an arthroscopic matrix-guided technique. *Acta Orthop Belg.* 2007; 73: 207-18.
106. Cherubino P, Grassi FA, Bulgheroni P, Ronga M. Autologous chondrocyte implantation using a bilayer collagen membrane: a preliminary report. *J Orthop Surg (Hong Kong).*

107. Gille J, Ehlers EM, Okroi M, Russlies M, Behrens P. Apoptotic chondrocyte death in cell-matrix biocomposites used in autologous chondrocyte transplantation. *Ann Anat.* 2002; 184: 325-32.
108. Bartlett W, Skinner JA, Gooding CR, Carrington RW, Flanagan AM, Briggs TW, et al. Autologous chondrocyte implantation versus matrix-induced autologous chondrocyte implantation for osteochondral defects of the knee: a prospective, randomised study. *J Bone Joint Surg.* 2005; 87: 640-5.
109. Behrens P, Ehlers EM, Köchermann KU, Rohwedel J, Russlies M, Plötz W. New therapy procedure for localized cartilage defects. Encouraging results with autologous chondrocyte implantation. *MMW Fortschr Med.* 1999; 141: 49-51.
110. Matrix guided autologous chondrocyte implantation in treatment of cartilage injuries *TOTBİD Dergisi.* 2010; 9: 164-174.
111. Akgün K. Manyetik alan tedavisi. Sarı H, Tüzün Ş, Akgün K (Eds): *Hareket Sistemi Hastalıklarında Fiziksel Tıp Yöntemleri.* Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2002: 65-72.
112. Nazlıkul H. Magnetoterapi (Manyetik alan tedavisi). Nazlıkul H (Editör): *Detoksu keşfet.* Alfa basım yayım dağıtım, İstanbul. 2012; 291-294.
113. Alper S. Akupunktur, Lazer ve Magnetoterapi. Beyazova M, Kutsal YG (Eds): *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon.* Güneş Kitabevi, Ankara, 2000: 820-830.
114. Birla, S.G, et Hemin C. *Magnet-Therapie: Wirkungsweise und Anwendung von Heilmagneten Taschenbuch* 2005.
115. *Gesundheit und Magnetfeldtherapie Biomag.*
116. Vallbona C, Hazlewood CF, Jurida G. Response of pain to static magnetic fields in postpolio patient: a double blind pilotstudy. *Arch Phys Med Rehabil.*1997; 78: 1200-1203.
117. P Ludwig W. *İnfluence of alternating magnetic fields* 1976.

118. Nazlıkul H. Tamamlayıcı tıbbi keşfet. Nazlıkul H. (Editör): Hayatı keşfet anti aging yaşam kılavuzu. Alfa basım yayım dağıtım, İstanbul. 2013: 457- 536.
119. Navratil L, Hlavaty V, Laaandsingerova A: Possible therapeutic applications of pulsed magnetic fields. *Cas. Lek. Cesk.* 1993; 132: 590-594.
120. Electromagnetic fields for treating osteoarthritis. *Cochrane Reviews*, 2013, Issue 12.
121. Quittan M. Schuhfrid O. Wiesinger GF. Fialka – Moser V. Clinical effectiveness of magnetic field therapy-a review of the literature. *Acta Med Austriaca.* 2000; 27: 61-8.
122. Osti L. Buono AD. Maffuni N. Pulsed electromagnetic fields after rotator cuff repair: a randomized, controlled study. *Orthopedics.* 2015; 38: 223-8.
123. De Mattei M, Fini M, Setti S, Ongaro A, Gemmati D, et al. Proteoglycan synthesis in bovine articular cartilage explants exposed to different low-frequency low-energy pulsed electromagnetic fields. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007; 15: 163-168.
124. Bruce G K, Howlett C R, Huckstep R L. Effect of a static magnetic field on fracture healing in a rabbit radius. Preliminary results. *Clinical Orthopaedics and Related Research.* 1987, 222: 300–306.
125. Yan Q C, Tomita N, Ikada Y. Effects of static magnetic field on bone formation of rat femurs. *Medical Engineering & Physics.* 1998, 20: 397–402.
126. Jaberı F M, Keshtgar S, Tavakkoli A. A moderate-intensity static magnetic field enhances repair of cartilage damage in rabbits. *Archives of Medical Research.* 2011, 42: 268–273 .
127. Kotani H, Kawaguchi H, Shimoaka T. Strong static magnetic field stimulates bone formation to a definite orientation in vitro and in vivo. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2002, 17: 1814–1821 .
128. Leesungbok R, Ahn S-J, Lee S-W. The effects of a static magnetic field on bone formation around a sandblasted, large-grit, acid-etched–treated titanium implant. *Journal of Oral Implantology.* 2013, 39: 248–255.

129. Torbet J, Ronzière M-C. Magnetic alignment of collagen during self-assembly. *Biochemical Journal*. 1984, 219: 1057–1059 .
130. Murthy N S. Liquid crystallinity in collagen solutions and magnetic orientation of collagen fibrils. *Biopolymers*. 1984, 23: 1261–1267.
131. Torbet J, Freyssinet J M, Hudry-Clergeon G. Oriented fibrin gels formed by polymerization in strong magnetic fields. *Nature*. 1981, 289: 91–93.
132. Ueno S, Iwasaka M, Tsuda H. Effects of magnetic fields on fibrin polymerization and fibrinolysis. *IEEE Transactions on Magnetism*. 1993; 29: 3352–3354.
133. Yuge L, Okubo A, Miyashita T. Physical stress by magnetic force accelerates differentiation of human osteoblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2003; 311: 32– 38.
134. Yan Q C, Tomita N, Ikada Y. Effects of static magnetic field on bone formation of rat femurs. *Medical Engineering & Physics*. 1998; 20: 397–402.
135. Grace K L, Revell W J, Brookes M. The effects of pulsed electromagnetism on fresh fracture healing: osteochondral repair in the rat femoral groove. *Orthopedics*. 1999; 21: 297–302.
136. Takano-Yamamoto T, Kawakami M, Sakuda M. Effect of a pulsing electromagnetic field on demineralized bone-matrix-induced bone formation in a bony defect in the premaxilla of rats. *Journal of Dental Research*. 1992; 71: 1920–1925.
137. Chalidis B, Sachinis N, Assiotis A. Stimulation of bone formation and fracture healing with pulsed electromagnetic fields: biologic responses and clinical implications. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. 2001; 24(1 Suppl 2): 17– 20.
138. Glazer P A, Heilmann M R, Lotz J C. Use of electromagnetic fields in a spinal fusion. A rabbit model. *Spine*. 1997; 22: 2351–2356.
139. Assiotis A, Sachinis N P, Chalidis B E. Pulsed electromagnetic fields for the treatment of tibial delayed unions and nonunions. A prospective clinical study

and review of the literature. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2012; 7: 24.

140. Amin HD, Brady MA, St-Pierre JP, Stevens MM, Overby DR, Ethier CR. Stimulation of chondrogenic differentiation of adult human bone marrow-derived stromal cells by a moderate-strength static magnetic field. *Tissue Eng Part A*. 2014; 20: 1612-20.
141. A Aron RK, Ciombor DK, Simon BJ. Treatment of nonunions with electric and electromagnetic fields. *Clin Orthop*. 2004; 419: 21-29.
142. Guo C, Kaufman LJ. Flow and magnetic field induced collagen alignment. *Biomaterials*. 2011; 28: 1105-1114.
143. Meng S, Rouabhia M, Zhang Z. Electrical Stimulation in Tissue Regeneration. 37-62.
144. Iwasa K, Reddi AH. Pulsed Electromagnetic Fields and Tissue Engineering of the Joints. *Tissue Eng Part B Rev*. 2018 ; 24: 144-154.
145. Shapiro FSKMJG. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am*. 1993; 75: 532–53.
146. Chu CR, Szczodry M, Bruno S. Animal models for cartilage regeneration and repair. *Tissue Eng - Part B Rev*. 2010; 16: 105–15.
147. Cook JL, Hung CT, Kuroki K, Stoker AM, Cook CR, Pfeiffer FM, et al. Animal models of cartilage repair. *Bone Jt Res*. 2014; 3: 89–94.
148. Ahern BJ, Parvizi J, Boston R, Schaer TP. Preclinical animal models in single site cartilage defect testing: a systematic review. *Osteoarthr Cartil*. 2009; 17: 705–13.
149. Dikina AD, Lai BP, Cao M, Zborowski M, Alsberg E. Magnetic field application or mechanical stimulation via magnetic microparticles does not enhance chondrogenesis in mesenchymal stem cell sheets. *Biomater Sci*. 2017; 5: 1241-1245.

ÖZGEÇMİŞ

1. Kişisel bilgiler

Adı-Soyadı: Kadir TATLISU

Doğum yeri ve tarihi: 06.08.1988 KAYSERİ

E-posta adresi ve telefonu : kadirtatlisu@gmail.com

05321789025

Yabancı dili: İngilizce

2. Eğitimi

S.B.Ü Kayseri Şehir Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

Nuh Mehmet Küçükçalık Anadolu Lisesi, Kayseri

Ahmetpaşa İlkokulu, Kayseri

3.Mesleki deneyim

Ortopedi ve Travmatoloji asistanlığı- 5 yıl

Mecburi hizmet-Pınarbaşı Devlet Hastanesi Kayseri (1 ay)