



**T.C
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL TAM KAT
OSTEOKONDRAL DEFECT MODELİNDE, NANO
KOMPOZİT MULTİLAYER BİOMİMETİK SKAFOLD,
KONDRAL SKAFOLD VE MİKROKIRIK
YÖNTEMİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. KAZIM SOLAK

DÜZCE, 2013



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

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL TAM KAT
OSTEOKONDRAL DEFİKT MODELİNDE, NANO
KOMPOZİT MULTİLAYER BİOMİMETİK SKAFOLD,
KONDRAL SKAFOLD VE MİKROKIRIK
YÖNTEMİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. KAZIM SOLAK
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Doç. Dr. İSTEMİ YÜCEL
(Tez Danışmanı)

DÜZCE, 2013

ÖNSÖZ (TEŞEKKÜR)

Uzmanlık eğitimim boyunca üzerimdeki emeklerini ödeyemeyeceğim başta tez hocam Doç.Dr. İstemi YÜCEL, değerli hocalarım Prof.Dr. Zafer ORHAN ve Yrd.Doç.Dr. Mustafa USLU olmak üzere asistan arkadaşlarım Dr. Cemalettin ATAM, Dr. Celil ALEMDAR, Dr. Okan KARADUMAN, Dr. Barış ERBİL, Dr. Mehmet ARICAN, Dr. Göksel ŞAHİNER, Dr. M. Şirin BULUT, Dr. Serkan ÖZKAN, Dr. İshak BALIK, Dr. Cemal GÜLER, Dr. Yavuz GEÇER, Dr. Ozan TURHAL ve bütün klinik çalışanlarına teşekkür ederim. Ayrıca tezimde bana yardımcı olan patoloji uzmanı Doç.Dr. Ahmet MİDİ' ye teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde yanımda olan, bu günlerime gelmemi sağlayan, yardım ve desteklerinden her zaman faydalandığım başta annem, babam ve kardeşlerime; iyi ve kötü günlerimizde sevinç ve hüznümüzü paylaştığımız, beni hiç yalnız bırakmayan eşim Ayşegül'e; doğduğu günden itibaren ailemizin mutluluk kaynağı olan kızım Zümra'ya; ayrıca burada ismini sayamadığım mesleki hayatımda yanımda olan tecrübe ve deneyimlerinden istifade ettiğim ve ihtiyaç duyduğumda maddi manevi desteklerini esirgemeyen tüm dostlarıma teşekkür ederim.

Temmuz, 2013

Dr. Kazım SOLAK

TÜRKÇE ÖZET

Giriş ve Amaç: Eklem kıkırdağının kendini yenileme yeteneğinin düşük olması nedeniyle osteokondral defektlerin tedavisi ortopedi ve travmatoloji pratiğinin en zor klinik problemlerinden biridir. Tüm tedavilerde ortak amaç biyolojik ve morfolojik yönden sağlıklı kıkırdağa benzeyen hyalin kıkırdak oluşumunu sağlamaktır. Bunun için osteokondral lezyonların tamirinde çeşitli tedavi seçenekleri geliştirilmiştir. Bunlar kemik iliği sitümlasyon teknikleri (abrazyon, debridman, drilleme ve mikrokırık), hücre kökenli tedaviler (otolog kondrosit transplantasyonu, kemik iliği kök hücreleri), defekt doldurma teknikleri (osteokondral otogreft veya allogreft transferi), doku mühendisliği ürünleri (skafold ve matriksler) ve farmakolojik ajanlardır.

Tam kat kıkırdak lezyonlarında mikrokırık yönteminin etkili olduğu gösterilmiştir. Subkondral kemiğin delinmesi sonrasında biyolojik yanıt ve pıhtı oluşturulur. Kemik iliğinden kaynaklanan pluripotent mesenkimal kök hücrelerinden oluşan bu pıhtı, fibröz kıkırdak dokusunu oluşturur. Osteokondral defektlerin tedavisinde bir diğer tedavi yöntemi de hücrelerin ya da büyüme faktörlerinin defekt içerisinde tutulmalarını sağlayacak matriks destekli tedavi yöntemleridir. Bunun için çeşitli skafold materyalleri geliştirilmiştir. Nano kompozit multilayer biomimetik skafold (Maioregen, Fin-Ceramica S.p.A., Faenza, Italy) da bu amaçla üretilmiş bir doku mühendisliği ürünüdür. Bu skafold üç boyutlu bir yapıya sahiptir. Tip 1 kollajen ve hidroksiapatit yapısı ile kıkırdak ve osteokondral defekt tamiri için tasarlanmıştır. Bir diğer sentetik skafold ise kondral skafolddur (ACS, Swissbiomed Orthopaedics AG, Zürich, Switzerland) ve saf poliglikolikasitten (PGA) oluşur. Yapısı homojen olup otolog serum ve PGA yapılı skafold bir araya getirilir ve tam kalınlıkta ki osteokondral defekte implante edilir. Biz çalışmamızda ratların dizlerinde tam kat osteokondral defekt oluşturarak, bu defektleri biomimetik skafold, kondral skafold ve mikrokırık yöntemini kullanarak tedavi etmeyi ve bu tedavilerin sonuçlarını karşılaştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada biomimetik skafold grubundan 12 rat, kondral skafold grubundan 10 rat, mikrokırık grubundan 10 rat ve kontrol grubundan 14 olmak üzere toplam 46 adet dişi Wistar albino rat kullanılmıştır. Ratların sağ dizlerine femoral interkondiler alana anestezi altında drill ile 2,5 mm çapında ve 2 mm derinliğinde silindirik tam kat osteokondral defekt oluşturulmuştur. Tüm ratların dizleri 4 hafta sonra yeniden opere edilmiştir. 1. grupta ratların defektli bölgesine biomimetik skafold uygulanmıştır. 2. grup ratlara mikrokırık işlemi sonrası kondral skafold uygulanmıştır. 3. grup ratlara 0.5 mm çapında, 0.8 mm derinliğinde mikrokırık işlemi yapılmıştır. 4. grup ratlara ise herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Ratlar 6 hafta takip edilmiş ve 6. haftanın sonunda tüm ratlar kurban edilerek elde edilen preparatlar makroskopik ve histopatolojik incelemeye alınmıştır.

Bulgular: Biomimetik skafold uygulanan tedavi grubunun makroskopik ve histopatolojik sonuçları; kondral skafold, mikrokırık ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ileri derece anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer üç grubu karşılaştırdığımız zaman sayısal olarak kondral skafoldun sonuçları mikrokırığın sonuçlarından, mikrokırığın sonuçları da kontrol grubunun sonuçlarından üstün olsa da, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Sonuç: Osteokondral defektlerin tamirinde nano kompozit multilayer biomimetik skafold tedavisinin sonuçları, kondral skafold ve mikrokırık tedavilerinin sonuçlarından daha iyi bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Osteokondral defekt, biomimetik skafold, kondral skafold, mikrokırık, rat.

ABSTRACT

Background and Aim: The treatment of osteochondral defects is the most difficult problem of the orthopedics because the ability of self-treatment of articular cartilage is very low. The common aim of all treatments is to provide the formation of hyaline cartilage which resembles a healthy cartilage in terms of biological and morphological aspects. To repair osteochondral lesions, various treatment options have been developed. These treatment options involve bone marrow stimulation techniques (abrasion, debridement, drilling and microfracture), cell-based therapies (autologous chondrocyte transplantation, bone marrow stem cells), defect filling techniques (osteochondral autograft or allograft transfer), tissue engineering products (scaffold and matrix) and pharmacological agents.

The microfracture method is proved to be effective in the treatment of full thickness cartilage defects. After drilling subchondral bone, biological response and blood clot are formed. This blood clot which is formed of pluripotent mesenchymal stem cells arisen from bone marrow forms the fibrous cartilage tissue. Another treatment method of the osteochondral defects is the matrix supported treatment methods that provides the cells and growth factors to be stucked in the defected area. To apply this treatment, there are some scaffold materials. Nano composite multilayer biomimetic scaffold (Maioregen, Fin-Ceramica Faenza S.p.A., Faenza–Italy) is a tissue engineering product produced for this purpose. This scaffold has a 3D composition. It is designed to treat cartilage and osteochondral defects with its type 1 collagen and hydroxyapatite composition. Another synthetic scaffold is chondral scaffold (ACS, Swissbiomed Orthopaedics AG, Zürich, Switzerland) which is formed of polyglycolic acid (PGA). Autologous serum and PGA scaffold are put together and implanted to full thickness osteochondral defect. In this experiment, it is aimed to compare the methods of biomimetic scaffold, chondral scaffold and microfracture in the treatment of osteochondral defects which are created deliberately in the knees of the rats.

Materials and Methods: In this experiment, total 46 female Wistar albino rats are used. The distribution of the groups were as follows; 12 rats for biomimetic scaffold method, 10 rats for chondral scaffold method, 10 rats for microfracture method and 14 rats as the control group. Cylindrical full thickness osteochondral defects were 2,5 mm in diameter and 2 mm in depth created with drill on the right knees of the rats. The knees of all the rats were operated again after 4 weeks. Biomimetic scaffold method is applied to the 12 rats in the first group. Chondral scaffold method is applied after microfracture process to the 10 rats in the second group. 0,5 mm in diameter and 0,8 mm in depth was applied to the 10 rats in the third group. No treatment was applied to the 14 rats in the control group. All the rats were observed for 6 weeks and at the end of the sixth week, all the rats were sacrificed and the obtained preparates were taken for macroscopic and histopathologic examination.

Results: The macroscopic and histopathologic results of the biomimetic scaffold method treatment group were compared to the chondral scaffold method, microfracture treatment group and control group and it is observed that there is a statistically significant difference between them ($p < 0.05$). When we compare other three treatment groups, we concluded that the results of the chondral scaffold group is superior to the result of the microfracture group, the result of the microfracture group is superior to the result of the control group quantitatively; “but there isn’t not statistically difference between these groups ($p > 0.05$).

Conclusion: The results of nano composite multilayer biomimetic scaffold in the treatment of osteochondral lesions were better than the results of chondral scaffold and microfracture treatments.

Key Words: Osteochondral defect, biomimetic scaffold, chondral scaffold, microfracture, rat

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

ÖNSÖZ (TEŞEKKÜR)	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT (İNGİLİZCE ÖZET).....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Eklem Kıkırdağı.....	4
2.1.1. Eklem kıkırdağının yapısı	4
2.1.2. Eklem kıkırdağının görevleri.....	8
2.1.3. Kıkırdak tipleri	8
2.1.4. Eklem kıkırdağının bölgeleri.....	10
2.1.5. Kıkırdak matriksi	12
2.1.6. Eklem kıkırdağının biyomekaniği	12
2.2. Kıkırdak Yaralanması.....	14
2.2.1. Kıkırdak yaralanması tipleri.....	14
2.2.2. Kıkırdak yaralanmasının sınıflandırılması.....	16
2.2.3. Kıkırdak yaralanmasının yerleşimi.....	17
2.2.4. Kıkırdak yaralanmasının iyileşmesi.....	18
2.2.5. Kıkırdak iyileşmesini etkileyen faktörler.....	19
2.2.6. Kıkırdak yaralanmalarında kullanılan tanı yöntemleri.....	20
2.2.7. Kıkırdak defektlerinde uygulanan tedavi yöntemleri.....	25
2.3. Mikrokırık Yöntemi.....	38
2.3.1. Mikrokırık uygulaması.....	38
2.3.2. Mikrokırık uygulanacak alan nasıl olmalı.....	40
2.3.3. Mikrokırığın biyolojik rolü.....	41
2.3.4. Mikrokırık ve periost grefti.....	41
2.3.5. Mikrokırık ve matriks.....	42
2.3.6. Mikrokırık endikasyonları.....	43
2.3.7. Mikrokırık kontrendikasyonları.....	43
2.3.8. Mikrokırığın avantajları.....	44
2.3.9. Mikrokırık tedavisi sonrası rehabilitasyon.....	45
2.4. Nano Kompozit Multilayer Biomimetik Skafold	45
2.4.1. Biomimetik skafoldun yapısı.....	46
2.4.2. Biomimetik skafoldun uygulanması.....	48
2.4.3. Biomimetik skafoldun biyolojik rolü	48
2.4.4. Biomimetik skafoldun özellikleri.....	49
2.4.5. Biomimetik skafoldun endikasyonları.....	50
2.4.6. Biomimetik skafoldun kontrendikasyonları.....	50
2.5. Kondral Skafold.....	50
2.5.1. Kondral skafoldun biyolojik yapısı.....	51

2.5.2. Kondral skafoldun özellikleri.....	52
2.5.3. Kondral skafoldun uygulanması.....	53
2.5.4. Kondral skafoldun endikasyonları.....	54
2.5.5. Kondral skafoldun kontrendikasyonları.....	55
2.5.6. Kondral skafold tedavisi sonrası rehabilitasyon.....	55
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	56
3.1. Çalışma Grupları.....	56
3.2. Hayvanların Hazırlanması	57
3.3. Cerrahi Teknik.....	57
3.4. Biomimetik Skafold Uygulaması.....	60
3.5. Kondral Skafold Uygulaması.....	63
3.6. Mikrokırık Uygulaması.....	67
3.7. Değerlendirme.....	68
3.7.1. Makroskopik değerlendirme	71
3.7.2. Histolojik değerlendirme	71
3.7.3. İstatistiksel değerlendirme.....	73
4. BULGULAR.....	74
5. TARTIŞMA.....	93
6. SONUÇ.....	106
7. KAYNAKLAR.....	107
8. EKLER.....	117
Ek-1. Özgeçmiş.....	118
Ek-2. Etik Kurul Onay Örneği.....	119

SİMGE ve KISALTMALAR

ACL: Anterior cruciate ligament (ön çapraz bağ)
ACI: Autologous chondrocyte implantation (otolog kondrosit implantasyonu)
BMP: Bone morphogenetic proteins (kemik morfojenik protein)
BT: Bilgisayarlı tomografi
COX: Siklooksijenaz
CPM: Continuous passive motion (sürekli pasif hareket)
dGEMRIC: Delayed gadolinum enhanced MRI of cartilage (kıkırdığın gecikmiş gadolinumla zenginleştirilmiş manyetik rezonans görüntülemesi)
ESM: Ekstrasellüler matriks
EGF: Epidermal growth faktör (epidermal büyüme faktörü)
FGF: Fibroblast growth faktör (fibroblast büyüme faktörü)
GAG: Glikozaminoglikan
HA: Hidroksiapatit
ICRS: International Cartilage Repair Society (uluslararası kıkırdak tamir derneği)
IGF: İnsülin like growth faktör (insülin benzeri büyüme faktörü)
IKDC: International knee documentation committee (uluslararası diz dökümantasyon komitesi)
MACI: Matrix induced autologous chondrocyte implantation (matriks rehberli otolog kondrosit implantasyonu)
MMP: Matriks metalloproteaz
MOCART: Magnetic resonance observation of cartilage repair tissue (kıkırdak tamir dokusunun manyetik rezonans görüntülemesi)
MRG: Manyetik rezonans görüntüleme
MSC: Mesenchymal stem cell (mezenkimal kök hücre)
MSM: Metilsülfonilmetan
NSAİİ: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar
OA: Osteoartrit
OATS: Osteochondral autograft transfer system (osteokondral otograft transfer sistemi)
OCD: Osteokondritis dissekans
PDGF: Platelet derive growth faktör (trombositten elde edilen büyüme faktörü)
PGA: Poliglikolik asit
PRP: Platelet rich plasma (trombositten zengin plazma)
PTH: Parathormon
RA: Romatoid artrit
VEGF: Vasküler endotelyal growth faktör (vasküler endotelyal büyüme faktörü)
TGF-β: Transforming growth faktör beta (dönüştürücü büyüme faktörü beta)
VAS: Visual analog skalası (görsel analog skalası)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kıkırdak yaralanmalarının tedavisi ortopedi ve travmatolojinin üzerinde en fazla çalışma yapılan konularından birisidir. Tedavi edilmedikleri takdirde lezyonların iyileşmesi yetersiz olur ve eklem ağrısı, disfonksiyon, dejeneratif artrit gibi problemlere yol açabilir (1, 2, 3).

Kıkırdak ve subkondral kemiğin ikisini birden içeren yaralanmalar, osteokondral defekt olarak isimlendirilmektedir. Osteokondral defektler çoğunlukla travma, osteokondritis dissekans veya osteonekroz sonucu meydana gelirler (4).

Subkondral kemiği içermeyen eklem kıkırdağı yaralanmaları eklem kıkırdak dejenerasyonu şeklinde ilerler. Kıkırdak defektinin etrafında sınırlı mitotik aktivite olmasına rağmen bu faaliyet kıkırdağı kurtarma için yeterli değildir. Eklem kıkırdağının yapısı damardan yoksun olduğundan rehabilitasyon şansı sınırlıdır (5, 6). Ancak bu kıkırdak defekti vasküler bir yapısı olan subkondral kemiğe ulaşırsa iyileşme olabilir. Küçük defektler subkondral alandan gelen fibrokartilaj doku ile iyileşebilir, fakat büyük defektlerin iyileşmesi nispeten zordur (6). Rejenerasyonu uyararak doğal iyileşmeyi artıran bazı yöntemler bulunmuştur fakat tamir sıklıkla inkomplettir ve dayanıklılıktan yoksundur (7).

Yaralanmış veya dejenere olmuş sinovyal eklemden normal fonksiyonun korunması için temel ön şart hyalin kıkırdağın restorasyonudur (3). Fakat bunu uygulamak klinik olarak zordur ve maliyeti yüksektir. Osteokondral defektlerin tedavisi ile ilgili klinik ve deneysel birçok çalışma yapılmış, fakat en iyi tedavisi henüz tanımlanmış değildir.

Tüm tedavilerde ortak amaç biyolojik ve morfolojik yönden sağlıklı kıkırdağa benzeyen hyalin kıkırdak oluşumunu sağlamaktır. Bunun için çeşitli tedavi seçenekleri bulunmaktadır. Bunlar kemik iliği sitümlasyon teknikleri (abrazyon, drilleme ve mikrokırık), hücre kökenli tedaviler (otolog kondrosit transplantasyonu, kemik iliği kök hücreleri), defekt doldurulma tekniği (osteokondral otograft veya allograft transferi), doku mühendisliği ürünleri (skafold ve matriks) ve farmakolojik ajanlardır (8).

Tam kat kıkırdak lezyonlarında mikrokırık yönteminin etkili olduğu gösterilmiştir (9). Subkondral kemiğin delinmesi sonrasında biyolojik yanıt oluşturulur ve subkondral kemik plağının penetrasyonu defekt içinde pıhtı oluşumuna yol açar (9). Kemik iliğinden kaynaklanan pluripotent mezenkimal kök hücrelerinden oluşan bu pıhtı, değişen miktarlarda tip 2 kollajen içeren karışık fibrokıkırdak tamir dokusunu üretir. Bu gibi prosedürlerden sonra görülen kıkırdak doku normal eklem kıkırdağının yapısı ve kompozisyonuyla veya mekanik özellikleri ile aynı değildir. Mikrokırığın avantajları; prosedürün basit olması, düşük fiyatı, tek seansta yapılabilmesi ve hasta morbiditesi için düşük riskli olmasıdır (9).

Osteokondral defektlerin tedavisinde bir diğer tedavi yöntemi de hücrelerin ya da büyüme faktörlerinin defekt içerisinde tutulmalarını sağlayacak matriks destekli tedavi yöntemleridir. Bunun için çeşitli skafold materyalleri üretilmiştir. Nano kompozit multilayer biomimetik skafold da bu skafoldlardan bir tanesidir. Bu skafold tip 1 kollajen ve nano yapıllı hidroksiapatit yapısı ile kıkırdak ve osteokondral defekt tamiri için tasarlanmıştır (8).

Biomimetik skafoldun tüm osteokondral dokuyu; kıkırdak, kıkırdak kemik geçiş zonu ve subkondral kemiği taklit edebilen üç boyutlu bir matriks yapısı vardır. Kıkırdak katmanı eklem uyumunu korumak için % 100 tip 1 kollajenden oluşan pürüzsüz bir yüzeye sahiptir. Ara tabaka % 60 tip 1 kollajen ve % 40 magnezyumdan-hidroksiapatitten oluşur. Alt tabaka ise subkondral kemik yapısını simüle eden % 30 tip 1 kollajen ve %70 magnezyum-hidroksiapatitten oluşur. Uygulama alanına ve anatomik bölgeye göre şekillenir. Kimyasal bileşimi sayesinde tamamen parçalanabilir ve rejenerasyon işlemini kolaylaştırır (10). Üç boyutlu skafold rejenerasyon için yapısal destek sağlar. Hücresel göç, yapışma ve farklılaşma için yüzey alanının genişliğini artırır. Hücresel büyüme ve doku rejenerasyonu skafoldun karakteristiği ve gözenekli olmasına bağlıdır (11).

Bir diğer tedavi yönteminde bioabsorbabl eklem implantı adı verilen kondral skafold'dur. Bu implant tam kat osteokondral defektlerde mikrokırık işlemi sonrası mezenkimal ve progenitor hücrelerin kemotaksisi sonrası kıkırdak tamir dokusu oluşturmak için uygulanır. Otolog serum ve hyaluronan poliglikolik asit (PGA) skafold bir araya getirilir ve tam kalınlıkta osteokondral defekte implante edilir (12).

Kıkırdak defektlerinin tedavisi zor ve uzun bir süreçtir. Uzun dönemde amaç dayanıklı, kalıcı ve orijinal eklem kıkırdağına benzeyen kıkırdak dokusu elde etmektir. Biz

Çalışmamızda ratların dizlerinde tam kat osteokondral defekt oluşturarak biomimetik skafold, kondral skafold ve mikrokırık yöntemini uygulayarak bunların sonuçlarını karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

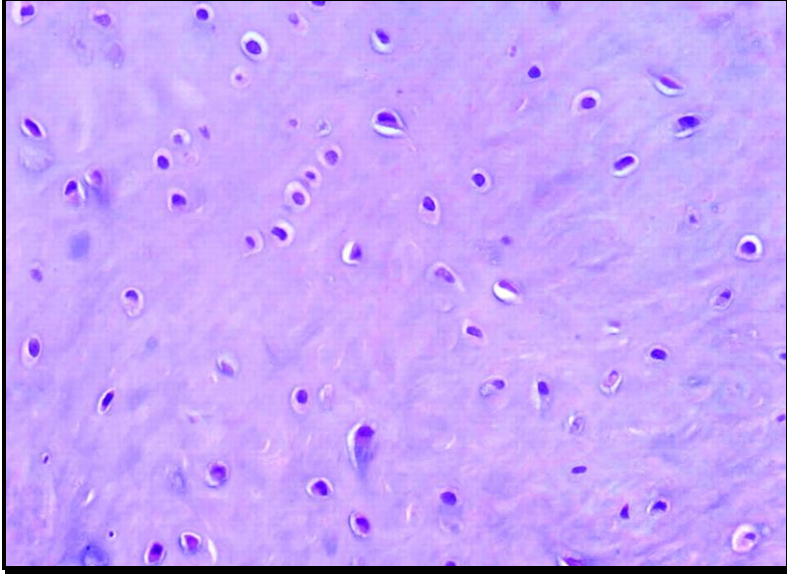
2.1. Eklem Kıkırdağı

Eklem kıkırdağı, sinovyal eklemleri oluşturan kemiklerin ekleme bakan yüzeylerini kaplayan ve eklemün temel yük taşıyan yapısını oluşturan bağ dokusudur. Yaklaşık 1-6 mm kalınlığında hyalin kıkırdaktan oluşur (13, 14). Eklem kıkırdağının kan dolaşımı, lenfatik drenaj ve sinir sistemi ile herhangi bir bağlantısı yoktur, difüzyon ile sinovial sıvıdan beslenir (2, 13, 15). Kıkırdak dokusu, eklemlerin hareketi esnasında kompresyon ve shear kuvvetlerin bileşiminden oluşan yoğun ve tekrarlayan yüklenmelere maruz kalan bir dokudur (16).

2.1.1. Eklem kıkırdağının yapısı

Eklem kıkırdağının yapısı, kondrositler ile üç boyutlu bir kollajen fibril ağı içinde sıkışmış proteoglikanlar ve matriks proteinlerinden oluşan bir ekstrasellüler matriks (ESM) ve sudan meydana gelir (13). Eklem kıkırdağının yaş ağırlığının %65-80'ini su oluşturur. Bu moleküllerin hepsinin bir arada bulunması eklem kıkırdağının su tutma özelliğini sağlar (13). Ekstrasellüler matriksin yapım ve yıkımından kondrositler sorumludur. Kondrositlerin, yüklenme ile şekilleri, basınçları ve kimyasal ortamları değişmekle birlikte, yük taşımaya herhangi bir katkıları yoktur (17, 18). Ekstrasellüler matriks, kıkırdağın yük altında şeklini, esnekliğini ve direncini korumasını sağlar (17). Kıkırdağın, fizyolojik yüklere dayanabilmesi, ESM' in bileşimi ve yapısal bütünlüğüne bağlıdır. Fizyolojik düzeyde yüklenmeler, dokunun fonksiyonuna uyumunu artıracak şekilde, hücrelerin matriks metabolizmasını devam ettirmelerini sağlar. Kollajen fibril ağı gerici ve makaslayıcı yüklere, proteoglikanlar sıkıştırıcı yüklere karşı dokunun dinamik gücünü oluştururlar. Bu fonksiyonel dayanışma, katmanlı bir yapı ile sağlanır (17, 19).

Matür kartilaj dokudan farklı olarak immatür eklem kıkırdağı kök hücre popülasyonuna sahiptir (20). Şekil 1'de eklem kıkırdağının histolojik yapısı gösterilmiştir (21).



Şekil 1. Eklem kıkırdağının (hyalin kıkırdak) histolojik yapısı (21).

Kondrositler

Eklem kıkırdağındaki tek hücre tipidirler. Bütün kondrositler kendi ürettikleri matriks tarafından çevrelenmişlerdir (22). Hücreler matriks içinde kendilerine ait boşluklarda bulunurlar. Hücre ve yerleştiği bu boşluğa laküna adı verilir. Hücreleri çeviren matriks ana matriksten tip 4 kollajenden oluşan bir ağ ile keskin bir şekilde ayrılır (23).

Kondrositler mezenşimal hücre kökenlidirler. Temel görevleri matriksin sentezini, şekillenmesini ve yapım yıkım dengesini ayarlamaktır (24). İskelet büyümesi tamamlandıktan sonra nadiren bölünürler, metabolik olarak aktiftirler ve çevresel uyarılara, büyüme faktörlerine, interlökinlere, değişik farmakolojik maddelere yanıt verebilirler. Mekanik yüklere, hidrostatik ve osmotik basınç değişikliklerine karşı duyarlıdırlar (22).

Kıkırdak dokusunun damarlanması olmadığından, hücreler gerekli besin maddelerini difüzyon ile sağlarlar. Matriks içinde bulunmaları ve hücre-hücre temasının çok az olması difüzyon için elverişli bir ortam sunar (22). Kondrositlerin enerji kaynağının tespiti ile ilgili çalışmalarda; bu hücrelerin uygun şartlar altında aerobik ve heksoz monofosfat şant yollarını kullanabildikleri fakat enerjinin çoğunun anaerobik yol ile meydana geldiği gösterilmiştir (25).

Ekstrasellüler Matriks

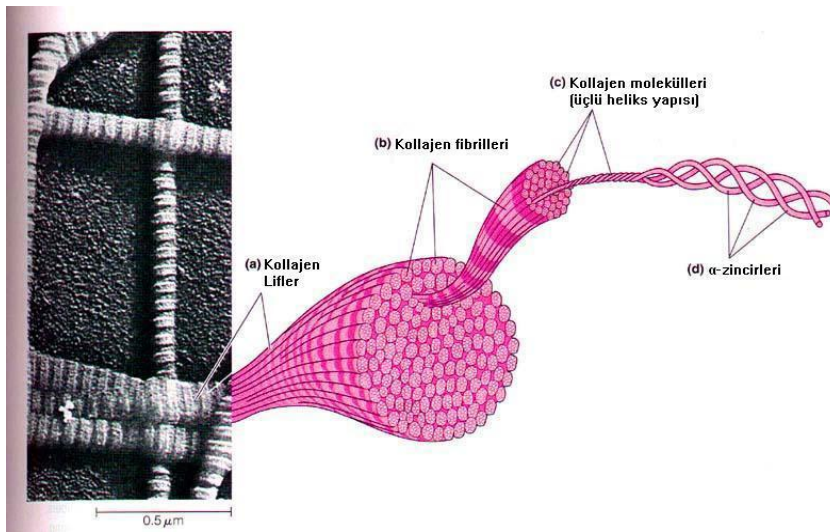
Matriksin miktar olarak en büyük bileşeni sudur. Kollajen ve proteoglikanlar iki ana yük taşıyan moleküldür. Bunların dışında glikoproteinler, değişik proteinler, fosfolipidler de matriksin yapısında bulunur (22).

Su

Su miktarı kıkırdağın farklı tabakalarında değişik seviyelerdedir. Matriksteki su inorganik sodyum, potasyum ve kalsiyum tuzları içerir. Böylece proteoglikanlardaki (-) yüklü sülfat grupları ile etkileşime girerek eklem kıkırdağına çok önemli biyomekanik özellikler kazandırır (22).

Kollajen

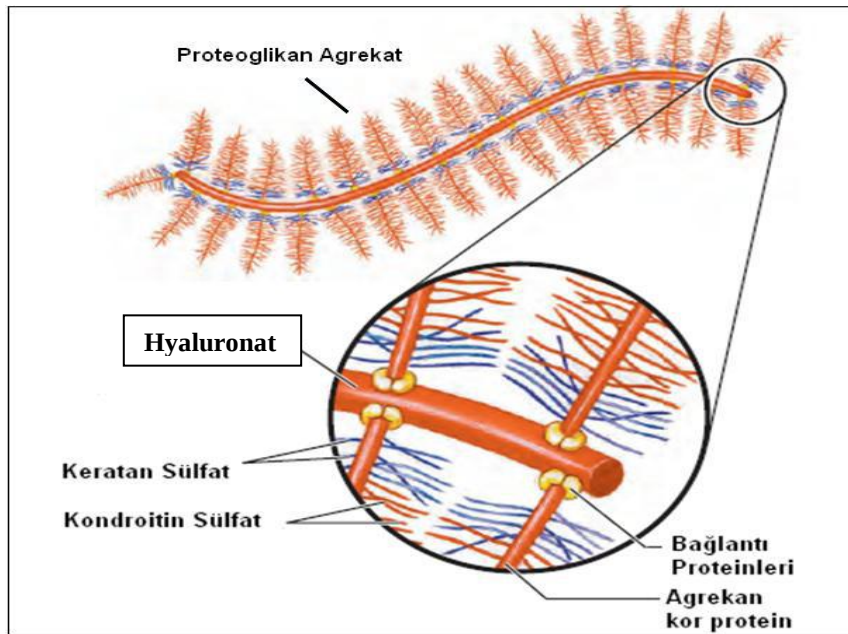
Matriksin ana yapısal molekülleridir. Kondrositler tarafından birçok kollajen tipi sentez edilir (22). Eklem kıkırdağında %95 oranında tip 2 kollajen bulunurken %5 oranında ise tip 6, 9, 10, 11 kollajen bulunur (23, 24). Tüm kollajen lifleri birbirine çapraz kovalan bağlarla bağlı 3 adet polipeptid zincirinden oluşan; üçlü heliks yapısındadır. Elektron mikroskopik görüntülerde birbirlerini çaprazlayan liflerin daha çok tip 2, 9, 11 kollajen lifleri olduğu ortaya konmuştur. Bu yapı kıkırdağa ekstra bir gerginlik ve üzerine binen yüklere karşı dayanma gücü vermiştir (22, 24). Kollajen lifleri ayrıca; oluşturdukları ağ yapısı ile büyük proteoglikan moleküllerini aralarında hapsederek kıkırdağın şok emici özelliğinin ortaya çıkmasında önemli rol oynarlar (22). Şekil 2' de kollajen yapısı gösterilmiştir (26).



Şekil 2. Kollajenin yapısı (26).

Proteoglikanlar

Kondrositler tarafından sentez edilip matrikse salınırlar. Proteoglikanlar çekirdek proteinlere kovalan olarak bağlanmış kondroitin 4 sülfat, kondroitin 6 sülfat ve keratan sülfat zincirlerinden oluşur. Bu zincirlerde birçok (-) yüklü sülfat ve karboksilaz bulunduğundan matriksteki suyu ve içindeki (+) yüklü Na, K ve Ca iyonlarını çekerler, (-) yüklü kondroitin sülfat ve keratan sülfat zincirleri ise birbirlerini iterler (22, 24). Böylece proteoglikanların kollajen ağı içinde hapsolması sağlanmış olur ki bu da kıkırdağın üstün biyomekanik özelliklerinin ortaya çıkmasında büyük rol oynar (22). Proteoglikanlar eklem kıkırdağında kollajene bağlı veya kollajen ağları arasında hapsolmuş şekilde bulunabildikleri gibi, bağlayıcı bir protein vasıtasıyla hyaluronik asite bağlanmış yüzlerce kondroitin ve keratan sülfattan oluşmuş proteoglikan agregatı şeklinde de bulunabilirler (22). Bu ana bileşenlerin dışında eklem kıkırdağında farklı görevleri olan ve henüz görevi anlaşılamamış birçok değişik madde bulunur. Bir glikoprotein olan fibronektin yapışmada görev alırken, kondrokalsin kalsiyum bağlanmasında, BMP'ler (kemik morfogenezik protein) ise büyüme faktörü olarak görev alırlar (23). Matrikste birçok proteaz ve hyaluronidaz bulunur. Bunlardan lizozim enzimi kıkırdağa giren mikroorganizmalara karşı görev alırken, matriksin yapımı ile yıkımı arasındaki dengeyi sağlayan MMP'lerin (matriks metalloproteaz) en bilinenleri MMP-3, MMP-8, MMP-9 ve MMP-13'tür (23). Şekil 3'te proteoglikan yapısı gösterilmiştir (27).



Şekil 3. Proteoglikan yapısı (27).

Kollajen olmayan proteinler ve glikoproteinler

Eklem kıkırdağında çok çeşitli miktarda kollajen olmayan proteinler ve glikoproteinler bulunmaktadır. Bunların eklem kıkırdağı yapısı ve işlevindeki rolleri tam olarak bilinmemektedir (13). Matriksin makromoleküler yapılarının organizasyon ve devamlılığında hücrelerle ve diğer matriks molekülleriyle arasındaki ilişkiyi düzenlemede rol aldıkları düşünülmektedir (28). Bunlar monosakkarid ve oligosakkaritlerin tutunduğu proteinlerden oluşmaktadır. Fibronektin ve kondrosit yüzey proteini olan C II'nin ekstraselüler matriksin yapısında ve organizasyonunda rol aldığı düşünülmektedir. Kıkırdakta bulunan extrasellüler matriks proteinleri fibronektin ve tenaskin diğer birçok dokuda da bulunmaktadır. Bu moleküllerin matriks organizasyonunda fonksiyonu olduğu düşünülmektedir.

2.1.2 Eklem kıkırdağının görevleri

Eklem kıkırdağının başlıca görevleri şunlardır (19, 29):

- 1-Yükün temas alanını genişleterek zorlanmayı azaltır.
- 2-Hidrostatik basıncı artırarak, matriksi ve kondrositleri korur.
- 3-Sürtünmeyi azaltarak hareketi kolaylaştırır.
- 4-Embriyonda kemiklerin ve iskelet sisteminin gelişmesinde rol alır.
- 5-Büyüme çağında uzun kemiklerin uzamasında rol alır.
- 6-Solunum sisteminde trakea, bronş gibi hava yollarında fonksiyonel olarak görev alır ve hava yolunun kapanmasını engeller. Kıkırdağın bu işlevleri yerine getirmesi özel yapısı ile mümkün olmaktadır. Kıkırdağın katı ve sıvı bileşenlerden oluşan yapısı içinde yük, hem katı bileşenlerde oluşan gerilim hem de sıvı bileşende artan basınçla karşılanmaktadır (17, 18).

2.1.3. Kıkırdak tipleri

Eklem kıkırdağı çoğunlukla özelleşmiş hyalin kıkırdak yapısındadır (22, 31). Mikroskopik olarak ana bileşeni matrikstir. Bu madde eklem kıkırdağının yapısındaki tek hücre tipi olan kondrositleri çevreler. Matriksin yapısında su, kollajen, proteoglikanlar, glikoproteinler ve çeşitli proteinler bulunur (22). Kıkırdak doku hacminin %95'ini matriks,

%5'ini ise kondrositler oluşturur (31). Kondrositlerin asıl görevi; eşsiz yapıdaki matriksin sentezinin, idamesinin ve yapımı ile yıkımı arasındaki dengenin sağlanmasıdır (24, 31). Eklem kıkırdağı kan damarlarından, lenfatiklerden ve sinir dokusundan yoksundur (22, 31, 32). Bu nedenle kendisi için gerekli olan besin maddelerini ve oksijeni difüzyon ile sinoviyal sıvıdan sağlar (30). Ara maddedeki kollajen liflerin özelliklerine göre 3 tip kıkırdak dokusu vardır (30).

Hyalin kıkırdak

Perikondrium kıkırdağı çevreleyen sert ve dayanıklı bir bağ dokusudur. Vücutta eklemlerde bulunan kıkırdaktır. Fibriller bir dış tabaka ile matriksi sentezleme kapasitesine sahip hücresel bir iç tabakadan oluşur. Hyalin kıkırdakta matriks tip II kollajen, proteoglikan, glikoprotein ve ekstraselüler sıvı içerir. Matriksin kuru ağırlığının % 40'ı kollajendir. Işık mikroskobu ile kollajen seçilemez ve matriks amorf, homojen gözlenir.

Hyalin kıkırdak temel olarak tip II kollajen içerir. Fakat tip VI, IX, X, XI ve diğer kollajenler de az miktarda bulunur. Tip II kollajen büyük bantlar oluşturmaz ancak liflerin kalınlığı lakünalardan uzaklaştıkça artar. Hyalin kıkırdak eklemlere sürtünmesiz hareket sağlar ve yük taşıma kapasitesi vardır. Hyalin kıkırdak vücutta eklemler dışında nazal, laringeal, bronşiyoller ve kosta kıkırdaklarda bulunmaktadır (28).

Fibröz kıkırdak

Perikondrium içermez, matriks tip I kollajene sahiptir. Hyalin kıkırdak ile bağ dokusu arasında bir yapıya sahiptir. Dermatan sülfat ve kondroidin sülfatça zengin az bir matrikse sahiptir. Burada kondrositler fibroblastlardan köken alırlar. Sert ve sağlam bir yapısı vardır. Vücutta intervertebral diskler, menisküsler, labrum ve simfizis pubiste bulunur (28).

Elastik kıkırdak

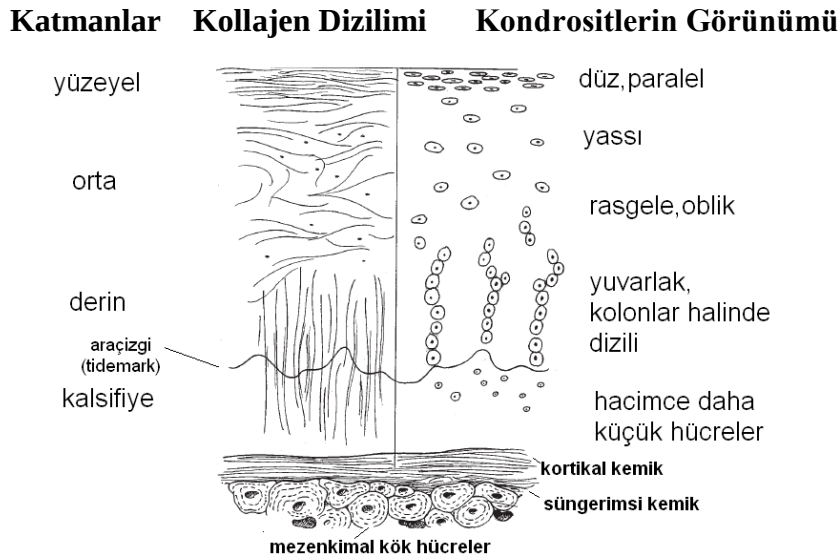
Hyalin kıkırdağa benzer fakat matriks ve perikondriumu elastik lif içerir. Matrikste de bol miktarda inceden kalına kadar değişen ve tip II kollajen lifler arasında dallanan elastik lifler bulunur. Bu lifler elastik kıkırdağın matriksine elastik olma özelliğini kazandırır. Matriks hyalin kıkırdak kadar bol değildir ve kalsifikasyon göstermez. Hyalin kıkırdaktan daha yumuşaktır. Vücutta dış kulak aurikulası, epiglotisin bir kısmı ve bronş kıkırdağının bir kısmında bulunur (28).

2.1.4. Eklem kıkırdağının bölgeleri

Eklem kıkırdağı yapı ve içerik olarak birbirinden farklı dört tabakadan oluşur (22, 24, 31). Şekil 4'te eklem kıkırdağının anatomisi gösterilmiştir (33).

- 1-Yüzeyel tabaka
- 2- Orta (geçiş tabakası) tabaka
- 3- Derin tabaka
- 4- Kalsifiye tabaka

Bütün bu tabakalarda; kollajen liflerin şekli, boyutu, dizilimi kondrositlerin şekilleri, matriksin proteoglikan ve su içerikleri değişiklik gösterir (22).



Şekil 4. Eklem kıkırdağının temel yapısal anatomisi (33).

1-Yüzeyel Tabaka

Bu tabaka hacim olarak en küçük kıkırdak tabakasıdır (31). En üst kısmında 3 mikron kalınlığında hücre içermeyen lamina splendens adı verilen bir bölüm vardır (24). Bir ile üç kondrosit tabakasından oluşur. Yüzeysel tabakada kollajen lifler ve kondrositler yüzeye paralel olarak dizilirler (22, 23). Bu nedenle yüzeyel tabaka kompresyon kuvvetlerinden çok, horizontal makaslama kuvvetlerinin karşılanmasında görev alır (23). Bu tabakada bulunan kondrositler en bilineni lubrisin olan bazı kayganlaştırıcı proteinler üretir ve bu proteinleri eklem aralığına salgılayarak, kıkırdaktaki sürtünmeyi ve aşınmayı azaltırlar (23, 32).

Yüzeyel tabaka matriksi; proteoglikan oranı en düşük, su oranı ise en yüksek matrikstir (22, 24).

2-Orta Tabaka

Hacim olarak kıkırdığın en büyük tabakasıdır. Daha geniş ve düzensiz şekilde yerleşmiş kollajen liflerin yanında burada ki hücreler yuvarlak yapıdadır. Elektron mikroskopik görüntülerde bu bölgelerde ki kondrositlerin daha büyük endoplazmik retikulumu, golgi cismine ve mitokondrilere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu özellik metabolik olarak daha aktif hücre yapısı ile uyumludur (22, 31). Bu tabakadaki hücreler baskı altında hacimlerini %40 oranında azaltabilirken, kollajen lifler de kompresyon kuvvetlerinin geliş yönüne göre uyum gösterebilirler. Bu yapı çarpma kuvvetlerinin hızlarının azaltılmasında ve ortaya çıkan enerjinin emilmesinde bir yastık görevi görerek; kıkırdığın dayanıklılığına katkı sağlar (23).

3-Derin Tabaka

Bu bölgede ki kollajen lifleri diğer tabakalardakine göre daha geniştir ve lifler eklem yüzeyine dik şekilde yerleşmişlerdir. Proteoglikan yoğunluğu en yüksek, su yoğunluğu en az olan bölgedir. Hücreler yuvarlak yapıdadır, yüzeye dik şekilde ikişerli ve dörderli kolonlar oluşturacak şekilde yerleşmişlerdir. Hücrelerin oluşturduğu bu yapıya kondron adı verilir (22, 24, 31). Kondronlar ve kollajen lifler yüzeye dik olarak yerleştiğinden; bu tabakanın vertikal kompresyon kuvvetlerinin karşılanmasındaki önemi büyüktür (23).

4-Kalsifiye Tabaka

Subkondral kemiğin hemen üzerindeki tabakadır. Derin tabakadan tidemark denilen su içeriği yüksek olan bazofilik bir kısımla ayrılır. Bu sert bölge alttaki kemikten gelen besleyici damarların geçişini engeller. Bu tabakada hücreler daha küçüktür ve sadece birkaç organel içerirler (22-24). Altta ki kemik doku ile biyomekanik bağlantıyı sağlamak esas görevidir (23). Üçüncü ve dördüncü kıkırdak tabakaları arasında toluidin mavisi gibi temel boyalarla histolojik olarak görülen tidemark denilen bir sınır çizgisi vardır.

2.1.5. Kıkırdak matriksi

Kıkırdak matriksi hücrelerin yapısına göre üç farklı bölgeden oluşur (28,34). Bunlar; periselüler bölge, territorial bölge ve interterritorial bölgedir.

Perisellüler Matriks

En küçük matriks komponentidir. Yaklaşık 2 mm kalınlığındadır. Proteoglikanların yanı sıra glikoproteinlerden ve kollajen olmayan matriks proteinlerden zengindir. Bu tabaka kondrositlerin matrikse bağlanmalarında ve kıkırdağa yük vermekle sinyal iletimini başlatmakta rol oynayabilir (13).

Territorial matriks

Perisellüler bölgeyi çevreler. Kollajen fibriller kondrositleri mekanik etkilerden korumak ve kondrosit kümelerinin etrafında fibril sepeti örmek için çaprazlaşarak bulunurlar (28,34). Territorial matriks hücreleri mekanik travmalara karşı korur, artiküler kıkırdağın esnekliğine ve yük taşıma kabiliyetine katkıda bulunur (13).

İnterterritorial matriks

Tüm kıkırdak matriks tipleri içinde en fazla hacime sahip olanıdır. Bu bölgede diğerlerinden farklı olarak proteoglikan agregatları oluşur (28). Eklem kıkırdağının biyomekanik özelliklerine en çok katkıda bulunan matriks bölgesidir (13).

2.1.6. Eklem kıkırdağının biyomekaniği

Eklem kıkırdağında sürekli olarak statik ve dinamik yük dağılımı mevcuttur. Kıkırdağın fizyolojik kompresif, tensil ve makaslama kuvvetlerine karşı koyabilme yeteneği ekstraselüler matriksin yapısına ve içeriğine bağlıdır. Sağlam matriks fonksiyonunu sürdürebilmek için, proteoglikanlara, kollajenlere, kollajen olmayan proteinlere, glikoproteinlere ve diğer matriks proteinlerine ihtiyaç duyar (35). Glikozaminoglikanların (GAG) oluşturduğu agregan moleküller ise kompresyona ve dokuda sıvı akımına karşı direnç sağlar.

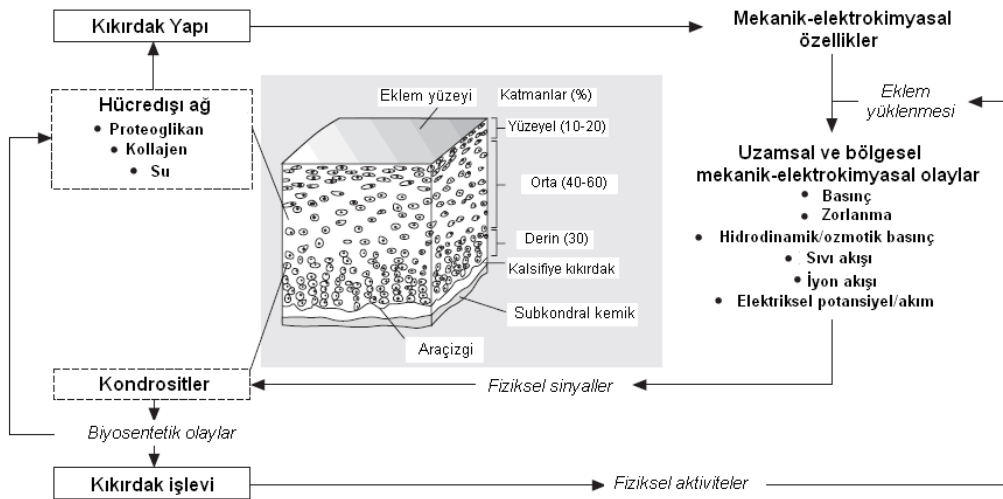
Kondrositlerin, yüklenme ile şekilleri, basınçları ve kimyasal ortamları değişmekle birlikte, yük taşımaya herhangi bir katkıları yoktur. Kondrositlerin, mekanik yüklere karşı biyokimyasal işlemlerle cevap verdiği bilinmektedir (36). Ekstraselüler matriks, kıkırdığın yük altında şeklini, esnekliğini ve direncini korumasını sağlar.

Eklem kıkırdığının biyomekaniği ve işlevi, çok fazlı viskoelastik malzeme özelliğiyle açıklanmaktadır.

1-Sıvı faz: Eklem yüzeyini etkileyen yüklenmelere karşı, kıkırdaktan eklem aralığına ve hücreler arası alana su çıkışı ile oluşan osmotik basınç karşılar.

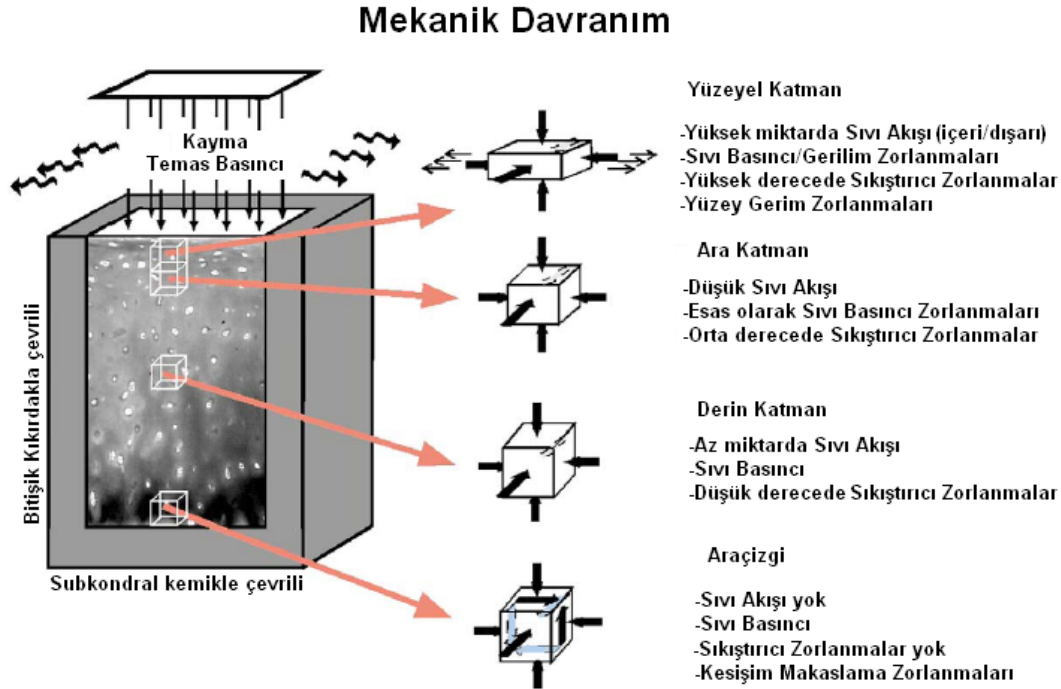
2-Negatif yüklü katı faz: Yoğun süngerimsi güçlü kollajen ağı, yüksek yoğunluklu negatif yüklü proteoglikanlarla birlikte osmotik basınçla karşılanamayan aşırı yüklenmeleri dağıtarak karşılar.

3-İyon fazı: Sodyum, kalsiyum, klor, vb. çözünür elektrolitler negatif yüklü katı hücre dışı ağı nötralize ederler. Bu üç özellik kıkırdak yapının mekanik ve elektrokimyasal özelliği olarak tanımlanmaktadır (37). Eklem yüklenmesi karşısında kıkırdak; farklı katmanlarda sıvı akışı, sıkıştırıcı, basınç ve makaslama zorlanmalarına karşı farklı ancak tek bir birim olarak davranış gösterir ve biyomekanik sinyallerle kondrositlerin işlevini düzenler (37) (Şekil 5).



Şekil 5. Eklem kıkırdığının yapısı, katmanları, kalınlıklarının oranı, kondrosit dağılımı ve mekanik ve elektrokimyasal sinyaller ile kondrositlerde biyosentetik olayların işleyişinin gösterimi (37).

Yüzeyel katman, tüm yüklenme etkisinin yarısından fazlasını karşılanmasında, kayma temas basıncını, yüksek miktarda sıvı giriş çıkışını sağlayarak hareketli eklemin sıvı basıncı ile kıkırdığın kayganlaştırıcı özellik kazanmasında baş rol oynar (17) (Şekil 6).



Şekil 6. Hareket ve eklem yüklenmeleri altında eklem kıkırdığının ortamı ve mekanik davranımı (17).

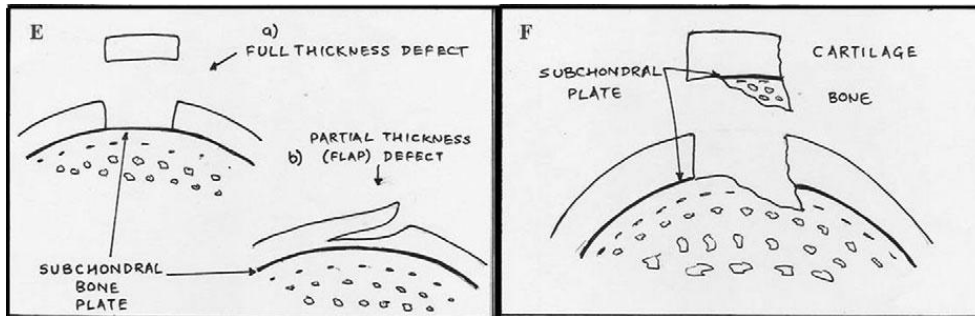
2.2. Kıkırdak Yaralanması

Eklem kıkırdığı yaralanmaları en çok yaşamın 4. dekadında görülürken, tam kat osteokondral lezyonlar ise en fazla 3. dekattaki genç hastalarda görülmektedir (34). Tekrarlayan mikrotravma ve major travmalar osteoartite yol açabilir (34). Kondral yaralanmaların tipik semptomları menisküs yırtığına benzer; ağrı, şişlik, kilitleme, tutulma yakınmaları olur.

2.2.1. Kıkırdak yaralanma tipleri

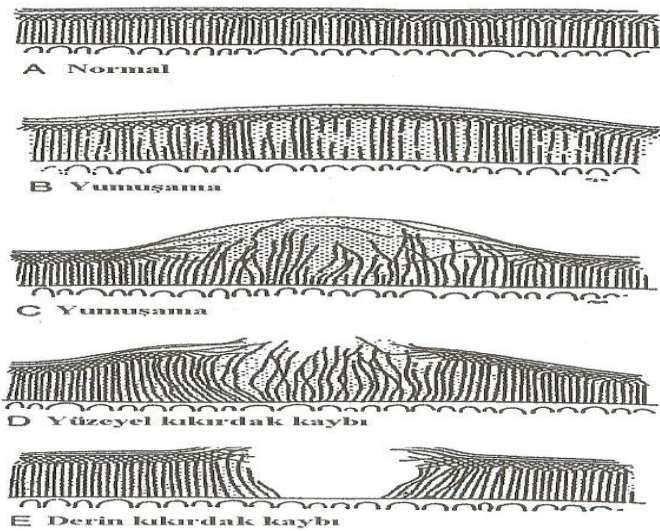
Eklem kıkırdak defektleri kondral ve osteokondral defekt olmak üzere ikiye ayrılır. Pür kondral defekt subkondral kemiğe kadar tam kat kıkırdak ayrılması ya da parsiyel ayrışan

kıkırdak flebidir (34). Osteokondral defektler ise altta yatan subkondral kemiğin içine uzanan tam kat kıkırdak defektleridir (Şekil 7).



Şekil 7. Lezyonun derinliğine göre artiküler kıkırdak defekt tipleri (34).

Eklem kıkırdak hasarı sonuç olarak osteokondritis dissekans (OCD), travma, dejeneratif eklem hastalığı, subkondral kemiğe yakın osteonekrozlar, enfeksiyon, cerrahi travma ve eklem immobilizasyonundan kaynaklanır (38). Eklem kıkırdak hasarının gelişim aşamaları vardır (Şekil 8) (39). OCD sıklıkla minör travmalarla meydana gelir ve osteokondral kemik ve eklem kıkırdağı ayrılmasını içerir. Sıklıkla medial femoral kondilin lateralinde olur ve gençlerde sık görülür. Direkt travmaya bağlı oluşan kıkırdak hasarları da sıklıkla medial femoral kondilde görülürler. Yaygın kıkırdak hasarlanması dejeneratif eklem hastalığıdır. Subkondral kemiğe yakın osteonekrozlar subkondral yetmezlik kırığına neden olarak osteokondral hasar oluştururlar (38). İnflamatuvar artritler ve septik artritte ise immün sistemin hücresel ve humoral etkileri ile kondral yıkım meydana gelir.



Şekil 8. Eklem kıkırdak hasarının gelişim aşamaları (39).

Subkondral kemik yaralanmaları semptomatik veya asemptomatik olabilir, ancak her iki durumda da eklem kıkırdak dejenerasyonuna neden olabilir (40). Subkondral kemik yaralanması muhtemelen kondral ve osteokondral yaralanmalardan daha sık görülmektedir, fakat eklem kıkırdağı ve artiküler yüzeyde bir hasar oluşturmadığından tespiti zordur (40).

2.2.2. Kıkırdak yaralanmalarının sınıflandırılması

Kıkırdak yaralanmalarında defektin ciddiyetine göre Outerbridge ve Modifiye Outerbridge sınıflamaları Tablo 1’de sunulmuştur (41).

Tablo 1. Eklem kıkırdak lezyonlarının ciddiyetine göre sınıflandırılması (41).

Grade	Outerbridge	Modifiye Outerbridge
0	Normal kıkırdak	İntakt kıkırdak
I	Yumuşama ve şişme	Kondral yumuşama veya intakt yüzeylerde kabarma
II	0,5 inch çaptan daha küçük alanda fragmantasyon ve fissürler	Yüzeyel ülserasyon, fibrilasyon veya kıkırdak derinliğinin %50’sinden daha az fissürleşme
III	0,5 inch çaptan daha büyük alanda fragmantasyon ve fissürler	Derin ülserasyon, fibrilasyon, kemiğin ekspoze olmaksızın kıkırdağın %50’sinden daha çok fissürleşme veya kıkırdak flebi
IV	Subkondral kemik açılmış	Subkondral kemiğin ortaya çıktığı tam kat aşınma

ICRS (International Cartilage Repair Society) evrelemesi Tablo 2’ de ve Şekil 9’da sunulmuştur (42, 43).

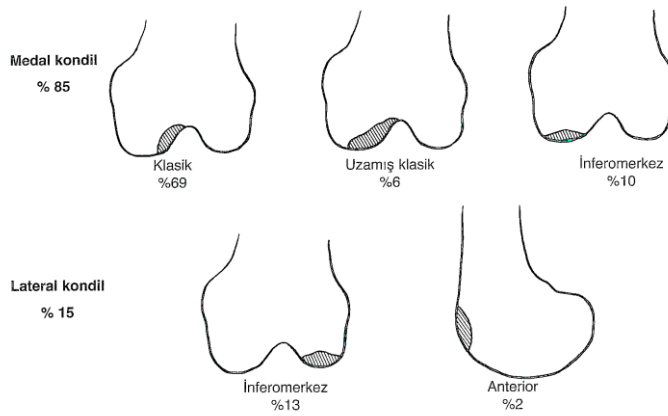
Tablo 2 ve Şekil 9. ICRS evreleme sistemi (42, 43).

Grade	ICRS	
0	Normal	
I	Normale yakın	
Ia	Yüzeyel lezyon, yumuşama	
Ib	Yüzeyel çatlaklar, yarıklar	
II	< %50’den daha az derinlikte kıkırdak hasarı	
III	> %50’den daha fazla derinliğe inen lezyonlar	
IIIa	Kalsifiye kıkırdağa kadar inen kıkırdak hasarı	
IIIb	Subkondral kemiğe kadar inen kıkırdak hasarı	
IV	Subkondral kemiğin açıkta olduğu kıkırdak hasarı	

2.2.3. Kıkırdak yaralanmalarının yerleşimi

Diz ekleminde en sık tutulum %85 oranında medial femoral kondilde görülür. Burada da en sık yaralanma %69 oranında medial femoral kondilin lateralinde görülür. Lateral

femoral kondilde %15 oranında görülür (60). Patellada görülme sıklığı ise %1'den azdır. Şekil 10'da kıkırdak lezyonlarının diz içinde yerleşimi gösterilmiştir (60).



Şekil 10. Kıkırdak lezyonlarının diz içinde yerleşimi (60).

2.2.4. Kıkırdak yaralanmasının iyileşmesi

Eklem kıkırdığı kayda değer bir oranda sürekli tekrarlayan fiziksel stresleri tolere edebilir. Normal koşullarda kıkırdığın mekanik streslere karşı olan dayanıklılığı sabittir, ancak yaşlanma ile yapısal olarak zayıflar (44). Travmatik olaylar, osteoartrit (OA) ve romatoid artrit (RA) gibi kronik ve progresif eklem dejenerasyon hastalıkları eklem kıkırdığının yük taşıma özelliğini kaybettiren patolojilerdir (45). Artritik eklemlerdeki kıkırdak bozulmasının tam olarak mekanizması bilinmese de kıkırdak hasara uğradığında ya da dejenere olduğunda intrensek tamir mekanizmaları dokuyu yeniler (44, 46). Outerbridge'e göre grade 2 gibi tam kat olmayan subkondral kemiğe ulaşmayan flap veya fissür tarzındaki yaralanmalarda kıkırdak hücreleri sonunda nekroza gider (47, 48).

Hasarlanmadan 3 gün sonra kondrosit hücrelerinin silyalarının uyarılması ile çevre kondrosit hücreleri prolifer olmaya ve ECM sentezlemeye başlarlar ve tip 2 kollajende artış görülür (46). Ancak uzun dönem sonucunda yapılan araştırmalarda lezyonda bir değişiklik görülmezken OA ile ilişkili bulgular saptanmıştır (45). Perikondriumu olan dokulardaki iyileşme mekanizmasının yanında eklem kıkırdığında subkondral kemiğe ulaşan Grade 3–4 hasarlanmalarda bir başka intrensek mekanizma devreye girer. Bu tip yaralanmalarda iyileşme subkondral kemik iliğinden hasarlı bölgeye geçen prekürsör veya stem hücrelerinin hyalin kıkırdak yerine fibröz kıkırdak doku oluşturması ile gerçekleşir (48).

Kısmi kırıkta hasarının iyileşmemesinin nedeni kan dolaşımının olmaması ve rejenerasyon sürecinde etkili olan kondrojenik hücrelerin ve mediatörlerin yaralanma bölgesine ulaşmamasıdır.

Tam kat kırıklarda ve yaralanmalarda bölgenin subkondral kemikle direk temasa geçmesi sayesinde kanlanması ve kan ile mezenşimal hücrelerin ve rejenerasyon sürecine katkıda bulunan sitokinlerin, mediatörlerin travma bölgesine gelmesi ile önce fibrin pıhtı oluşur, daha sonra subkondral kemikte inflamasyon başlar ve granülasyon dokusu oluşur. Bu rejenerasyon süreci defektli alanı dolduran fibröz kırıkta içerikli yeni kırıkta dokusu oluşumu ile sonlanır. Subkondral kemik yüksek oranda osteoblastik ve osteoklastik aktivitesi ile kırıkta iyileşmesinin remodelizasyon fazında da etkili olur. Kondrositlerin fibroblastlara metaplazisi ve kırıkta özgü proteinlerin üretimi yaralanmadan yaklaşık iki hafta sonra başlar (49). Bazı mezenşimal hücreler yuvarlak şekil alır ve yaralanmadan 2 hafta sonra tip 2 kollajen ve proteoglikandan zengin matriks üretmeye başlar, yaralanmadan 6-8 hafta sonra ise onarım dokusu içerisinde çok sayıda kondrosit benzeri hücre görülür (50).

2.2.5. Kırıkta iyileşmesini etkileyen faktörler

Derinlik

Kırıkta defektleri kondral ve osteokondral defekt olmak üzere ikiye ayrılır. Kondral hasar subkondral kemiğe kadar uzanır. Osteokondral hasar ise altta yatan subkondral kemiğin içine uzanan tam kat kırıkta defektleridir. Bu nedenle defektin derinliği onarım yanıtının uyarılması için çok önemlidir. Bu onarım dokusu biyomekanik ve yapısal olarak hiyalin kırıktan daha kötüdür. Bu nedenle yük taşımak için uygun olmayabilir (39).

Defektin büyüklüğü

Tamir yanıtında defektin büyüklüğü önemli bir faktördür. 3 mm'ye kadar büyüklükte olan defektler tamamen onarılabilirken, 3 mm'den büyük çaptaki defektler tam olarak tamir edilemez (39). Artiküler kırıkta tamir yanıtı defektin hacim ve yüzey alanının büyüklüğüne bağlıdır.

Yaş

Yaşlanmayla kıkırdakta ki kondrositlerin popülasyonu ve hidrasyonu azalır. Kondrositlerin mitoz ve sentez aktiviteleri de yaşla azalır (34). Kondral defektlerin iyileşme yanıtları gençlerde yaşlılara göre daha iyidir. Çocuklar ve gençlerde osteokondral lezyonlar gelişirken, yetişkinlerde iyi gelişmiş ve olgunlaşmış kalsifiye tabaka dolayısıyla pür kondral lezyonlar gelişir. Çocuklarda OCD sorunsuz iyileşirken, erişkinlerde nadiren iyileşir (41).

Travma

Eklem yüzeyine ani ağır darbe ya da eklem kıkırdağına tekrarlayan yüklenme, hücresel dejenerasyon ve hücre ölümüne yol açan kondrosit mikro hasarına neden olabilir. Bu aynı zamanda hidrasyonun artmasına, kıkırdağın fissürleşmesine ve subkondral kemiğin kalınlaşmasına yol açan kollajen matrisin bozulmasına neden olur. Travma kondrositlerin proteoglikan üretiminin azalmasına yol açar (39).

2.2.6. Kıkırdak yaralanmalarında kullanılan tanı yöntemleri

Kıkırdak yaralanmalarında birçok tanı yöntemi kullanılabilir. Bunlar radyografi, ultrasonografi, tomografi, sintigrafi, manyetik rezonans görüntüleme ve artroskopidir.

Radyografi

Dizin rutin radyolojik incelemesi, ön arka (anteroposterior) ve yan (lateral) olmak üzere en az iki projeksiyon içermelidir. Bunlara sıklıkla tünel ve tanjansiyel patella grafileri de ilave edilebilir. Ön-arka grafi elde edilirken, diz ekstansiyonda, kaset dizin arkasında ve santral ışın kasete diktir. Hasta ayakta olmalıdır. Yan grafi, hasta incelenecek dizinin üzerine yatar durumda ve diz 20-30 derece fleksiyonda iken elde edilir. Tünel grafisi dizin yaklaşık 50 derece fleksiyonda ve tüpün kraniokaudal 45 derece yönlendirilerek çekilen pozisyonda interkondiler tüberküller, interkondiler fossa, femur kondilleri hakkında daha iyi bilgi alınabilir. Tibiofemoral kompartmanlardaki eklem aralıklarının değerlendirilmesinde çekimin ayakta basarak yapılması daha doğru bilgi vermektedir. Tanjansiyel patella grafilerinde literatürde daha çok Merchant ve Laurin adı verilen teknikler tercih edilir. Genellikle her iki dizin grafisi birlikte elde edilir. Bu grafide patellofemoral eklem gösterilir. Patellofemoral

instabiliteler, patella kırıkları ve kemikleşme varyasyonları, artroplastide patellar komponent bu grafide değerlendirilir (39,51).

Ultrasonografi

Sonografi diz hastalıklarında artiküler kartilaj, tendon ve ligamentler, menisküs, sinovyal boşluklar ve komşu kas yapıları ilgilendiren lezyonların tanısında kullanılabilir olmasına karşın beklenen yaygınlığa ulaşamamıştır (39, 52).

Artrografi

Eklem içine radyoopak madde enjekte edilerek yapılan radyografi tekniğidir. Eklem kıkırdağını ve yaralanmalarda subkondral kemik dokuyu direkt grafiye göre daha iyi gösterir. Ancak invaziv bir işlem olması ve manyetik rezonans görüntülemenin daha ayrıntılı bilgi vermesi nedeniyle kullanımı azalmıştır.

Sintigrafi

Kemik sintigrafisinin patellofemoral eklem hastalıklarındaki kullanımı sınırlıdır. Radyonükleid tutulumun arttığı kırık, infeksiyon ya da tümöral lezyonların çoğunda zaten radyografinin yüksek tanısal değerinin olması sintigrafik taramayı gereksiz kılmaktadır. Radyografik olarak saptanmayan ancak sintigrafik ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile tespit edilebilen gizli trabeküler fraktür (bone bruise), travma sonrası diz anteriorunda ağrı nedeniyle başvuranlarda sintigrafinin kullanım endikasyonu olabilir (39, 52). Patella ve distal femurda radyonükleid tutulumun nicel değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalar var olsa da sonuçların nonspesifik olması ve morfolojik değişikliklerin (kondromalazi, sinovyal plika ya da osseoz kontuzyon gibi) tanımlanamaması patellofemoral eklem hastalıklarında sintigrafik taramanın dezavantajlarıdır (39, 52).

Bilgisayarlı tomografi

Bilgisayarlı tomografi (BT) kıkırdak ile birlikte kemik patoloji düşünüldüğü zaman kullanılabilecek bir yöntemdir (53). Travma sonrasında açıklanamayan ağrı ve efüzyonda eklem ulaşan nondeplase fraktür araştırması amacıyla kullanılabilir. Artrografi eşliğinde yapılırsa eklem kıkırdağının yüzeyini değerlendirmede daha anlamlı bilgi verebilir.

Manyetik rezonans görüntüleme

MRG 1980'lerin ikinci yarısında yaygın olarak klinik uygulamaya geçmesiyle, merkezi sinir sisteminden sonra ikinci sıklıkta kullanım alanı kas iskelet sistemi, özellikle de diz eklemi olmuştur (52).

Patellofemoral eklem hastalıklarının tanısında, invaziv prosedür içermemesi, osseöz, kondral ve yumuşak doku bilgilendirmesini yüksek rezolusyonla yapabilmesi, BT'de olduğu gibi görüntüleme planının sadece transvers düzlemde sınırlı olmayıp tüm planlarda görüntü alabilmesi, iyonizan radyasyon içermemesi nedeniyle MRG günümüzde başka bir görüntüleme yöntemine gerek kalmaksızın tercih edilir olmuştur (39).

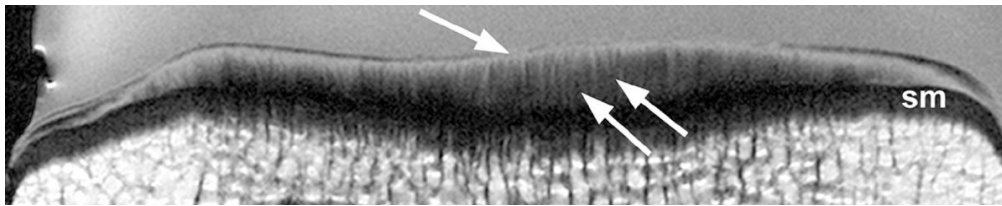
Normal artiküler kartilajın MRG imajı Modl ve ark. (54) tarafından üç tabaka olarak tarif edilmiştir. İnce, düşük sinyalli bir yüzeyel tabaka, daha yüksek sinyalli bir orta tabaka ve düşük sinyalli bir derin tabaka tarif edilmiştir. Düşük sinyalli derin tabakanın T1 ağırlıklı imajlarda daha az kalın olduğunu, T2 ağırlığının artan derecelerinde bu tabakanın görünen kalınlığının arttığını izlemişlerdir (54). Kartilajın histolojik bölümleriyle MR imajlarının korelasyonu kabaca kalitatif olarak gösterilmiş ancak bu iki sekansla gösterilen tabakaların kalınlıkları arasında kesin kantitatif korelasyon gösterilememiştir (39). Bu sebeple MR taramalarında görülen tabakaların kesin orijini hala bilinmemektedir. Fakat kollajen liflerin kalınlığı ve oryantasyonundaki zonal farklılıklarla ilgili olduğu düşünülmektedir (39).

Manyetik rezonansa kıkırdak iyileşmesi, MOCART (Magnetic resonance observation of cartilage repair tissue) sistemiyle değerlendirilebilir. Bu sistemde defekt dolum oranı, implantla kıkırdak ve kemik arası birleşme, implant yüzeyi ve yapısı, subkondral lamina ve kemik, implant sinyal yoğunluğu, eklem içi yapışıklık ve efüzyon değerlendirilir (53). Defektin dolum oranı; %50'den fazla, %50'den az ya da tam kalınlıkta defekt olarak, sinyal kalitesi; normal (komşu kıkırdak ile aynı), normale yakın (bazı alanlarda hiperintens), anormal (çoğu alan hiperintens) ya da yok (hiç kıkırdak yok), kemik iliği ödemi ve efüzyon ise; yok, hafif, orta, şiddetli olarak derecelendirilir (55).

Kıkırdak iyileşmesinin takibinde önerilen sekanslar; T2, proton yoğunluğu, 2D fast spin echo ve 3D gradient echo'dur (42). Kalitatif ve kantitatif T2 haritalama ile hiyalin ile fibröz kıkırdak ayırt edilebilmektedir. T2'de kollajen içeriği değerlendirilebilmektedir. Kıkırdağın biyokimyasal yapısı da dGEMRIC (delayed gadolinum enhanced MRI of

cartilage: kıkırdığın gecikmiş gadolinumla zenginleştirilmiş manyetik rezonans görüntüleme) sekansı ile değerlendirilebilir (42). Yüksek çözünürlüklü T2 ve T1 dGEMRIC sekanslarında iyileşme dokusunun proteoglikan içeriği ölçülebilmektedir. Ayrıca 3 Tesla çözünürlüğe sahip MRG’de dGEMRIC ile T1 haritalama yöntemi ile kıkırdığın glikozaminoglikan içeriğinin yanı sıra katman yapısı dahi görülebilmektedir (42).

Kartilajdaki erken dönem değişiklikler yumuşama ve bül formasyonu oluşumudur. Geç dönem değişiklikleri kartilaj yüzeyinde düzensizlik, önce sığ ardından derin erozyonlar, fissürler, en son tüm kartilaj kalınlığı kaybı ve altındaki kemiğin eburnasyonudur. Erken dönem değişikliklerde T1 ağırlıklı spin echo imajlarda kartilaj içinde düşük sinyalli fokus, T2 ağırlıklı imajlarda parlak sinyalli fokus mevcuttur. Geç dönem değişikliklerde yüzey düzensizliği ve içinde eklem sıvısı izlenen fokal defektler mevcuttur (39). Şekil 11’de eklem kıkırdığının MRG ile yüksek rezolüsyonlu görüntüsü izlenmektedir.



Şekil 11. Lateral tibial platoda eklem kıkırdığının MRG görüntüsü (56).

Outerbridge göre MRG ile kıkırdak değerlendirme sisteminde 5 grade bulunmaktadır (39).

Grade 0: Normal

Grade 1: Anormal sinyal intensitesi

Grade 2: Yüzey düzensizliği

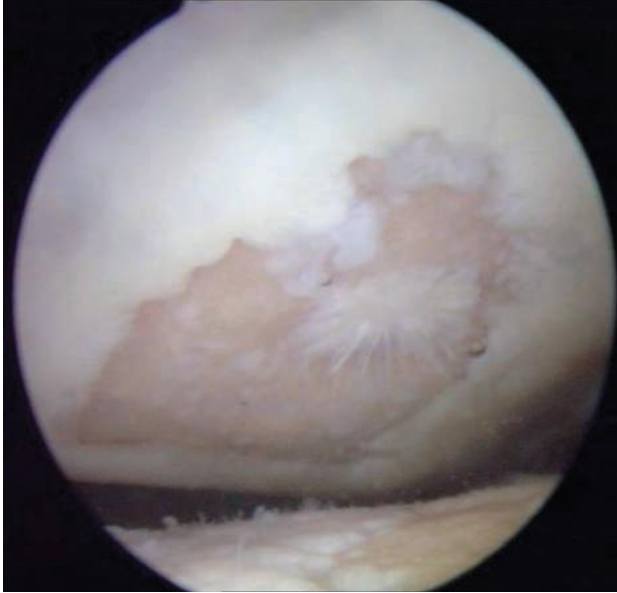
Grade 3: Kemiğe ulaşmayan kısmi kalınlık kaybı

Grade 4: Kemiğe ulaşan tam kalınlık kaybı ve subkondral kemikte reaktif değişiklik

Artroskopi

Artroskopi günümüzde eklem kıkırdığını değerlendirmede kullanılan en önemli ve en güvenilir tanı ve tedavi yöntemidir. Şekil 12’de tam kat kıkırdak defektinin artroskopik görüntüsü izlenmektedir (58). Sıklıkla Outerbridge Sınıflaması kullanılmaktadır (57). Kıkırdığın sertliği çengel ile palpe edilir. Defektleri değerlendirmek için mükemmel görüş sağlar (Şekil 13) (59). Artroskopi ile kıkırdak dışı dokular da değerlendirilebilir ve bu dokulara yönelik kapsamlı müdahaleler yapılabilir. Aynı şekilde kıkırdak yaralanmalarına

yönelik mikrofraktür, traşlama, mozaikplasti, abrazyon artroplastisi gibi birçok yöntem artroskopi ile uygulanabilir.



Şekil 12. Patellofemoral kıkırdak defektinin artroskopik görüntüsü (58).

Outerbridge sınıflamasına göre artroskopik kıkırdak değerlendirmesi (57):

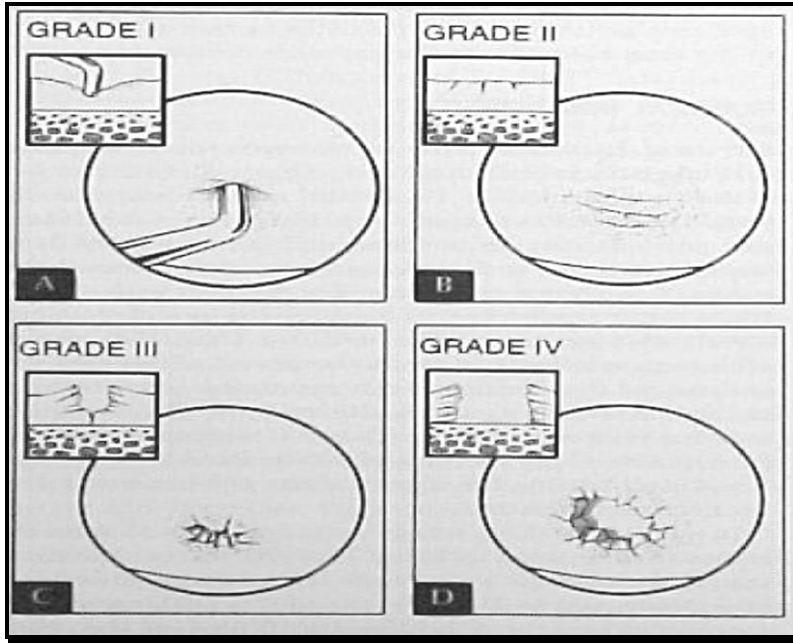
Grade 0: Normal

Grade 1: Yumuşama

Grade 2: Yüzey düzensizlikleri, fibrilasyon ve fissürler

Grade 3: Subkondral kemiğe ulaşan çatlaklar ve fibrilasyonlar

Grade 4: Eklem kıkırdağının kaybolduğu ve subkondral kemiğin görüldüğü erozyonlar



Şekil 13. Artroskopik Outerbridge Sınıflaması (59).

2.2.7. Kıkırdak Defektlerinde Uygulanan Tedavi Yöntemleri

Eklem kıkırdak lezyonlarının tanısı koyulduktan sonra erken dönemde tedavisi; eklem fonksiyonlarının korunması, hastanın ağrısının giderilmesi ve erken osteoartrit gelişiminin önlenmesi açısından oldukça önemlidir (58).

Dizde bulunan kıkırdak lezyonlarına ait bulgular karşımıza farklı şekillerde çıkabilir. Öncelikle tanı kesinleştirilmeli, eğer kıkırdak lezyonu varsa güncel yaklaşım biçimlerinden hastaya uygun olanı seçilmelidir. Bu süreç içerisinde de cerrah, International Cartilage Repair Society'nin (ICRS) hazırlamış olduğu aşağıdaki parametrelerin cevabını almış ve ICRS sınıflandırmasını yapmış olmalıdır (43).

1. Etiyoloji: Kıkırdak lezyonunun akut ya da kronik olduğu belirlenmelidir.
2. Defekt derinliği: Defektin derinliği eklem prognozunu etkiler. Subkondral kistler veya kıkırdak subkondral kemik sınır çizgisinin aşılması kıkırdak sağlığını tehdit eder.
3. Lezyonun büyüklüğü: Tanısal artroskopi sırasında çengel yardımıyla lezyonun büyüklüğü net olarak saptanabilir. 2 cm^2 'den küçük ve 2 cm^2 'den büyük defektlere göre değişen tedavi seçenekleri vardır.
4. Defektin çeperi: Lezyonu çevreleyen kıkırdağın sağlıklı veya sağlıklı olmaması lezyonun tedaviye yanıt verip vermemesi açısından önemlidir.

5. Defektin yeri: Defektin eklem yük taşıyan bölümünde olması kıkırdak iyileşmesini olumsuz etkiler.

6. Diz stabilitesi: Dizdeki instabilite kıkırdağın sağlıklı iyileşmesini engeller.

7. Menisküs sağlamlığı: Menisküslerin olmaması hem stabiliteyi azaltığından hem de yük taşıma dağılımını bozduğundan kıkırdak iyileşmesini engeller.

8. Dizilim: Dizin anatomik diziliminin bozulmuş olması, daha önceden osteotomi veya dizilimi düzeltici cerrahi uygulanmış olmasının bilinmesi seçilecek tedavi yöntemi konusunda yol gösterici olacaktır.

9. Daha önce yapılan girişim: Eski cerrahi girişim varsa kaydedilmesi gerekir ve tedavi yönlendirilirken göz önüne alınması gerekir.

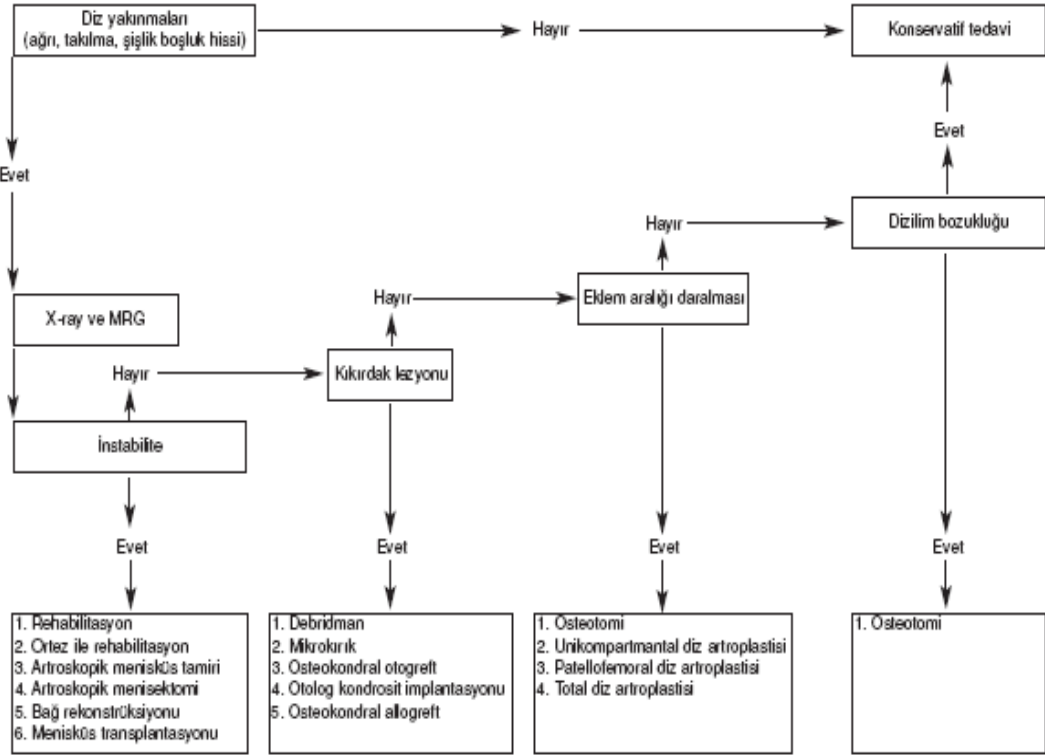
10. Radyolojik inceleme: Eklem aralığı mesafesinin, anatomik dizilimin ve subkondral kist oluşumunun değerlendirilmesi için ayakta basarak anteroposterior (AP), lateral ve patellofemoral görüntüler gereklidir.

11. Manyetik rezonans görüntüleme ile değerlendirme: Yeni MRG sekansları defektlerin ve kıkırdak tamirlerinin ameliyat öncesi ve sonrasının değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır.

12. Genel tıbbi, sistematik ve aile öyküsü: Romatizmal öykü endokrin sistemiyle ilgili faktörlerin olup olmaması, ailede osteoartrit veya kıkırdak bozukluklarının olup olmaması lezyonun geleceğini belirler.

Kıkırdak lezyonlarına ait hasta yakınmaları ağrı, takılma, kilitlenme, şişme ve boşluk hissidir. Eğer hastanın yakınmaları arasında bunlar yoksa tedavi konservatif olup; non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), kondroitin sulfat gibi oral preparatlar, diz içi enjeksiyonlar ve fizik tedavi ve rehabilitasyondan oluşur (61, 62).

Eğer hastanın yakınmaları arasında ağrı, takılma, kilitlenme, şişme ve boşluk hissi varsa, fizik muayeneyi takiben hastanın ileri incelemeye ihtiyacı vardır (Tablo 3) (61). Hemen hemen her zaman direkt grafi ve manyetik rezonans görüntüleme ile kıkırdak lezyonlarının olup olmadığını ortaya koymak mümkündür. Maalesef tek başına radyolojik sonuçlar tedavi biçimini belirleyemez. Tedavi algoritmasını oluştururken hastanın dizinin stabilitesi, kıkırdak lezyonunun büyüklüğü eklem aralığında daralma olup olmadığı ve dizilim bozukluğu olup olmadığının tespit edilmesi gereklidir (61, 62).



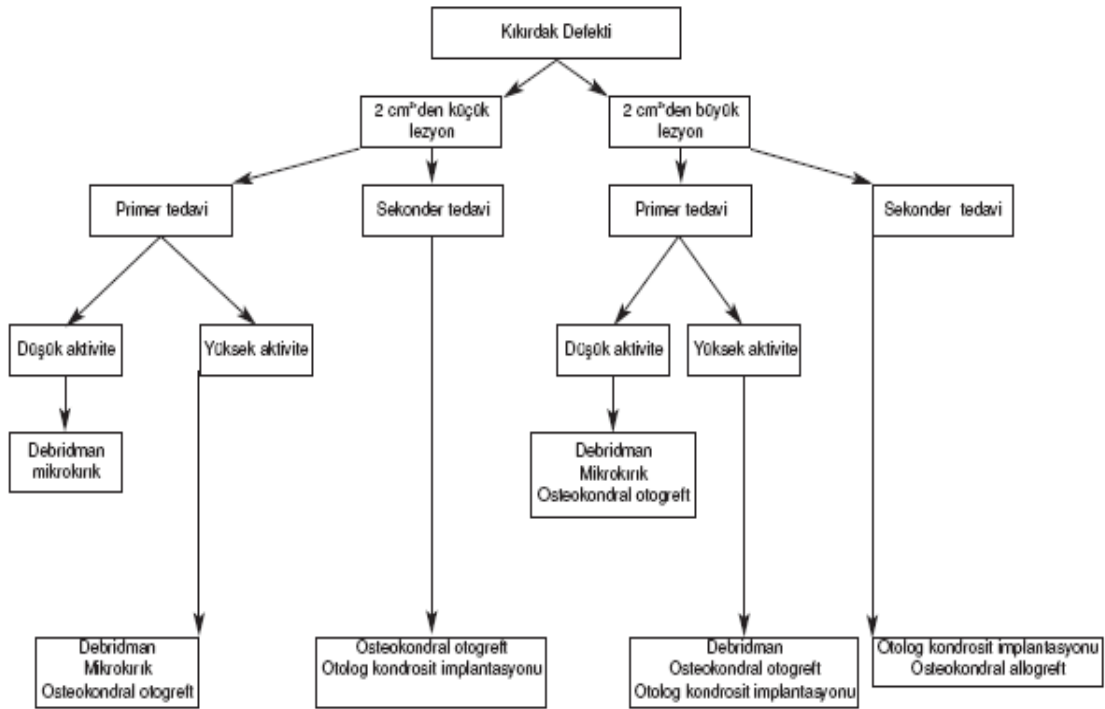
Tablo 3. Kıkırdak lezyonu düşündüren diz yakınmalarının tedavi algoritması (61).

Cerrahi olarak yapılan işlemlerde tedavinin amacı hastanın semptomlarını hafifletmek ve eklem kıkırdagının biyomekanik ve fizyolojik özelliklerini kaybetmeden mikro yapısını eski haline getirmektir (5). Osteokondral defektlerin tamirinde çok çeşitli tedavi seçenekleri vardır. Bunlar semptom giderici tedaviler (debridman, yıkama, traşlama ve radyofrekans), kemik iliği sitümlasyon teknikleri (abrazyon, drilleme ve mikrokirik) gibi tamir edici tedaviler, hücre kökenli tedaviler (otolog kondrosit transplantasyonu, kemik iliği kök hücreleri), defektin doldurulması teknikleri (osteokondral otoplasti veya allograft transferi) ve doku mühendisliği ürünü olan matriks veya skafold destekli yapılandırıcı tedavilerdir (2, 41, 58). Bunların yanında farmakolojik ajanlar da kullanılmaktadır (3).

Tedavinin seçimi primer olarak lezyonun büyüklüğüne ve hastanın aktivite isteğine bağlıdır ve yöntemler tek tek ya da birkaç yöntemin kombinasyonu şeklinde uygulanabilir. 40 yaşından küçüklere uygulanan cerrahi tedavinin sonuçları 40 yaşından büyüklere uygulananlardan daha iyidir (41).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar ve deneyimler hastanın yaşı, lezyonun büyüklüğü gibi parametrelere göre çeşitli öneriler ve algoritmalar elde edilmesini sağlamıştır (Tablo 4)

(61). 2 cm'e kadar olan lezyonlarda abrazyon kondroplastisi, artroskopik debridman ve lavaj, mikrokirik gibi kemik iliği uyarma teknikleri, osteokondral otogreft transferi önerilirken, boyutu daha geniş ya da çoklu lezyonlarda ise otolog kondrosit implantasyonu, taze osteokondral allogreftler kullanılabilir (36). Uygulanacak yöntem ne olursa olsun, kabul edilmiş genel görüş, eklem kıkırdak lezyonlarının tamirinin hyalin kıkırdak ile sonuçlanması gerektiği yönündedir. Hyalin kıkırdak ile iyileşme amacına en yakın sonuçlar, osteokondral otogreft transferi, otolog kondrosit implantasyonu ve doku mühendisliği ile üretilen kıkırdak benzeri dokunun transplantasyonu yöntemleri ile alınmaya yaklaşılmıştır, fakat henüz bu amaca tam olarak ulaşılammıştır. Bu yüzden farklı hücre kaynakları, bunları lezyona göndermek için taşıyıcılar, büyüme faktörlerinin eklenmesi ve genetik değişiklikler yapılması gibi yeni yöntemler geliştirmeye çalışan araştırmalar devam etmektedir.



Tablo 4. Kıkırdak defektinin tedavi algoritması (61).

Sınırlı bir kıkırdak lezyonu olmayıp hastanın yakınmalarının eklem aralığı daralmasına bağlı olduğu düşünülmüşse, eklem hangi kompartmanın daraldığı ve daralmanın derecesini belirlemek gerekir. Az veya orta derecede eklem aralığı daralması söz konusu olan kompartmanların tedavisinde osteotomiler kullanılmalıdır. Tek kompartmanı tutan ileri derecede artrit varlığında ise artroplasti uygulamak gerekir (63, 64). Medial veya

lateral kompartman daralmasında unikompartmantal artroplasti yapılabilir. Patellofemoral eklemden ileri derecede daralma varsa patellofemoral artroplasti yapmak gerekir.

Son yıllarda tıpta giderek artan şekilde uygulama alanları bulan doku mühendisliği; biyolojik, kimyasal ve mühendislik prensipleri uygulanarak, biyomateryaller, hücreler ve biyolojik faktörler kullanılmasıyla yaşayan dokuların tamiri, restorasyonu ve yeniden oluşturulması olarak tanımlanabilir (58). 4 farklı şekilde kullanımı mevcuttur: Otolog kondrosit implantasyonunda olduğu gibi kondrositlerin in-vitro kültür sonrasında transplantasyonu, defektif yere biyolojik faktörlerin yerleştirilmesi, nanoteknoloji kullanılarak yeni kıkırdak dokunun büyümesini stimüle eden üç boyutlu poröz skafoldların kullanımı ve son olarak skafold, hücreler ve büyüme faktörlerinin kombine kullanımı dikkat çekmektedir (58). Bu tekniklerin etkinliklerinin gösterilmesi için randomize, kontrollü çalışmalar yapılması ve maliyetlerinin azaltılması yönünde gerekli çabanın gösterilmesi uygun olacaktır.

Kıkırdak defektlerinde tedavi yöntemleri başlıca beş grupta sınıflandırılabilir:

1. Eklem yüzeyini yenileme ve kemik iliği stimülasyon teknikleri
2. Defektin doldurulması teknikleri
3. Hücre kökenli tedavi
4. Farmakolojik ajanlar
5. Diğer tedaviler

2.2.7.1. Eklem yüzeyini yenileme ve kemik iliği stimülasyon teknikleri

Bunlar debridman ve lavaj, mikrokirik, drilleme ve abrazyon artroplastisi uygulamalarıdır (2, 6, 41). Dizde bulunan küçük semptomatik eklem kıkırdağı lezyonlarının tedavisinde en sık uygulanan yöntemdir (1). Bu prosedürler diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında teknik olarak basit ve maliyeti düşüktür (1).

Eklemden hyalin kıkırdak restorasyonunun felsefesi; intramedüller mezenşimal multipotansiyel hücrelerin subkondral kemik plağı delip geçmesinin uyarılması veya artmış kan akımı yoluyla defektif bölgeye yeni progenitör hücrelerin göçünün provake edilmesi ile

matriks oluşumu ve kondrosit stimulasyonudur (1, 3). Ancak bu yöntemle hasarlı bölgede oluşan doku orijinal hyalin kıkırdakla aynı özelliklere sahip olmayan fibröz kıkırdaktır (5).

Debritman ve lavaj

Artroskopik debritman ile eklem traşlanması, sinoviektomi, eklem sıyrıklarının temizlenmesi, menisküs yırtıklarının temizlenmesi, eklem içi serbest cisimlerin ve osteofitlerin çıkarılması, ekleme sıkışan fibrilasyonların ve serbest fleblerin eksizyonu yapılabilmektedir (34, 41, 58). Artroskopik debritman ve lavajın amacı eklem içindeki enflamasyonu ve mekanik irritasyonu azaltmaktadır (41). Operasyon sonrası hastanın ağrısında azalma ve eklem fonksiyonlarında artma olur.

Abrazyon artroplastisi

Abrazyon artroplastisi, kemik iliği uyarmı tekniğinin ilk tanımlamasıdır. Topuz uçlu bir burr ya da shaver yardımıyla gerçekleştirilebilir. Kemik kanayana kadar, yani 2-3 mm derinliğe kadar subkondral kemiğin sklerotik kısmı traşlanır. Fakat günümüzde kullanımı azalmıştır (73).

Mikrokırık

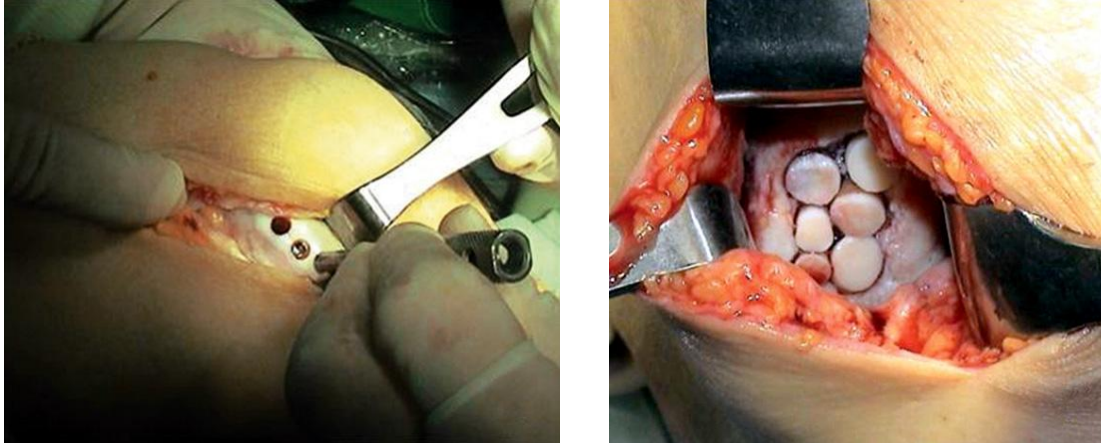
Bu teknikte amaç kemik iliği mezenşimal hücre migrasyonunu, diferansiasyonunu ve proliferasyonunu uyarmaktır. Defekti kaplayan fibrin pıhtı iyileştirici mezenşimal hücreleri, growth faktörleri ve sitokinleri içerir. 2 cm altındaki osteokondral defektlerin primer tedavisinde uygulanır (34, 65).

2.2.7.2. Defektin doldurulması teknikleri

Osteokondral defektleri doldurmak için otojen osteokondral transplantasyon, perikondrium, periosteum, tendon ve otojen kansellöz greftler uygun materyaller olarak görülmektedir (2, 5, 6, 34, 41). Osteokondral defekt tedavisinin alternatif yolu defekt boyutuna uygun biomateriyallerle yapılan eklem yüzeyi onarımıdır. Biyomateriyal olarak; kalsiyum tuzları, fosfat, hidroksiapatit, cam, seramik, karbon fiber ve polimerlerin yanında doğal kaynaklı kemik orjinli maddelerden; hayvan kemiği, sedef, mercan, odun gibi maddeler de kullanılabilir (1, 34).

Otolog osteokondral transplantasyon

OATS (osteoartiküler transfer sistemi) ya da mozaikplasti olarak da bilinen bu metod osteokondral defektlerin tedavisinde oldukça efektifdir (1). Yük binmeyen artiküler yüzden osteokondral silindirik tıkaç alınıp, defekt alanına aralarında 1-2 mm köprü kalacak şekilde yerleştirilerek artiküler yüzey yeniden oluşturulur (Şekil 14) (66). Femur eklem yüzündeki lokal osteokondral veya kondral kayıpların tedavisinde, yük taşımayan eklem yüzünden alınan osteokondral greftlerin hasarlı bölgeye transferidir. Aktarılan dokunun orijinal eklem kıkırdığı olması nedeniyle ümit verici bir girişim olduğu bildirilmiştir. Bu greftin kemik bölümü iyileşmektedir. Silindirik greftler arasındaki boşlukların kıkırdak doku ile her zaman dolmaması, yerleştirilen greftlerde seviye farkı gibi birtakım sorunları olduğu vurgulanmaktadır (67, 68).

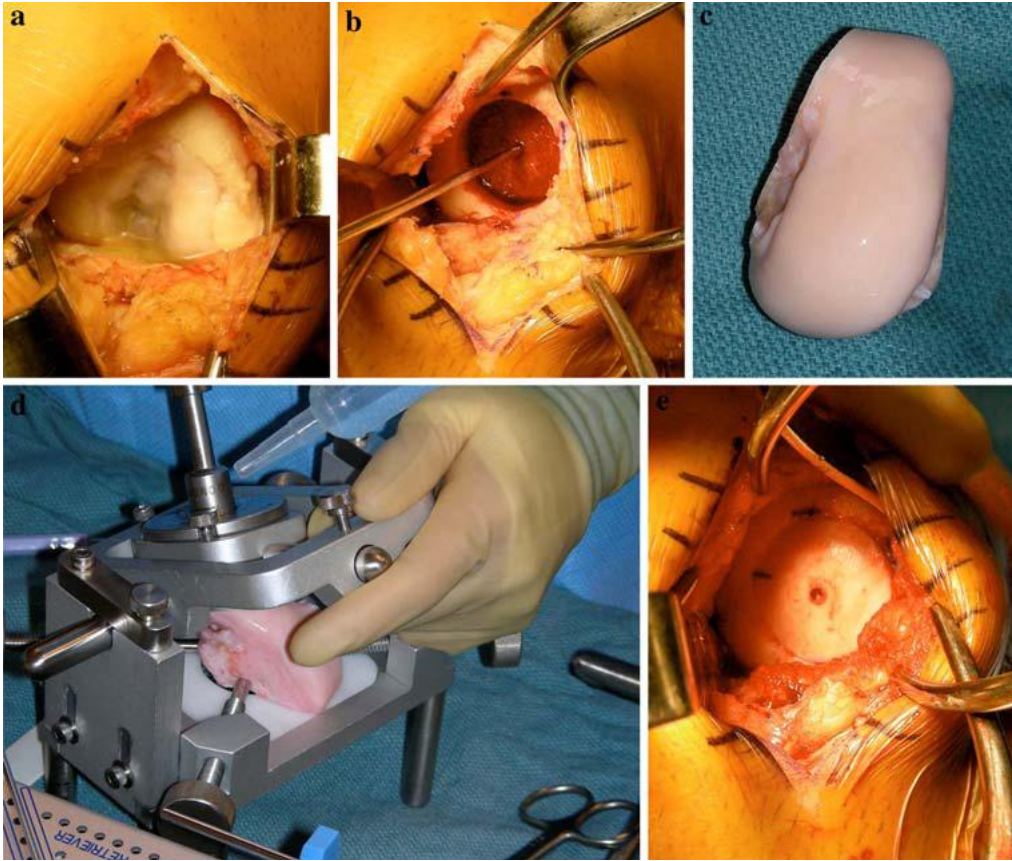


Şekil 14. Mozaikplasti için greft alınan donör bölge ve mozaikplasti uygulanan osteokondral defekt bölgesi (66).

Diğer kıkırdak nakillerine göre avantajları; ucuz ve etkin olması, yaşayan hyalin kıkırdak nakledilmesi, tek seansta yapılabilmesi ve nispeten daha kısa rehabilitasyon süresidir (1,58). Tekniğin dezavantajları ise; teknik zorluk, özel ekipman gerekliliği, sınırlı donör greft alanı, subkondral kist oluşumu ve donör bölge morbiditeleridir (1, 58). Teknik %85-95 başarı sonuçları ile 1-4 cm² lik kondral defektlerde uygulanabilmektedir (34).

Osteokondral allogreft transplantasyonu

Kadavradan artiküler kıkıdağın subkondral kemiğiyle birlikte alınarak osteokondral defektli bölgeye uygulanmasıdır (Şekil 15) (69). Grefti alırken derinlik, büyüklük ve alınma yeri uyum için önemlidir (1). Avantajları; büyük defektlerde hatta hemikondil defektlerinde kullanılabilmesi, tek seansta uygulanabilmesi, donör bölge morbiditesi olmaması ve orjinaline benzer mimaride onarım elde edilmesidir. Tek parça greft olduğundan otolog osteokondral greftlerdeki gibi silindirik tıkaçlar arasında ölü boşluk olmaz. Dezavantajları; yüksek maliyet, immünolojik reddedilme riski, hastalık bulaşma riski, tam olmayan greft kaynaması ihtimali, allogreftin büyüklüğünün ayarlanmasındaki teknik zorluk olarak sayılabilir (1).

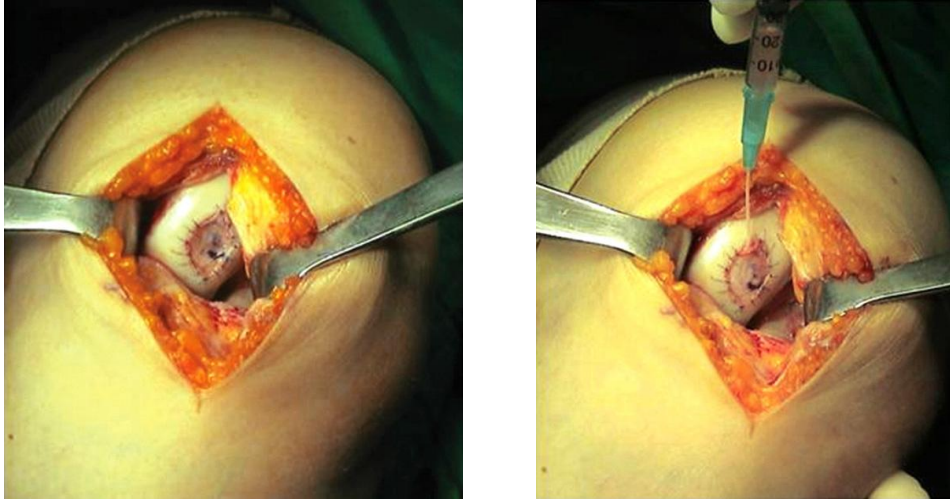


Şekil 15. Osteokondral allogreft ve osteokondral allogreft uygulanmış dizin cerrahi görüntüsü (69).

2.2.7.3. Hücre kökenli tedavi

Otolog kondrosit implantasyonu

İlk olarak 1994 yılında açıklanan otolog kondrosit implantasyonu, tam kat kıkırdak defektlerini, kıkırdak hücreleri ile restore etmek için uygulanan yenilikçi bir tekniktir (1). Doku kültüründe kondrosit üretme 1980'li yıllarda yapılmış olup ortopedik cerrahide ilk doku mühendisliği uygulamasıdır (34). Hücre kökenli onarım tekniklerinde yeni hücre ve bunu çevreleyen matriks dokusu oluşumu sağlanır. İki aşamalı cerrahi prosedürdür. İlk aşamada hastanın kendisinden artroskopik biyopsi ile eklemin yük binmeyen bir bölgesinden kıkırdak örneği alınarak matriksten arındırıldıktan sonra, doku kültürüne in vitro ekilir ve kondrositler üretilir. İkinci aşamada 2-3 hafta sonra bu kondrositler hastanın defektine uygulanarak üzeri hastanın kendisinden (proksimal tibia) alınan periostal yama ile kapatılıp suture edilir, ya da periost suture edildikten sonra defekte enjekte edilir (Şekil 16) (66). Multipl ya da 3,5-10 cm arası lezyonlar için otolog kondrosit implantasyonu etkili bir tedavi edici işlemdir (41). Otolog kondrosit implantasyonu 2 cm²'den büyük, ICRS evre III ve IV lezyonları olan, 15-55 yaş arası, postoperatif rehabilitasyon programına uyacak yüksek beklentili hastalarda endikedir (58).



Şekil 16. Periostal flep ile kapatılmış defekt ve defekte enjekte edilen kondrosit süspansiyonunun görüntüsü (66).

Avantajları; defektte fibrokartilajdan ziyade hyalin benzeri kıkırdak gelişimi, immünojenite ve hastalık bulaşma riskinin olmaması ve uzun dönemde kıkırdak iyileşmesi

için daha iyi sonuçlar beklenmesidir (1, 34). Dezavantajları ise; iki seansta uygulanması, uzun iyileşme süresi ve teknik zorluğudur (1, 41). Ayrıca donör bölge morbiditesi ve periost grefti ile ilgili komplikasyonlar görülebilir (1).

Hücre kökenli ve destek doku tedavisi

Kıkırdak lezyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılan birinci kuşak otolog kondrosit implantasyonunun önemli dezavantajlarından biri olan, uygulama sonrasında yük verme sonucunda çözelti içinde yerleştirilen kondrositlerin lezyondan kaçışını önlemek, ikinci bir cerrahi ve artrotomi gerekliliği, eklem sertliği, artrofibrozis, periosteal hipertrofi , donör saha morbiditesi gibi sorunları ortadan kaldırmak için ikinci, üçüncü ve hatta dördüncü kuşak teknikler geliştirilmiştir (58).

Gelişmiş ikinci kuşak tekniklerde, doku mühendisliği teknikleri kullanılarak matriks veya scaffold üretimi ve hücre kaynağı olarak kondrositler veya kondrositlere alternatif olarak mezenşimal kök hücrelerin kullanımını ortaya konulmakta, implantasyon öncesi kültür sürecinde hücreleri desteklemek ve implantasyon sonrası iyileşme süresince hücrelerin lezyondan kaçışını önlemek amaçlı olarak hücreler, scaffold içerisine yerleştirilmektedir (58).

Doku mühendisliği çerçevesinde geliştirilmiş bu ağların üretimi için kollajen (tip I, III), hyaluronik asit ya da glikoz polimerler kullanılabilir (38, 39). Bu polimer ağlar temel olarak hücrelerin yapışması ve çoğalması için uygun olmalı, kendileri ve metabolitleri toksik olmamalı, hücreler ve hücreler arasındaki iletişim için en az %90'lık geçirgenlik içermeli, kondrojeniz ve diffüzyon için yeterli derecede biyouyarıcı olmalı ve kontrol edilebilir çözülme hızında olmalıdır. Halen kullanılan en yaygın olan yöntemlerden biri matriks destekli otolog kondrosit implantasyonudur (70).

Bu yapay matriksler kollajen, fibrin, hiyaluronan, karbon lif, hidroksiapatit, poröz polilaktik asit, poliglikolik asit, politetrafloroetilen, polyester ve aljinatlar gibi dokulardan oluşur.

Üçüncü kuşak teknikler, kondroindüktif (kıkırdak farklılaşmasını ve oluşumunu uyarıcı) veya kondrokondüktif (kıkırdağın ve destek dokuların büyümesi için bir iskele oluşumu sağlayan) matrikslerin, allojenik veya fetal kök hücrelerin tek aşamada kullanımını içeren yöntemleri içermektedirler (34, 58). Dördüncü kuşak kıkırdak tamir teknikleri ise,

farklı dokulardan elde edilen kök hücrelerin kullanımı, doku mühendisliği ve gen tedavisi yöntemlerini içerir (58).

Kıkırdak doku mühendisliği

Son yıllarda tıpta giderek artan şekilde uygulama alanları bulan doku mühendisliği; biyolojik, kimyasal ve mühendislik prensipleri uygulanarak, biyomateryaller, hücreler ve biyolojik faktörler kullanılmasıyla yaşayan dokuların tamiri, restorasyonu ve yeniden oluşturulması olarak tanımlanabilir. 4 farklı şekilde kullanımı mevcuttur. Bunlar Otolog kondrosit implantasyonunda olduğu gibi kondrositlerin in-vitro kültür sonrasında transplantasyonu, defektif yere biyolojik faktörlerin yerleştirilmesi, nanoteknoloji kullanılarak yeni kıkırdak dokunun büyümesini stimüle eden üç boyutlu poröz skafoldların kullanımı ve son olarak skafold, hücreler ve büyüme faktörlerinin kombine kullanımıdır (58).

Kondral ve osteokondral kayıplarda, konak dokunun kendini yenileme kapasitesinin sınırlı olması, araştırmacıları hücreleri defektif bölgeye transplante etme yollarını aramaya itmiştir. Kıkırdak doku mühendisliği bu sorunu çözmek için ortaya çıkmış biyoteknolojik bir alandır. Elde edilen yapay kıkırdak normal eklem kıkırdağıyla aynı biyomekanik özelliklere sahip olmalıdır. Ancak bu şekilde eklem yüksek streslere maruz kaldığı ortamda normal fonksiyonunu sürdürebilir (71).

Kıkırdak doku mühendisliği ile tedavi edilebilecek klinik sorunlar şunlardır:

- 1- Osteokondritis dissekans
- 2- Osteokondral defektler
- 3- Kondral defektler
- 4- Osteonekroz
- 5- Dejeneratif eklem hastalığı (osteoartrit)

Bu tekniklerin etkinliklerinin gösterilmesi için randomize, kontrollü çalışmalar yapılması ve maliyetlerinin azaltılması yönünde gerekli çabanın gösterilmesi uygun olacaktır (71).

2.2.7.4. Farmakolojik ajanlar

Parasetamol

Yaygın kullanımda ilk tercih edilen oral analjeziktir ve fayda görülürse uzun dönem kullanılabilir. Yan etki güvenliği ve maliyet açısından non-steroidal antiinflatuar (NSAİ) ilaçlara tercih edilirler. Toplam günlük doz 4 g'ı geçmeden düzenli aralıklarla bölünmüş dozlarda kullanılır (72).

Nonsteroid antiinflatuar (NSAİ) ilaçlar

Parasetamol ile yeterli ağrı kesici etki alınamayan hastalarda kullanılır. Nonselektif siklooksijenaz (COX) inhibitörlerine benzer analjezik etki ve düşük gastrointestinal yan etki nedeniyle klinisyenler artık selektif COX-2 inhibitörlerini tercih etmektedir (72). Ancak selektif COX-2 inhibitörlerinin nonselektiflere göre yüksek maliyeti ve potansiyel kardiyovasküler riskindeki belirsizlik nedeniyle kullanımı çok yaygınlaşmamıştır. NSAİ ilaçlar oral, parenteral veya topikal kullanılabilirler. NSAİ ilaçlar akut böbrek fonksiyonlarında bozulma, sıvı retansiyonu ve hipertansiyona neden olabilirler (72).

Hyalüronik asit

Kıkırdakta proteoglikan makromoleküllerinin yapısında ve sinovyal sıvıda bulunan hyalüronan viskoelastisite için önemlidir. Enjekte edilebilen hyalüronik asit gibi viscosuplementer ajanlar eklem kayganlığını artırarak fonksiyon görebilirler. Hyalüronik asit hasarlı eklem kıkırdağına geçer ve kıkırdağa bağlanır, eklem kıkırdağına potansiyel koruyucu destek sağlar. Kondral hasar sonrasında uygulandığında kıkırdak hücrelerini uyararak defektli alana lokalize olmalarını sağlar (3).

Glikozamin ve Kondroitin

Glikozamin sülfat ve kondroitin sülfat eklem kıkırdağında bulunan glikozaminoglikan türevleridir, ve eczanelerde ve marketlerde reçetesiz satılabilmektedir (72). Özellikle osteoartritin erken ve orta dönem tedavisinde olmak üzere kıkırdak yaralanmalarında kullanılmaktadır. Kesin olmamakla beraber çok az analjezik etkileri olup kullanıldığında NSAİİ gereksinimini azaltırlar (72).

Metilsülfonilmetan (MSM) ve Dimetil Sülfoksit

Her iki molekül de etkisini hücre membranının stabilizasyonunu artırarak ve medyatör salınımını azaltarak gösterir. Özellikle MSM bir dönem popüler olmakla birlikte, klinik beklentiler istenilen düzeyde olmadığı ve etkinliği konusunda çelişkiler olduğu için çok rağbet görmemektedir.

2.2.7.5. Diğer tedavi yöntemleri

Büyüme faktörleri ve gen tedavisi

Eklem kıkırdağının yeniden oluşumunu arttırmak için, terapötik proteinleri kodlayan genler sinovyal dokuya, kondrositlere, mezenşimal kök hücelere veya doğrudan kıkırdak lezyonuna, vektör ile veya intraartiküler olarak yerleştirilebilir. BMP-2, BMP-7, IGF-1, TGF- β , FGF, PDGF gibi kondrogenetik faktörlerin hepsi, tamir dokusundaki kıkırdak hücre proliferasyonunu, dayanıklılığını, hücre dışı matriks yapımını arttırmalar ve fibröz kıkırdaktan hiyalin kıkırdağa dönüşümü arttırarak defektin daha kaliteli bir dokuyla doldurulmasını sağlarlar (1, 58). Bu büyüme faktörleri kemik iliği mezenşimal kök hücrelerinin proliferasyon, migrasyon ve diferansiasyonunu stimüle ederler (1, 3). Trombositlerin büyüme faktörlerinden zengin olduğu, in-vitro kondrosit proliferasyonunu ve farklılaşmasını arttırdığı ve kıkırdak lezyonlarının tamirinde önemli rolü olduğu kanıtlanmıştır (58). Bu sürecin sonunda bu genler, kondrogenetik büyüme faktörlerinin sentezini, sinoviyal enflamasyonun durdurulmasını ve kıkırdak yıkımının inhibisyonunu sağlamış olmaktadır (58). Atlarda kondral defektlerde fibrin pıhtı içine konan IGF-I kıkırdak iyileşmesinde kalitatif ve kantitatif artış ortaya çıkarmıştır ve postoperatif inflamasyonu azaltmıştır (1). Son in-vitro çalışmalar PGE2'nin kondrogeneziste anabolik etkisini iddia etmektedir (3).

PRP (plateletten zengin plazma)

Bu otolog kan ürünü, içerdiği yüksek konsantrasyondaki platelet ve PDGF gibi mitojenler ile kıkırdak iyileşmesini artırabilir (1). PRP'nin yumuşak doku iyileşmesini ve kemik rejenerasyonunu hızlandırıp, geliştirdiği ve profesyonel sporcularda aşıl tendon rüptürü ve ACL greftinde cerrahi sonrası remodellingi artırdığı gösterilmiştir. PRP mezenşimal kök hücrelerin proliferasyonu ve kondrosit diferansiasyonunu da artırır (1). PRP doku iyileşmesinin ilk basamaklarının biyolojik ortamını yeniden oluşturarak doku iyileşmesini hızlandırır. Pıhtıyı üreten, çok sayıda sitokin, adheziv proteinler ve growth

faktörler sentezleyen plateletlerin üstün aktivasyondaki agregatıdır. Sentezlediği growth faktörler; PDGF, TGF-B, VEGF, FGF, IGF-1, EGF'dür. Bunlar lokal hücrelerden spesifik yanıtlar almakta rol oynar. Büyüme faktörleri hücre proliferasyonunu, migrasyonunu, diferansiasyonunu ve matriks sentezini uyarır, kıkırdak metabolizması ve kondrojenезisi etkiler ve kıkırdak iyileşmesini artırır (1).

Osteotomi

Dizilim bozukluğu sorunu olan ekstremitelerde belli bir bölgede kıkırdağa yoğun yüklenme olması tüm ekleme zarar verebildiği için metafizyel osteotomi cerrahisi uygulanır (34). En sık varus dizlerde tek kompartman artrozu varken yüksek tibial osteotomi uygulaması yapılmaktadır. Aynı seansta artroskopik debridman, mikrokırık veya drileme ile kombine edilerek daha iyi sonuçlar elde etmek mümkündür (34).

Artroplasti

Sedanter yaşam tarzı olan 60 yaşından büyük hastalarda son dönem osteoartrit tedavisinde eklem yüzeyi replasmanı sıklıkla uygulanmaktadır (34).

2.3. Mikrokırık Yöntemi

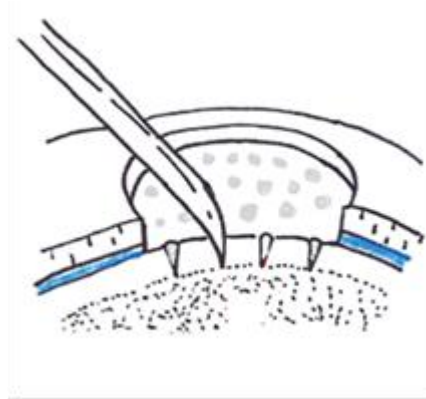
Sıklıkla kullanılan yöntemlerden biridir. Etrafı tamamen normal artiküler kıkırdak ile kaplı tam kat bir defekte, subkondral tabaka delinerek kemik iliği stimülasyonuna dayanan bir tekniktir (73). Kolay uygulanabilmesi, ucuz olması, ek hazırlık gerektirmemesi ve diğer girişimlerin ileri uygulamalarını engellememesi nedeniyle kısa zamanda geniş kullanım alanı bulmuştur (73). Mikrokırık yöntemi 1997 yılında Steadman ve ark. (74) tarafından tanımlanmıştır. Temel de delme yöntemi ile aynı olmakla birlikte ısı üretmediğinden çevredeki hücrelere zarar vermez (34). Mikrokırık başarısız olsa dahi daha ileri tedavileri engellemez, yani mikrokırık geri dönüşümsüz değildir (75).

2.3.1. Mikrokırık uygulaması

Mikrokırık artroskopik olarak gerçekleştirilir. Steadman'ın (74) tanımladığı orijinal teknikte üç portal kullanılmakla birlikte iki portalden de rahatlıkla gerçekleştirilebilmektedir.

Artroskopi portalleri defektin yerleşimine göre belirlenmelidir. Femoral kondillerin orta kısımları için standart anteromedial ve anterolateral portaller uygun olurken, posterior defektler için daha inferior portaller, patellofemoral defektler için ise superolateral portal önerilmektedir (73). Patellanın defektlerinde artroskopik olarak işlemi gerçekleştirmek güç olabilir. Bu durumlarda mini-artrotomi yardımcı olabilir (76).

Defektin kenarlarından başlayarak, sağlam kıkırdağa yakın bölgede kıkırdağın hemen yanına mikrokırık bizi ile subkondral kemiğe dik olacak şekilde delikler açılır. Mikrokırık bizin konik şekilde olması sayesinde girilen derinlik kontrol edilebilmekte ve cihazı delikten çıkartmak kolay olabilmektedir (76). Mikrokırık bizi, defekte dik olarak uygulanmalıdır. Bunu sağlamak amacıyla 30, 45 ve 90 derece eğimli bizler vardır (76). 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 aralıklarda ve 3-4 mm derinlikte açılır ve aralarındaki duvarın kırılarak birleşmesinden kaçınılır (Şekil 17) (66).



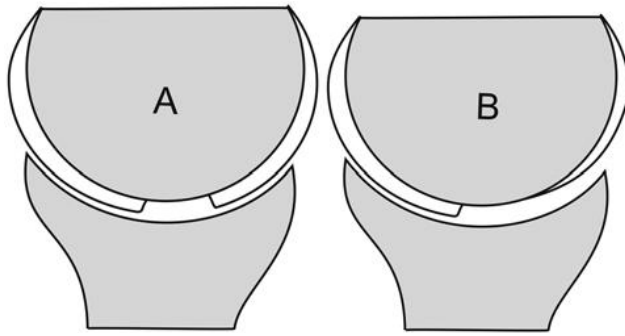
Şekil 17. Mikrokırık uygulamasının artroskopik ve şematik görüntüsü (66).

Deliklerin birleşmesi subkondral kemik plağının biyomekanik desteğini bozabilir. Yetersiz delik yoğunluğu, oluşacak olan kıkırdağın kalitesini ve defekti doldurma miktarını etkiler. Açılan deliklerden yağ damlacıklarının çıktığı gözlemlendiğinde yani 3-4 mm inildiğinde yeterli derinliğe ulaşılmış demektir. Turnikesiz girişim yapılmasının, işlem tamamlandıktan sonra sıvı basıncını azaltılarak deliklerden yağ damlacıkları ve kan sızdığını görüntüleme avantajı olabilir (74). Ya da işlem sonunda turnike indirilir ve her delikten kan sızdığı doğrulanır. Eklemden çıkmadan önce defekt alanının eklem karşı tarafıyla temas ettiği

hareket aralığı kaydedilir. Bu bilginin rehabilitasyon sırasında faydası olacaktır. Mikrokırık sonrası dren kullanılmaması önerilmektedir (76).

2.3.2. Mikrokırık uygulanacak alan nasıl olmalı

Kıkırdak yaralanması olan bölge üzerinde kalan kıkırdak, iyileşme dokusunun oluşumunu engelleyici özelliğe sahiptir. Bu nedenle her türlü onarım girişiminden önce debride edilmesi gereklidir. Mikrokırık yöntemi ile kıkırdak elde edebilmek için tedavi uygulanan alanın yüklenmeden korunması gereklidir (73). Erken dönemde oluşan fibrin pıhtı mekanik olarak dayanıklı bir doku değildir. Yüklenme ile hızla bozunur. Fibrin pıhtının oluşabilmesi için de tutunabileceği sağlam kıkırdak kenarlara ihtiyacı vardır. Fibrin pıhtı oluşamaz ya da tutunamazsa kemik iliğinden göç ederek iyileşme sağlayacak kök hücrelerin yerleşebileceği bir ortam olmaz (77). 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 (Şekil 18) (73).



Şekil 18. (a) Sağlam kıkırdak ile çevrili defekt, (b) sağlam kıkırdak ile çevrili olmayan defekt (73).

Kalsifiye kıkırdak tabakasının kaldırılması, oluşan yeni kıkırdağın subkondral kemiğe daha iyi tutunmasını sağlar (73). Buna karşın kalsifiye kıkırdak tabakasının korunmasının, hyalin kıkırdağa daha yakın kıkırdak oluşmasını sağladığı savunulmuştur. Defektin debridmanı motorize shaver ile yapılabilir. Kalsifiye kıkırdağın kaldırılması için küret kullanılması, dokunma hissinden yararlanarak subkondral kemiğin bütünlüğünün korunması

açısından akıllıca olacaktır (73). Subkondral kemiğin aşırı tıraşlanması kemik hipertrofisi ile sonuçlanabilmektedir. Olguların %25-49'unda rastlanan bu fenomen, oluşan yeni kıkırdığın beklenenden ince olmasına neden olmaktadır (76).

2.3.3. Mikrokırığın biyolojik rolü

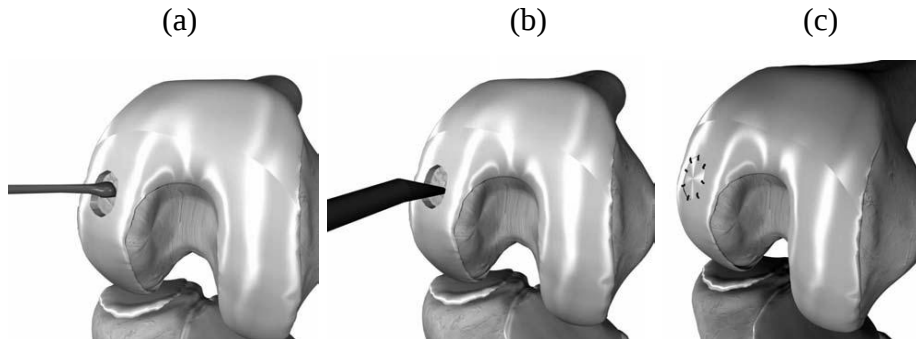
Bu teknikte amaç kemik iliği mezenşimal hücre migrasyonunu, diferansiasyonunu ve proliferasyonunu uyarmaktır. Defekti kaplayan fibrin pıhtı iyileştirici mezenşimal hücreleri, büyüme faktörlerini ve sitokinleri içerir. Mikrokırık sonrası oluşan kıkırdak fibröz yapıda bir kıkırdaktır ve dayanıklılığı tartışmalıdır (34). 2 cm altındaki osteokondral defektlerin primer tedavisinde uygulanır. Küçük lezyonlarda etkili olmasına rağmen geniş yüzeyli defeklerde etkinliği zayıftır. Diz eklemi dışında talusta, omuzda ve hatta asetabulumda başarılı mikrokırık girişimleri bildirilmiştir (73).

2.3.4. Mikrokırık ve periost grefti

Defekt çevresi tam dik olmayan ya da tam kapsanmayan olgularda bir matriks kullanmanın fibrin pıhtının tutunmasına yardımcı olacağı savunulmuştur (78). Bu nedenle bir grup yazar mikrokırık sonrası defekt üzerine periost grefti kapatmışlardır. Mikrokırık üzeri periost grefti kapatma yöntemi ile sadece periost grefti kapama yöntemi ile karşılaştırıldığında; mikrokırıkla birlikte yapılan girişimlerde daha kalın kıkırdak elde edildiği görülmüştür (79). Periost ile kapatma defekt sahasında iyileşme dokusunu korur. Bunun yanında periost bir hücre kaynağıdır. Periostun kendi bünyesinde de mezenkimal kök hücreler vardır. Defektin tavanındaki periost hücrelerin ve büyüme faktörlerinin tutunacağı bir çatı da oluşturur (45). Periostun değiştirici büyüme faktörü beta (Transforming growth factor beta; TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü 1 (Insulin like growth factor 1; IGF 1), büyüme farklılaşma faktörü 5, kemik morfojenik protein (Bone morphogenic protein 2; BMP2) ve integrinler gibi kondrojenez sırasında rolü olan büyüme faktörleri sentezlediği de bilinmektedir (45).

Mikrokırık ve periost grefti yapmak için medial artrotomi yoluyla ekleme girilir (80). Defekt debride edilerek mikrokırık yapılır. Defekt üzerine steril eldiven kağıdı ya da

aluminyum folyo yerleştirilerek debridman sonrası şekli alınır. Kenarlar kesilerek bir şablon çıkarılır. Periost grefti defektten 1-2 mm daha büyük olmalıdır. Graft, tibia proksimal anteromedialinden, pes anserinus önünden alınabilir. Şablon periost üzerine yerleştirilir, çevresinden bistüri ile kesilir ve periost elevatör ile kaldırılır (80). Periostun kambium tabakası defekte bakacak şekilde kıkırdağın üzerine kapatılır. Her 2-3 mm'ye bir dikiş gelecek şekilde 4/0 - 6/0 emilebilen dikiş ile sağlam kıkırdağa dikilir (80). Dikiş kenarları fibrin yapıştırıcı ile yapıştırılır. Periost greftinin etrafı fibrin yapıştırıcı ile yapıştırılmasa da benzer sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (80). Mikrokirik işlemi ile birlikte periost grefti uygulaması şekil 19'da gösterilmiştir (73).



Şekil 19. Mikrokirik ve periost uygulama tekniği. (a) Defektin debridmanı, (b) mikrokirik işlemi, (c) periost ile kapatma (73).

2.3.5. Mikrokirik ve matriks

Mikrokirik sonrası periost ile kapatma yanında farklı matriksler ile de aynı yöntem denenmiştir. Matriksler kök hücrelerin defekt içerisinde tutulmalarını sağlayarak eklem içine kayıplarını önlemektedir. Matriks uygulaması ile sonuçların daha iyi olduğu görülmüştür (78). Ayrıca bu yöntem otolog kondrosit implantasyonu (Autologous chondrocyte implantation; ACI) ya da matriks rehberli otolog kondrosit implantasyonunun (Matrix-induced autologous chondrocyte implant; MACI) aksine tek seansta ve artroskopik olarak uygulanabilmektedir. Bu yöntem sayesinde 2 cm²'den büyük defektlere de mikrokirik uygulanabilmektedir (78). Matriks ile kapatma ayrıca iyileşme dokusunun hipertrofisini de engellemektedir (78). Bu avantajları nedeniyle matriks ile kapatma, MACI girişimlerine seçenek olarak dahi önerilmektedir (78). Ancak bir başka çalışmada kondrosit ekilmemiş

kollajen matriksin mikrokırık üzerine kapatılmasının ek bir avantaj sağlamadığı deneysel olarak gösterilmiştir (81).

2.3.6. Mikrokırık endikasyonları

Mikrokırık yöntemi tanımlandığında, endikasyon olarak, evre IV odaksal ve dejeneratif kıkırdak yaralanmaları belirlenmiştir (77). Son yıllarda bu endikasyonlar odaksal ve sağlam kıkırdak ile çevrelenmiş yaralanmalar olarak değişim göstermiştir. Kemik iliği uyarım yöntemlerinin endikasyonları aktif hastalarda femoral kondillerin, troklea ya da patellanın, semptomatik, odaksal, yüksek evre kondral yaralanmaları ve tesadüfen rastlanan kıkırdak defektleri olarak özetlenebilir (76). Kıkırdak defektinin nedeni dejeneratif eklem hastalığı olsa dahi başarılı olması için defektin odaksal tarzda olması ön şarttır (77). Lezyon çapı için uygulanabilecek üst sınır, 4 cm² olarak belirlenmiştir (76). Buna rağmen birçok yazar 2 cm²'nin altındaki lezyonlara uygun bir tedavi yöntemi olduğunu düşünmektedir (78). Varus dizilim bozukluğu olan dizlerde tedavi uygulanan bölgeye yüklenme fazla olmaktadır. Kıkırdak oluşumunun gerçekleşebilmesi için aşırı yüklenmenin giderilmesi gerekir. Bu nedenle medialden açık kama tipi yüksek tibial osteotomi yapılması, başarı şansını artırır (82).

2.3.7. Mikrokırık kontrendikasyonları

- Yaygın dejeneratif eklem değişiklikleri
- Ameliyat sonrası rehabilitasyon programına uyum sağlayamayacak hasta
- Kapsanmamış, çevrelenmemiş defektler
- Kısmi kalınlık kıkırdak lezyonları
- Subkondral kemik kaybı
- Femoral kondil defekleri için 5 dereceden fazla aksiyel dizilim bozukluğu
- Patellofemoral lezyonlar için patellar instabilite ya da dizilim bozukluğu
- İleri düzey bağ instabilitesi
- Tümör
- Enfeksiyon
- Enflamatuvar artropati

- Sistemik kıkırdak hastalıkları (76, 77).

Göreceli kontrendikasyonlar (73, 76);

- 12 aydan uzun süredir var olan semptomlar
- Vücut kütle indeksi >30
- Menisküs eksikliği
- Orta derece dejeneratif eklem hastalığı
- 4 cm²'den büyük defekt
- Yaşın atmışın üstünde olması
- Eklemde karşılıklı kıkırdak lezyonları

2.3.8. Mikrokırık'ın avantajları

Prosedürün basit olması, düşük fiyatı, tek seansta yapılabilmesi ve hasta morbiditesi için düşük riskli olması avantajlarıdır (34, 41, 65). Ayrıca daha kompleks işlemlerin daha sonra yapılmasına engel oluşturmaz (41,65). Drillemeye göre avantajı ısı artışına yol açmadan veya subkondral kemikte yanma oluşturmada tamir dokusunun yapışmasına olanak sağlayan pürüzlü bir doku oluşturması ve yüzeye dik uygulamanın daha kolay olmasıdır (34). Mikrokırık en sık kullanılan ve en basit kondral defekt tamir yöntemi olmasına rağmen oluşan yeni kıkırdak hiyalin kıkırdak ile karşılaştırıldığında biyomekanik olarak daha kötü ve daha az dayanıklıdır (34, 58).

Mikrokırıktan sonra doku tamir kalitesini etkileyen 5 faktör vardır (41, 65);

1. Debridmanda kalsifiye kıkırdak tabakasının alınması
2. Penetrasyonlar arasında 1-2 mm kemik köprü bırakılması
3. Cerrahiden sonra erken devamlı pasif hareket
4. Korumalı yük verme

5. Mekanik akstaki herhangi bir belirgin anormalliğin mikrokırık işlemi ile birlikte düzeltilmesi

2.3.9. Mikrokırık sonrası rehabilitasyon

Ameliyattan sonraki dönemde ağrının kontrolü için soğuk tedavi önerilmektedir. Sürekli pasif hareket (Continuous passive motion; CPM) kıkırdak oluşumu ve mezenkimal kök hücrelerin kondrosite farklılaşmalarında pozitif etkiye sahiptir (76). İyileşme dokusundaki hyalin kıkırdak oranını artırdığı gibi kıkırdak oluşumunun daha hızlı ve daha fazla miktarda gerçekleşmesini sağlamaktadır (83). Ameliyat sonrası hemen CPM'e başlanır. Önce 30°-70° arası başlayarak tam hareket elde edene kadar hasta tolere ettikçe 10°-20° artırılır. Yirmi dört saatte en az altı-sekiz saat kullanım önerilmektedir. Yük vermeye ameliyattan altı-sekiz hafta sonra başlanabilir. Bazı yazarlar ise altıncı haftada iyileşme dokusunun henüz olgunlaşmadığı ve yaralanmaya açık olduğu, 12. haftaya kadar korumak gerektiğini bildirmişlerdir (65). Kuvvetlendirme egzersizlerine ilk sekiz hafta içerisinde sınırlı olarak başlanır. İkinci haftadan sonra bisiklet ve su egzersizleri uygulanabilir. Sekizinci haftadan sonra zorlu aktif hareketler verilir. Dirence karşı bisiklet egzersizi en önemli rehabilitasyon aracıdır. Onaltıncı haftadan sonra artan ağırlık egzersizlerine başlanır. Ameliyattan dört-altı ay sonra hasta spora dönebilmektedir (77). Patellofemoral defektlerde rehabilitasyon programı farklıdır. Sürekli pasif hareket yine hemen başlanır ancak 0°-20° fleksiyon arasında kilitli atel uygulanır ve en az sekiz hafta devam edilir. Yük vermeden mobilizasyon sadece bir-iki hafta kadar sürer ve sonrasında tam yük verilebilir (77).

2.4. Nano Kompozit Multilayer Biomimetik Skafold

Dördüncü kuşak kıkırdak tamir teknikleri farklı dokulardan elde edilen kök hücrelerin kullanımı, doku mühendisliği ve gen tedavisi yöntemlerini içerir (58). Son yıllarda tıpta giderek artan şekilde uygulama alanları bulan doku mühendisliği; biyolojik, kimyasal ve mühendislik prensipleri uygulanarak, biyomateryaller, hücreler ve biyolojik faktörler kullanılmasıyla yaşayan dokuların tamiri, restorasyonu ve yeniden oluşturulması olarak tanımlanabilir (58). Nano kompozit multilayer biomimetik skafold da bir doku mühendisliği ürünüdür.

Kondral ve osteokondral kayıplarda, konak dokunun kendini yenileme kapasitesinin sınırlı olması, araştırmacıları yeni yollar aramaya itmiştir. Kıkırdak doku mühendisliği bu sorunu çözmek için ortaya çıkmış biyoteknolojik bir alandır. Elde edilen yapay kıkırdak

normal eklem kıkırdığıyla aynı biyomekanik özelliklere sahip olmalıdır. Ancak bu şekilde eklem yüksek streslere maruz kaldığı ortamda normal fonksiyonunu sürdürebilir (71).

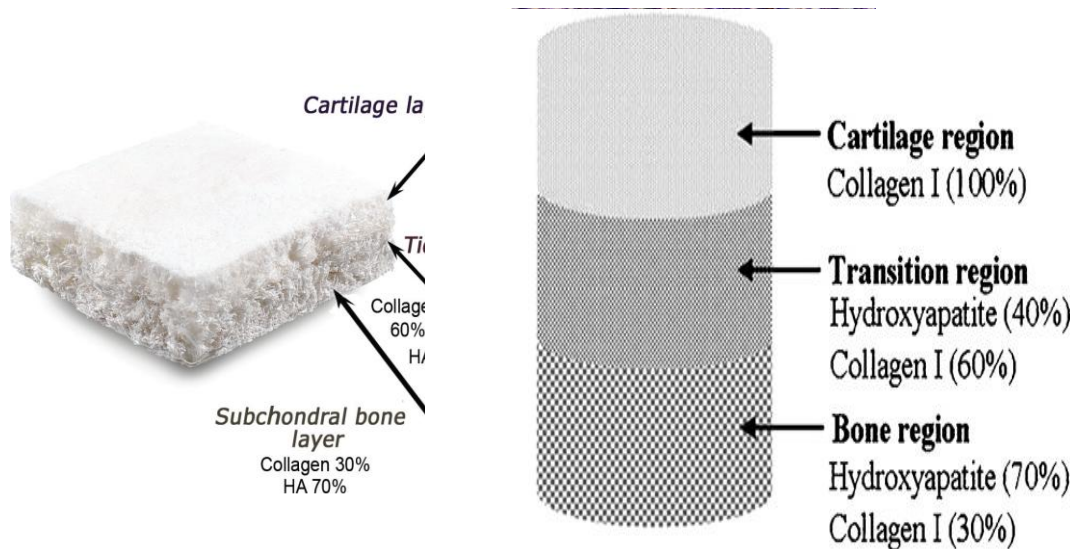
Biomimetik skafold osteokondral lezyonlarda kullanılan eklem yüzeyini yenileyici, kıkırdak ve kemik yapıyı taklit edebilen bir materyaldir (8, 10). Eklem yüzeyindeki lezyonlar sıklıkla görülen yaygın bir klinik sorundur. Eğer tedavi edilmezlerse lezyonlar kronikleşir. Kıkırdak yaralanması subkondral kemiğe ilerlerse ağrı oluşmaya başlar. Sağlıklı ve fonksiyonel bir eklem restorasyonunda başarılı olmak için sorunun çekirdeğine inmek gerekir. Biomimetik skafold doğadan esinlenen ve nanoteknoloji ile şekillenen yeni bir tedavi yöntemidir. Bu nedenle doğal eklem fizyolojisini restore etmek için, kemik ve kıkırdak rejenerasyonunu sağlayan etkili bir yöntemdir.

2.4.1. Biomimetik skafold'un yapısı

Osteokondral nanoyapılı biomimetik iskele gözenekli üç boyutlu üç katmanlı bir yapıya sahiptir (Şekil 20). Kompozit yapı, tüm osteokondral anatomiye taklit eder. En üst tabaka olan kıkırdak tabakası, %100 tip I kollajenden oluşan, pürüzsüz bir yüzeye sahiptir. Orta tabaka tidemark tabakası %60 tip I kollajen ve %40 hidroksiapatit (HA) yapılı bir bileşimden oluşur. En altta bulunan mineralize katman subkondral kemik tabakayı taklit eder. %30 Tip I kollajen ve %70 HA karışımından oluşur (8, 10, 84-89).

Her bir katman asetik asit içindeki at tendonundan ayrıştırılmış sulu çözeltiden başlayan standart bir işlemle ayrı ayrı sentezlenir (84, 85). Mineral içermeyen üst kondral katman; pH'sı 5.5 olarak ayarlandıktan sonra, 200 ml distile su içinde bulunan tip 1 kollajeni (Opocrin S.p.A., Corlo di Formigine, Modena, İtalya) 200 gr asetik asit solüsyonunda eritmekle elde edilir. 0.1 M NaOH eklendikten sonra, elde edilen çözelti karıştırılarak ve damıtılmış suda durulanarak homojen hale getirilir. Elde edilen dokular daha sonra 42 ml 0.5 g/l 1,4-butanediol diglycidyl ether (BDDE) solüsyonuyla (Fluka, Sigma-Aldrich Group, Almanya) çapraz bağlanır ve 4 C° de 48 saat bekletilir. Orta ve alt katmanlar nano yapılı kemik benzeri nonstokiometrik hidroksiapatitin, tıpkı doğal biyolojik neoosifikasyon işleminde olduğu gibi, kendi kendine bir araya gelen kolajen dokuların çekirdeklenmesiyle elde edilir. Mineralize orta katmanın elde edilmesi iki reaktifin şu şekilde hazırlanmasıyla başlar; reaktif A 300 gr tip I kollajen asetik asit solüsyonunun, işlem sonucunda pH'sı 3

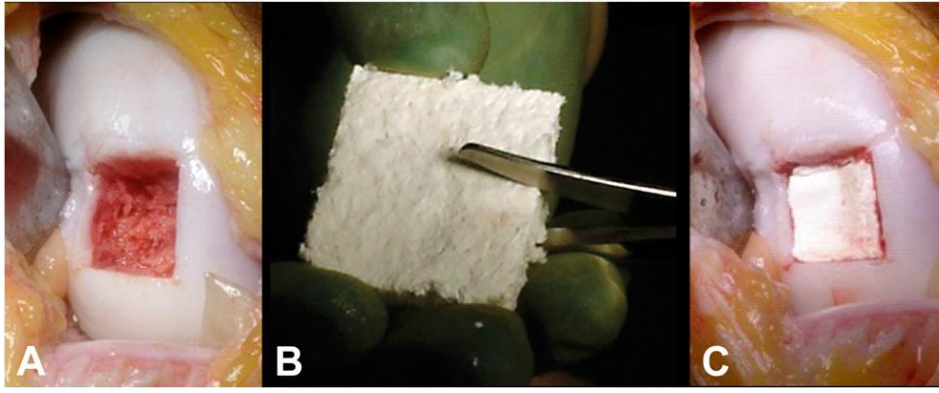
olması için, H_3PO_4 440 mM ile seyreltilerek hazırlanır, reaktif B 480 ml 42 mM $\text{Ca}(\text{OH})_2$ solüsyonunun 20 ml 48 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ solüsyonuyla ve 24 ml vücut sıvısı simülasyonu (SBF) ile karıştırılmasıyla hazırlanır. Nazıççe karıştırma işlemleri esnasında, A reaktifi B reaktifine, hidroksiapatit nanoparçacıkları ve kendi kendine birleşen kollajen dokular oluşana kadar ve işlem sonunda pH 6.0 olana kadar damıtılır. Elde edilen %60 tip 1 kollajen ve %40 hidroksiapatit çözeltisi 63 ml BDDE çapraz bağlayıcı solüsyonuyla çapraz bağlanmış ve damıtılmış suda durulanır ve 4 C° de 48 saat muhafaza edilir. Alt katman da iki ayrı reaktiften elde edilir. Reaktif C 200 gr. tip I kollajen asetik asit solüsyonunun pH 3.0 olana kadar 40 mM H_3PO_4 'e eklenmesiyle elde edilir. Reaktif D 1100 ml 42 mM $\text{Ca}(\text{OH})_2$ solüsyonuyla 50 ml 48 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ solüsyonunu ve 55 ml SBF'yi karıştırarak elde edilir. Karıştırma işlemi esnasında reaktif C, reaktif D'ye HA çözeltisi kendi kendine birleşen kollajen dokulara yoğunlaşana kadar ve pH 7 olana kadar damlatılır. Kompozit çözeltisi %70 HA, %30 tip 1 kollajenden oluşur. Tamamen distile suda durulandıktan sonra, kendi kendine birleşen kollajen HA dokuları 63 ml BDDE solüsyonuyla çapraz bağlanır ve 4 santigrat derecede 48 saat muhafaza edilir. Katmanların son hali Mylar kağıdı üzerinde fiziksel olarak birleştirilerek ve son olarak dondurularak kurutulması ve 25 kGy'de γ -sterilize edilmesiyle elde edilir (8, 10, 84-89).



Şekil 20. Biomimetik skafoldun yapısı (84, 85).

2.4.2. Biomimetik skafoldun uygulanması

Öncelikle defektin boyutu belirlendikten sonra, skafold uygulanacak yer hazırlanır. Küret veya osteotom yardımı ile subkondral kemik dokuyu da içine alacak şekilde 9 mm derinlikte yer açılır ve kemik iliğinden kan akışı sağlanır. Daha sonra lezyona göre şekil verilen biomimetik skafold hafif bir basınçla uygulanır (Şekil 21) (90). Turnike açılarak yüksek hidrofilik özelliği sayesinde şişerek, dikiş ya da diğer fiksasyon yöntemlerine ihtiyaç olmadan kendi stabilizasyonunu sağlamaktadır (90).



Şekil 21. Biomimetik skafoldun uygulanması (90).

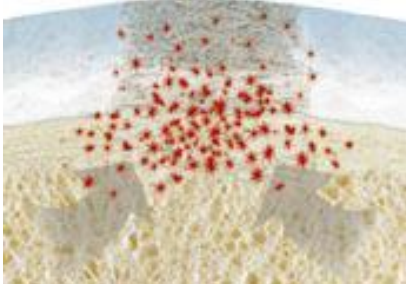
2.4.3. Biomimetik skafoldun biyolojik rolü

Bu skafold vücut tarafından kabul edilen, herhangi bir immün yanıt oluşturmeyen, biomimetik bir maddedir. Kendine özgü kimyasal bileşimi ve yapısı tam bir biomimetik iskele yapısı sağlar. Kimyasal biomimetizm kollajen makromolekülleri ve Mg-HA nano kristalleri kullanımı ile birlikte, biyolojik neoossifikasyon sürecine benzer mekanizması sayesinde oluşur. Yapısal biomimetizm kollajen liflerinin karakteristik oryantasyonu tarafından belirlenir (Şekil 22) (8, 10, 85, 86). Bu kollajen lifleri insan osteokondral dokusu içindeki gibi organize olmuştur (8, 10, 84, 85, 86).



Şekil 22. Mg-HA nano kristalleri ve kollajen liflerin EM görüntüsü (10, 91).

Biomimetik skafoldun poroz ve kimyasal yapısı sayesinde hücrelerin kemotaksisi meydana gelir (Şekil 23) (86). Kemik iliği progenitör hücreler kollajen liflere bağlanır ve skafoldun tamamında kolonize olur. Bu kolonize olan progenitör hücrelerin proliferasyon ve farklılaşması ile skafold eş zamanlı bozunarak kemik ve kıkırdak oluşması sağlanır (Şekil 24) (86).



Şekil 23. Hücrelerin kemotaksisi (91).



Şekil 24. Kemik ve kıkırdak oluşumu (91).

2.4.4. Biomimetik skafoldun özellikleri

Hidrasyon

Yüksek porozite ve hidrofilik özellikleri sayesinde, biomimetik skafold hızlı bir şekilde biyolojik sıvıları (% 75 su alma) emebilir. Materyalin şişmesi sayesinde dikiş ya da diğer fiksasyon yöntemlerine ihtiyaç olmadan kendi stabilizasyonu sağlamaktadır (91).

Esneklik

Esnek olması sayesinde anatomik eğriliklerde ki defektlere bile mükemmel bir uygulama olanağı sağlar (91).

Uygunluk

Kendine özgü kimyasal ve fiziksel özellikleri skafoldu mükemmel uygun yapar. Ameliyat sırasında kolayca defektin boyutlarına adapte edilebilir ve büyük lezyonların tedavisi için bile kullanılabilir (91).

Parçalanabilirlik

Biyometrik kimyasal bileşim sayesinde tamamen yıkılır ve böylece rejeneratif süreci kolaylaştırır (91).

2.4.5. Biomimetik skafoldun endikasyonları

Eklemdede osteokondral defekt restorasyonu gereken durumlarda özellikle (91);

- Travmatik, dejeneratif veya osteokondritis dissekansa bağlı osteokondral defekt
- Outerbridge grade III-IV lezyon
- Tek veya multipl lezyonlarda kullanılır.

2.4.6. Biomimetik skafoldun kontrendikasyonları

- İleri derece dejeneratif değişiklik
- Bağışıklık sistemi bozukluğu
- Tümör
- Enfeksiyon
- BMI >30
- Yaş >60

2.5. Kondral Skafold

Hücrelere ya da büyüme faktörlerine dayalı tedavilerde iyileşme ilerleyene kadar hücrelerin ya da büyüme faktörlerinin defekt içerisinde tutulmalarını sağlayacak matrislere

ihtiyaç vardır. Kondral skafold bu amaçla üretilen bir matrikstir. Kemik matriksleri, kollajenler, hyaluronan, fibrin, karbon fiberler, poroz polilaktik asit, politetrafloroetilen poliestere ve bunlara benzer birçok polimer denenmiştir (92). İdeal matriks, hücreler kendi çevrelerini oluşturmaya kadar destek sağlayan geçici bir çatı oluşturmaktadır. Kondrositlerin kendi matriksini oluşturma hızında yani birkaç ay içerisinde yok olması gerekir (92). İdeal matriks ayrıca iyi tespit edilebilmeli, hücreleri koruyabilecek mekanik güce sahip olmalı, toksik ve sitotoksik olmamalı, hücre tutunmasına uygun ve biyobozunur olmalı, yeni kırıldık remodele oldukça matriksin yerini alabilmeli ve enflamasyonu uyarmamalıdır (92). Tip I kollajen fibroblastik hücre morfolojisini uyarmakta ve hücreleri bu yönde yönlendirerek fibröz ara madde üretmektedir. Tip II kollajen ise kondroblastik morfolojiyi uyarak glukozaminoglikan (GAG) ara maddesini üretmeye yönlendirir (92). Bir matriksin por büyüklüğü azaldıkça (<50 Mm) sağlamlığı artar, ancak hücreleri daha çok fibroblastik morfolojiye yönlendirir (92).

Matriks olarak Chondrogide (Geistlich Pharma, Wolhusen, İsviçre) ve Maix (Matricel, Hezonenrath, Almanya) domuz kaynaklı tip I ve tip III kollajenden oluşan iki katmanlı bir membrandır. Hyaff 11 (Fidia Advanced Biopolymers Laboratories, Abano Terme, İtalya) hyaluronik asitin benzil esteridir. Yirmi mikrometre kalınlığında liflerin oluşturduğu değişken aralıklara sahip bir dokumadır. BioSeed (Biotissue Technologies, Freiburg, Almanya) mekanik olarak dengeli ancak biyobozunur bir polimer jel kullanmaktadır. CaReS (Arthro Kinetics, Esslingen, Almanya) tip I kollajen jel matriks içine yerleştirilen otolog kondrositler ile elde edilen bir implanttır. BioCart t(TM) II (ProChon Biotech Ltd, Ness Ziona, İsrail) fibrin hyaluronan matriksi ve üretilmiş kondrositlerden oluşur. Cartipatch (Tissue Bank of France, Lyon, Fransa), agaroz - aljinat hidrojel doku iskeletidir. Atelocollagen (Koken Co. Ltd, Tokyo, Japonya) tip I kollajen jeldir. NeoCart (Histogenetics Co, Waltham, MA, ABD) tip I kollajen matriks üzerine ekilmiş kondrosit kullanır (92).

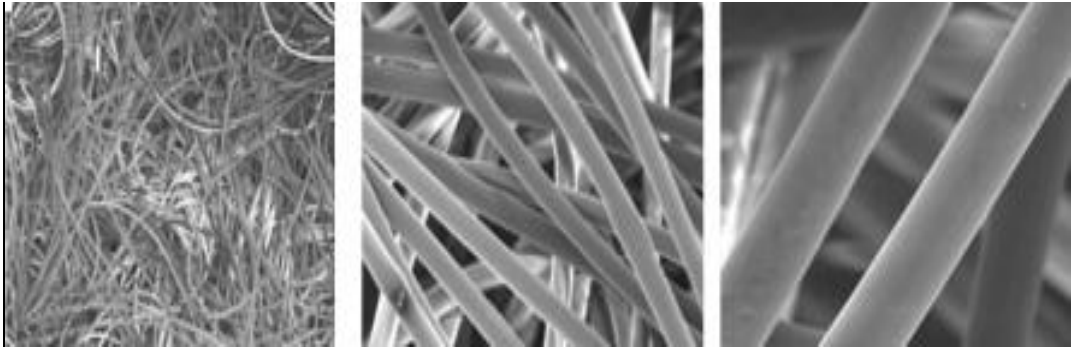
2.5.1. Kondral skafoldun biyolojik yapısı

ACS (alpha chondro shield) skafold 50,000 moleküler ağırlığa sahip saf poliglikolik asitten (PGA) oluşan emilebilen dokumasız bir yapıdır (93, 94). Yapısı şekil 25'de gösterilmiştir.



Şekil 25. PGA yapılı kondral skafold

Dokumasız yapısı düzensiz anatomik yapılara kolayca adapte olabilen mükemmel bir matriks özelliği sağlar. Polimerin kimyasal formülü $(C_2H_2O_2)_n$ 'dir. PGA homojen bir yapıya sahiptir (Şekil 26) (93, 94). Homojen lif yapısı yeni kırıldak oluşması ile paralellik gösteren kontrollü emilim hızı sağlar (12, 93, 94).



Şekil 26. Homojen PGA lif yapısı (93).

2.5.2. Kondral skafoldun özellikleri

Genellikle implantasyondan birkaç hafta sonra emilir. 7 günün sonunda mekanik olarak gücü %50 oranında kaybolur. Bu skafold vücut tarafından emilebilen, yumuşak ama bir hayli elastik, yırtılmaya karşı dayanıklı bir materyaldir. Kırıldak hasarı olan bölgeye göre şekil verilip istenildiği şekilde kesilebilir ve gerekli görüldüğünde pinle, dikiş ipliği ya da

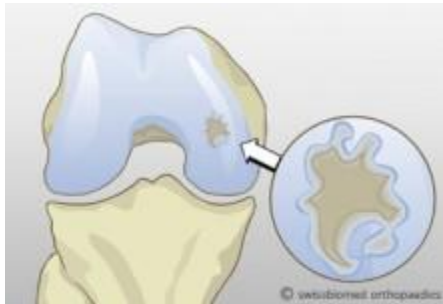
fibrin yapıştırıcı ile istenilen eklem yüzüne sabitlenebilir (Şekil 27) (94). Tek bir standart boyutu vardır. Gama radyasyonu ile sterilize edilir ve tekrar steril edilmemelidir. Aksi takdirde, ürün üzerinde önceden tahmin edilemeyen etkiler oluşabilir ve materyalin dejenerasyonu hızlanabilir (94).



Şekil 27. Kondral skafolda şekil verilebilir ve fibrin yapıştırıcı ile sabitlenebilir (94).

2.5.3. Kondral skafoldun uygulanması

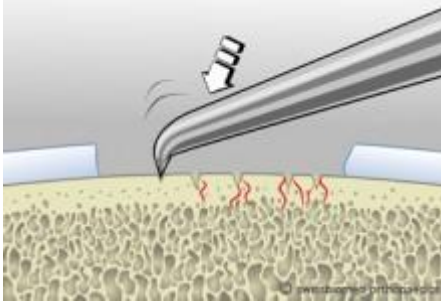
Cerrahi teknik olarak ya artroskopik ya da artrotomi ile uygulanabilir. Teknik skafold uygulanması ile mikrokirik işlemini birleştirir. Öncelikle kırıkta hasarının yeri, derecesi ve boyutu belirlenir (Şekil 28) (94).



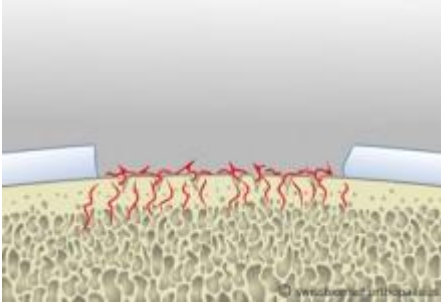
Şekil 28. Defektin yeri ve boyutu belirlenir (94).



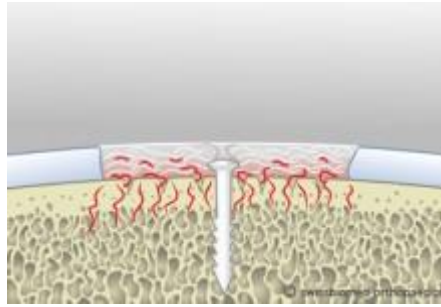
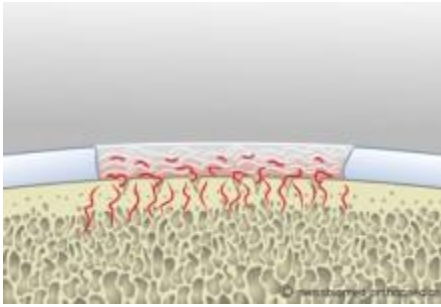
Şekil 29. Sağlıklı doku gözükeneye kadar küret ile zarar görmüş kıkırdak alınır (94).



Şekil 30. Subkondral kemiğe 3-4 mm aralıklar ile 4-5 mm derinlikte delikler açılır (94).



Şekil 31. Mezenkimal hücrelerin subkondral kemikten hasarlı alana geçişi sağlanır (94).



Şekil 32. Hasarlı bölgede oluşan pıhtı kondral skafold ile stabilize edilir (94).

2.5.4. Kondral skafoldun endikasyonları

- Kondral ya da osteokondral Defektler
- 18 - 55 yaş arası
- Evre III ya da IV (Outerbridge) kıkırdak defektleri
- Defekt > 2 cm
- Çevresi sağlam kıkırdak
- Sağlam karşı kıkırdak

2.5.5. Kondral skafoldun kontrendikasyonları

- Karşılıklı gelen kırıldak defektleri (öpüşen lezyonlar)
- Sistemik, immün hastalıklar ya da dizde enfeksiyon, osteoartrit, sekonder artritler
- İnstabil diz, menisektomi, varus/valgus dizilim bozuklukları
- Hemofili A/B
- Kanıtlanmış kollajen allerjisi

2.5.6. Kondral skafoldun rehabilitasyonu

1. hafta operasyon gününden sonra, CPM (continuous passive motion) ile sürekli pasif hareket, vücut ağırlığının %15'i kadar kısmi yük vererek mobilizasyon ve izometrik germe egzersizleri yapılır. 2-6 hafta arasında yüklenme ve güçlendirme egzersizleri arttırılır. Hafif düzeyde mümkün olan ergometrik egzersiz yapılır ve aktif fizyoterapiye başlanır. 6. haftadan itibaren yavaş yavaş kilo kaldırma ve kas ve koordinasyon çalışmalarından, tam ağırlık kaldırmaya kadar hareketler başlanır. 6. aydan sonra zorlu (örn. bisiklete binme, koşma) hareketler ve 12. aydan sonra daha zorlayıcı aktiviteler (örn. tenis, futbol) yapılır (94).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Çalışma Grupları

Bu çalışma için Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 19.12.2012 tarih ve 2012/53 sayılı yazı ile onay alınmıştır. Çalışma grupları için Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Üretme ve Araştırma Laboratuvarı'ndan elde edilen 46 adet erişkin dişi Wistar Albino cinsi rat kullanılmıştır. Ratlar 220-270 gram ağırlıkta ve 2-3 aylık olacak şekilde temin edilmiştir. Deney süresince ratlar her kafeste 5 rat olacak şekilde barındırılmış, standart laboratuvar besinleri ile beslenmiş, sıvı ve besin kısıtlaması yapılmamıştır. Ratlar 4 gruba ayrılmıştır. 1. grup biomimetik osteokondral skafold grubu, 2. grup kondral skafold grubu, 3.grup mikrokırık grubu, 4.grup ise kontrol grubu olarak belirlenmiştir (Tablo 5). Grup 1'e osteokondral defekt sonrası 4. haftada biomimetik skafold, grup 2'ye osteokondral defekt sonrası 4. haftada kondral skafold, grup 3'e osteokondral defekt sonrası 4. haftada mikrokırık işlemi uygulanmış olup, grup 4'e osteokondral defekt sonrası 4. haftada herhangi bir işlem uygulanmamıştır. Grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4 uygulanan işlem sonrası 6. haftada (toplam 10. hafta) sakrifiye edilerek, histopatolojik inceleme uygulanmıştır.

Tablo 5. Deney grupları ve uygulanan deney protokolleri.

Gruplar	Rat sayısı	Femoral İnterkondiler Alan	
		Lezyon	Tedavi
Grup I (biomimetik skafold)	12	Osteokondral defekt	Biomimetik Skafold
Grup II (kondral skafold)	10	Osteokondral defekt	Kondral Skafold
Grup III (mikrokırık grubu)	10	Osteokondral defekt	Mikrokırık
Grup IV (kontrol grubu)	14	Osteokondral defekt	—

3.2. Hayvanların Hazırlanması

Ratlara 0. dakikada 10 mg/kg Xylazine HCl (Rompun®, Bayer) ve 3. dakikada 90mg/kg Ketamin HCl (Ketalar®, Pfizer) intraperitoneal verilerek anestezi uygulandı. Daha sonra her ratın sağ bacağına tüy dökücü krem (Lapiden®, C&B Kozmetik) uygulanarak tüylerden arındırıldı (Resim 1). % 10 povidoneiodine solüsyonu ile antisepsi sağlanarak sağ diz bölgesi açıkta kalacak şekilde steril cerrahi örtü ile örtme yapıldı. 10 mg/kg Sefazolin Na preoperatif antibiyotik profilaksisi intramuskuler olarak yapıldı.



Resim 1. Lapiden ile temizlenmiş rat dizi.

3.3. Cerrahi Teknik

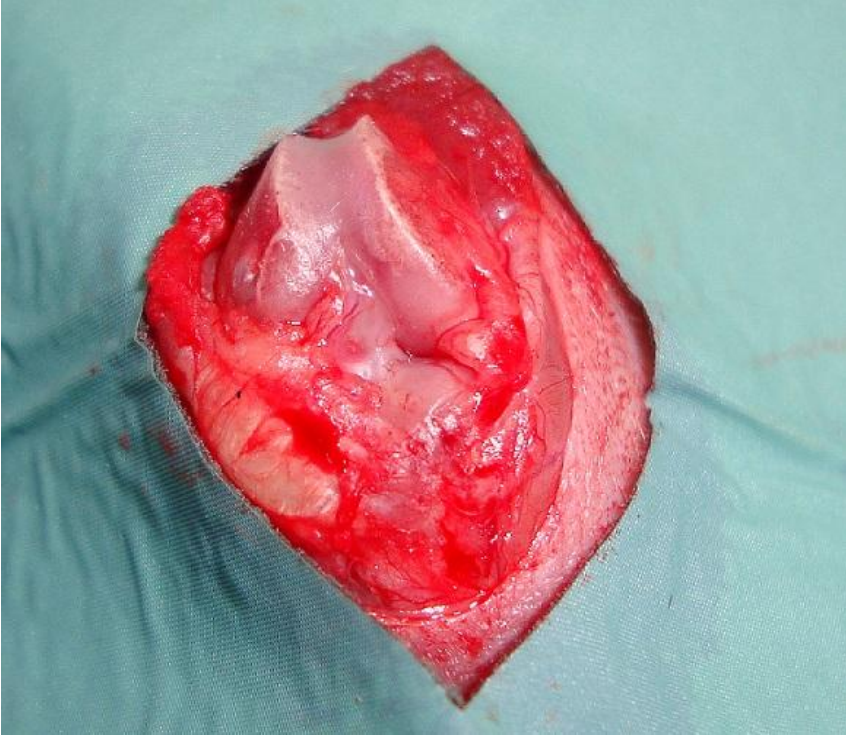
Gerekli cerrahi ekipman (Resim 2a-b) ve örtüm yapıldıktan sonra ratların sağ dizlerine orta hat insizyonu (Resim 3) ve medial parapatellar artrotomi ile girilerek patella laterale devrildi ve diz eklemi açıldı (Resim 4).



Resim 2a-b. Steril ve non-steril cerrahi ekipman.

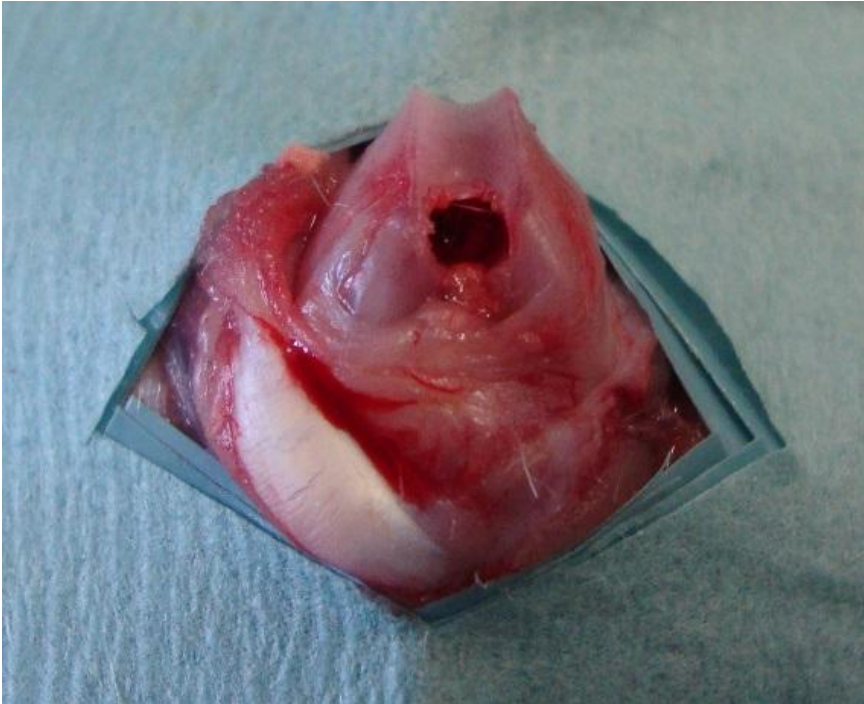


Resim 3. Orta hat insizyonu.



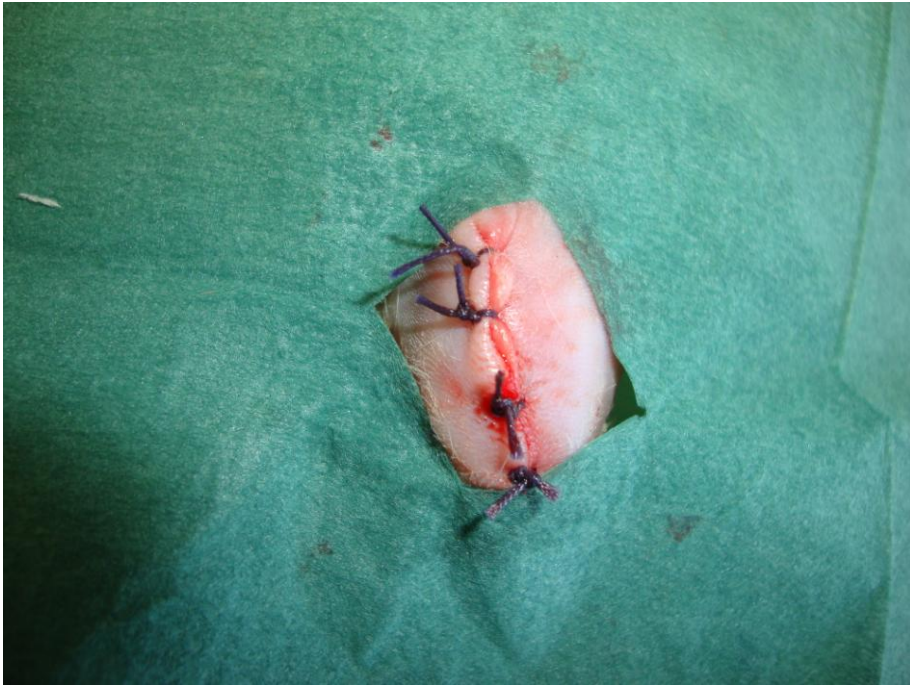
Resim 4. Artrotomi yapılmış rat dizi.

Femoral interkondiler alana dril ile 2 mm deriniğinde 2.5 mm çapında silindirik tam kat osteokondral defekt oluşturuldu (Resim 5).



Resim 5. Osteokondral defekt oluşturulmuş distal femoral eklem yüzeyi.

İşlemler sonrası eklem steril izotonik solüsyon ile yıkandı ve ardından patella redükte edilerek kapsül ve diğer katlar anatomisine uygun olarak kapatıldı (Resim 6). Cerrahi sonrasında ratların dizlerine herhangi bir tespit uygulanmadı ve serbest dolaşmalarına izin verildi. Ratlar 4 hafta takip edildi. Tüm ratların dizleri 4 hafta sonra yeniden opere edildi. 1. grupta ratların defektli bölgesine osteokondral biomimetik skafold uygulandı. 2. grup ratlara mikrokırık işlemi ve kondral skafold uygulandı. 3. grup ratlara 0.5 mm çapında, 0.8 mm derinliğinde mikrokırık işlemi yapıldı. 4. grup ratlara ise herhangi bir uygulama yapılmadı. Ratlar ikinci operasyondan sonra 6 hafta takip edildi.



Resim 6. Anatomik olarak kapatılmış diz eklemi.

3.4. Biomimetik Skafold Uygulaması

Ratlara cerrahi osteokondral defekt modeli uygulandıktan 4 hafta sonra 1. gruptaki ratlara 0. dakikada 10 mg/kg Xylazine HCl ve 3. dakikada ketamin HCl intraperitoneal anestezisi verilerek, sağ dizleri açıldı. Defekt alanında fibröz bir doku oluştuğu görüldü (Resim 7).

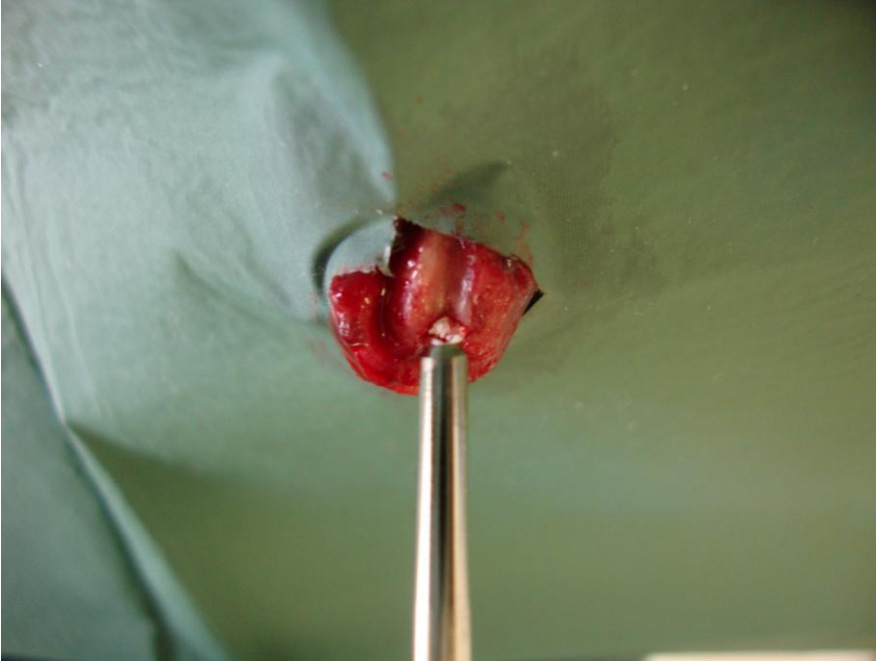


Resim 7. Defekt alanında oluşan fibröz doku.

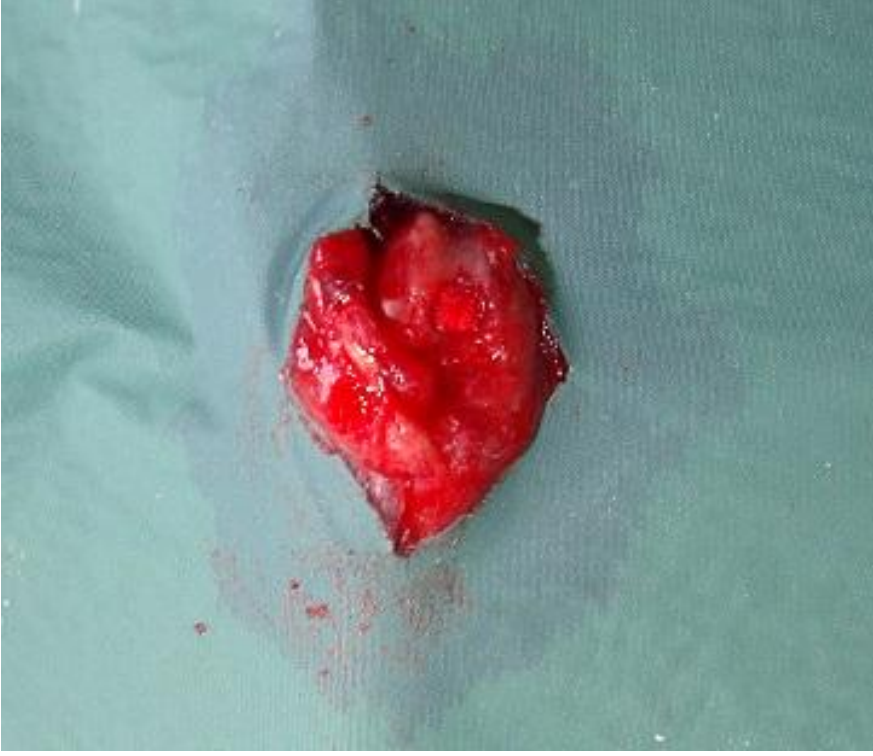
Fibröz doku küret yardımı ile temizlendi. Özel bir aparat ile yaklaşık 2 mm uzunluğunda ve 2.5 mm çapında biomimetik skafold (Fin-Ceramica Faenza S.p.A., Faenza–Italy) hazırlandı (Resim 8). Daha sonra hazırlanmış olan skafold itici ile kürete edilen defektli alana uygulandı (Resim 9, 10). Dizleri anatomik olarak kapatılarak, herhangi bir hareket kısıtlaması yapmadan 6 hafta takip edildi.



Resim 8. Alıcı ile alınmış üç katmanlı osteokondral biomimetik skafold.



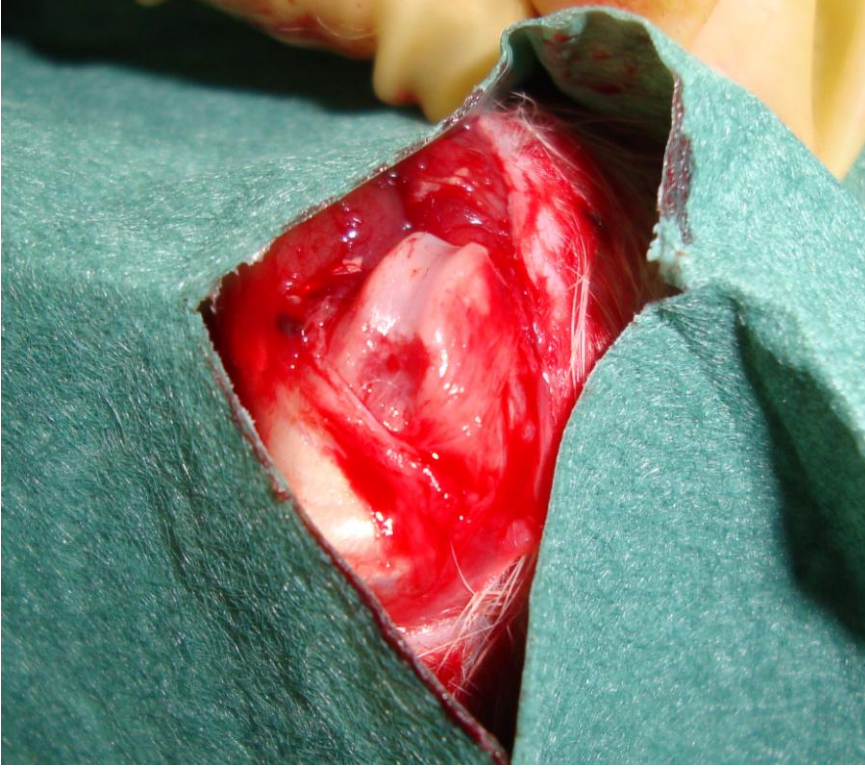
Resim 9. Biomimetik skafoldun uygulanişı.



Resim 10. Biomimetik skafoldun uygulanmış görüntüsü

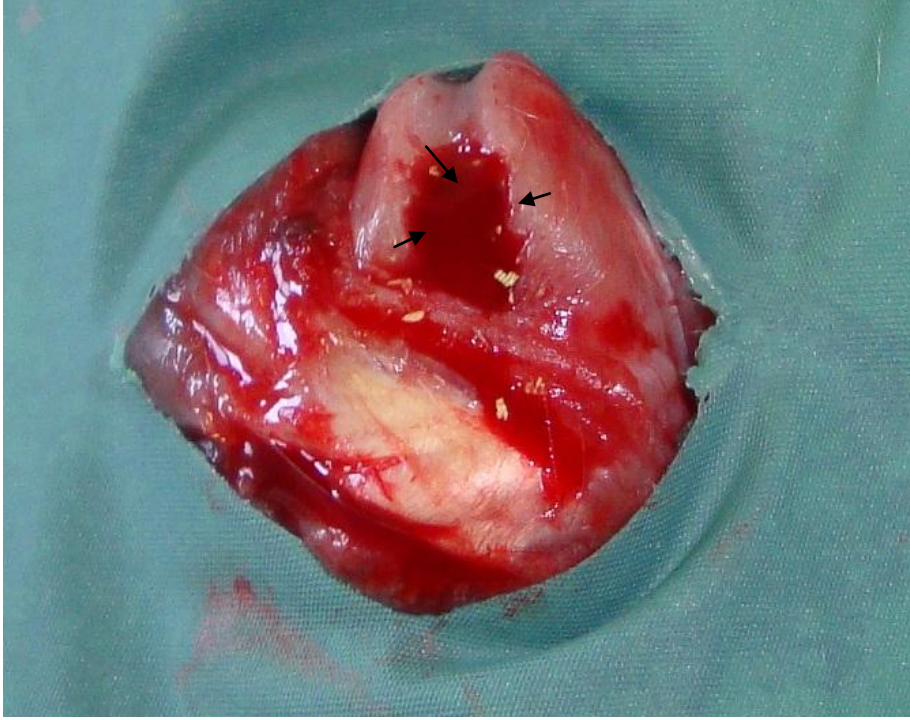
3.5. Kondral Skafold Uygulaması

Ratlara cerrahi osteokondral defekt modeli uygulandıktan 4 hafta sonra 2. gruptaki ratlara 0. dakikada 10 mg/kg Xylazine HCl ve 3. dakikada ketamin HCl intraperitenoal anestezisi verilerek, sağ dizleri açıldı. Defekt alanında fibröz bir doku oluştuğu görüldü (Resim 11).



Resim 11. Defekt alanında oluşan fibröz doku.

Fibröz dokuya 3 adet delik açılarak mikrokırık işlemi uygulandı ve kemik iliğinden kanama olması sağlandı (Resim 12). Yaklaşık 2.5 mm çapında PGA yapılı kondral skafold (ACS, Swissbiomed Orthopaedics AG, Zürich, Switzerland) hazırlandı (Resim 13). Daha sonra hazırlanmış olan skafold defektli alana uygulandı (Resim 14, 15). Dizleri anatomik olarak kapatılarak, herhangi bir hareket kısıtlaması yapmadan 6 hafta takip edildi.



Resim 12. Mikrokırık uygulaması sonrası kemik iliğinden kanama görüntüsü, (siyah oklar 3 adet mikrokırık deliğini göstermektedir).



Resim 13. Hazırlanmış olan kondral skafold.



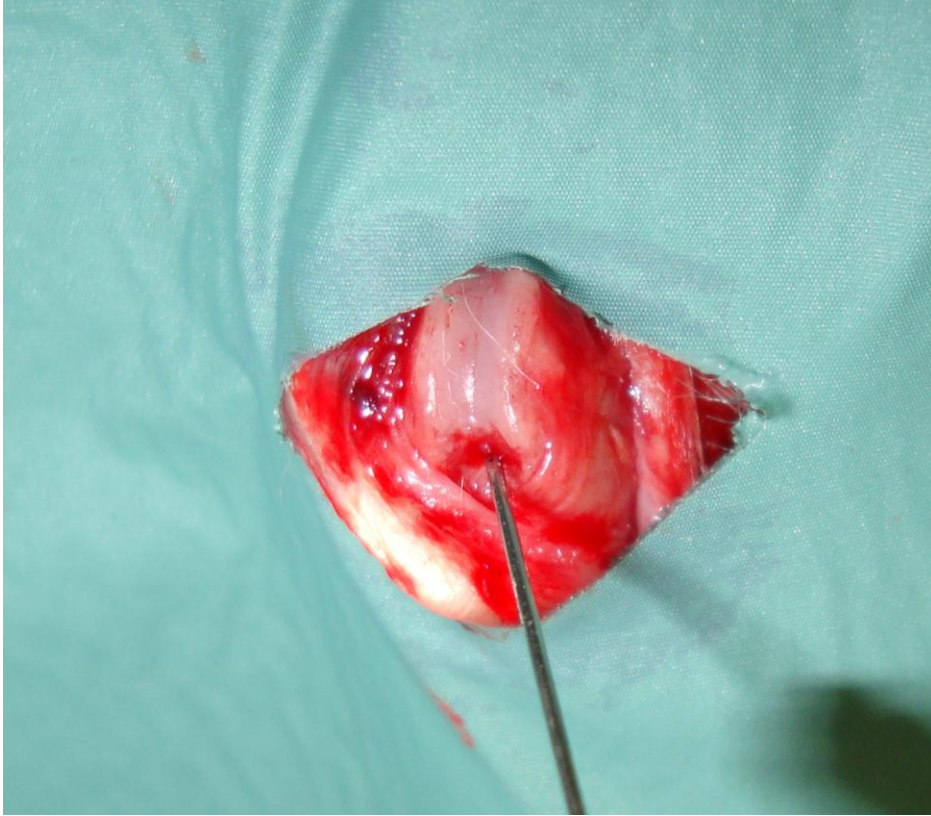
Resim 14. Kondral skafoldun uygulanışı.



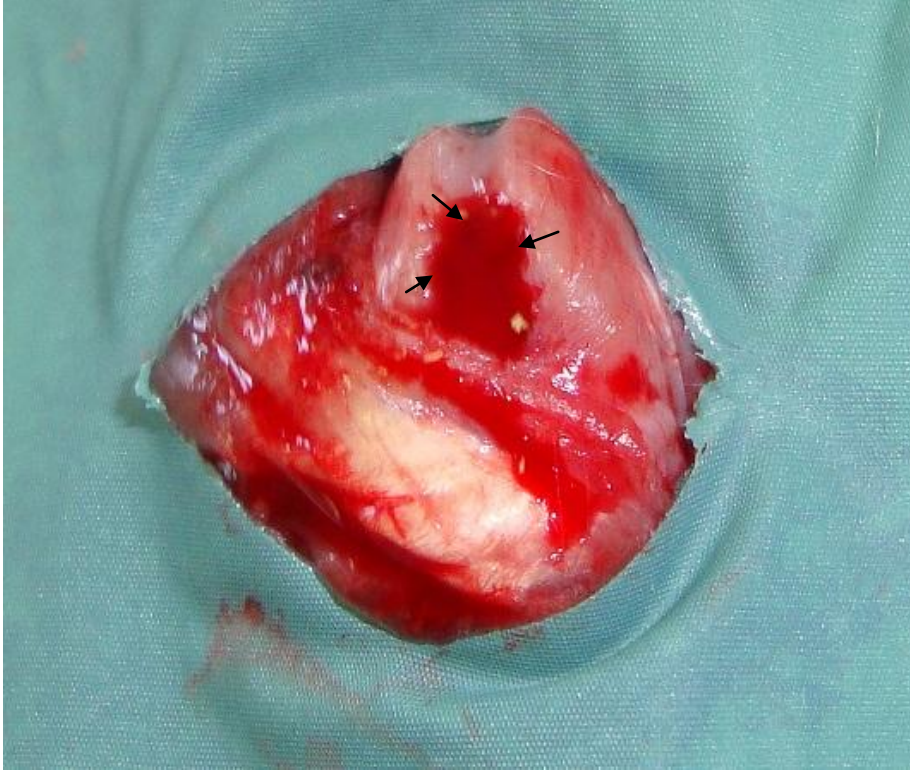
Resim 15. Kondral skafoldun uygulanmış görüntüsü

3.6. Mikrokırık Uygulaması

Ratlara cerrahi osteokondral defekt modeli uygulandıktan 4 hafta sonra 3. gruptaki ratlara 0. dakikada 10 mg/kg Xylazine HCl ve 3. dakikada ketamin HCl intraperitoneal anestezisi verilerek, sağ dizleri açıldı. Defekt alanında fibröz bir doku oluştuğu görüldü. Defektli alana insülin iğnesinin ucu ile yaklaşık 0.5 mm çapında 0.8 mm derinliğinde 3 adet delik açılarak mikrokırık uygulaması yapıldı (Resim 16). Daha sonra defekt alanına intramedüller kanamanın olduğu görüldü (Resim 17). Dizleri anatomik olarak kapatılarak, herhangi bir hareket kısıtlaması yapmadan 6 hafta takip edildi.



Resim 16. İnsülin enjektörü ile mikrokırık uygulaması.



Resim 17. Defekt alanında görülen intramedüller kanama, (siyah oklar 3 adet mikrokırık deliğini göstermektedir).

3.7. Değerlendirme

Toplamda 10 hafta, tedavi uygulandıktan sonra 6. hafta sonunda, ratlar lethal dozda eter inhalasyonu ile sakrifiye edildi. Ratların sağ alt ekstremitelerine artrotomi yapıldı. Femur distali yumuşak dokulardan sıyrıldı ve kaslar kesildi. Ön çapraz bağ ve menisküsler temizlendi. Femur diafizinden orta hat transvers osteotomi yapılarak ½ distal femur çıkarıldı (Resim 18-21).

Histopatolojik inceleme için %10 formaldehit çözeltisi içeren kaplara konuldu. Ratların ait oldukları grupların ismi gizli kalacak şekilde sınıflandırılıp randomize numaralandırılarak makroskopik ve histopatolojik olarak değerlendirilmek üzere patolojiye gönderildi.



Resim 18. Biomimetik skafold grubundan elde edilen piyesin makroskopik görüntüsü.



Resim 19. Kondral skafold grubundan elde edilen piyesin makroskopik görüntüsü.



Resim 20. Mikrokırık grubundan elde edilen piyesin makroskopik görüntüsü.



Resim 21. Kontrol grubundan elde edilen piyesin makroskopik görüntüsü.

3.7.1. Makroskopik değerlendirme

Makroskopik olarak tamir dokusunun yüzey yapısı, doldurulmuş defetin yüzdesi, greft ve alıcı doku entegrasyonu, kemik-kıkırdak ara yüz görünümü, kemik defekti dolumu dikkate alınmıştır (Tablo 6) (88).

Tablo 6. Makroskopik görünümde skrlama sistemi (Fortier Modifikasyonu) (88).

1-Tamir Dokusunun Yüzey Yapısı	
Normal: przsz hyalin	0
> %75 normal	1
% 50-75 normal	2
< % 50 normal	3
2-Doldurulmuş Defektin Yüzdesi	
% 100	0
> %75	1
%50-75	2
< % 50	3
3-Greft ve Alıcı Doku Entegrasyonu	
Çevrenin % 100' 	0
> % 75	1
% 50-75	2
< % 50	3
4-Kemik-Kıkırdak Ara Yüz Görünümü	
Düzenli	0
Hafif yüksek/alçak	1
Majör düzensizlik	2
Düzensiz ya da kistik	3
5-Kemik Defekti Dolumu	
%100	0
> % 75	1
%50- 75	2
< % 50	3

3.7.2. Histopatolojik değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme için ayrılan materyaller, değerlendirme zamanına kadar % 10 formol içeren patoloji kaplarında patolojik değerlendirme yapıncaya kadar saklandı. Örnekler hangi gruba ait olduğu bilinmeden laboratuvara gönderilen numaraya göre etiketlenerek patoloğun kr değerlendirme yapması sağlandı. Doku rnekleri fosfat tamponu içinde hazırlanmış % 10' luk formalin (pH=7.0) zeltisiyle tespit edildikten sonra, DeCastro (30 ml % 70 konsantre nitrik asit, 50 g kloral hidrat, 300 ml absolü etanol) zeltisinde oda sıcaklığında kontrollü olarak dekalsifiye edildi. Örnekler, dekalsifikasyon sonrası dereceli alkollerden geçirilerek sabit vakum uygulamasıyla parafin bloklara gömüldü. Parafin

bloklardan rotary mikrotomda (shandon MB 35 premier, Amerika) jelatinle kaplı lamlara, defekti bulmak amacıyla iki - üç defada bir atlayarak 4 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Elde edilen histolojik kesitler hematoxilen-eozin ve safranin-O tekniği ile boyandı. Tüm kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi. Görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı. Doku örnekleri temel olarak tamir dokusunun kırık yapıları, hücresel yapılanması, matriksin safranin-o ile boyanması ve eklem yüzeyinin düzgünlüğü açısından incelendi. Bulgular Mankin Skoruna göre değerlendirildi (Tablo 7) (95). Kırık yüzey özelliği, kırık matriks yapısı, hücre dağılımı, hücre popülasyon canlılığı, subkondral kemik özelliği, kırık mineralizasyonu açısından ICRS (International Cartilage Repair Society) skoruna göre değerlendirildi (Tablo 8) (21). Tüm kesitler, birbirinden bağımsız en az iki araştırmacı tarafından değerlendirilerek bunlardan elde edilen skorların ortalamaları esas alındı.

Tablo 7. Mankin skoru (95).

1.Kırık yapıları	
Normal	0
Yüzey düzensizlikleri, radial tabakaya kadar fissür gelişimi	1
Pannus	2
Yüzeyel kartilaj tabakası kaybı	3
Hafif organizasyon kaybı, hücre kolonlarının yokluğu, seyrek hücre kümeleri	4
Kalsifiye kartilaj tabakasına kadar fissür oluşumu	5
Tam organizasyon kaybı, hücre kümeleri, osteoklast aktivitesi	6
2.Hücresel anormallik	
Normal	0
Hipersellülarite, küçük yüzeyel hücre kümeleri dahil	1
Hücre kümeleri	2
Hiposellülarite	3
3. Matriks boyanması (Safranin O)	
Normal/hafif azalma	0
Radial tabakada boyanma azalması	1
İnterterritorial matrikste boyanma azalması	2
Sadece perisellüler matrikste boyanma	3
Boyanma yok	4
4. Tidemark devamlılığı	
İntakt	0
Destruksiyon	1

Tablo 8. International Cartilage Repair Society (ICRS)
(Uluslararası Kıkırdak Tamir Derneği) skoru (21).

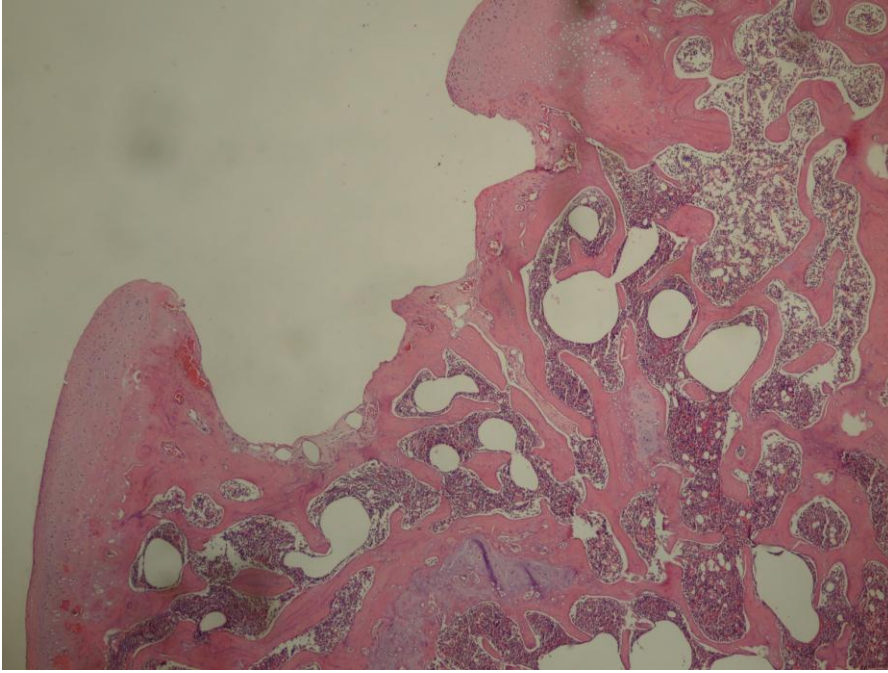
Kıkırdak yüzey özelliği	
Düz, düzenli	3
Düzensiz	0
Kıkırdak Matriks yapısı	
Hyalin	3
Miks (hyalin/fibrokartilaj)	2
Fibrokartilaj	1
Fibröz doku	0
Hücre dağılımı	
Kolumnar	3
Miks (kolumnar/ kümelenmiş)	2
Kümelenmiş	1
Dağınık deorganize hücreler	0
Hücre popülasyon canlılığı	
Baskın	3
Kısmen	1
< 10% ‘dan az	0
Subkondral kemik özelliği	
Normal	3
Artan şekil değişikliği	2
Kemik nekrozu/granülasyon dokusu	1
Ayrılmış/kırık/ kallus	0
Kıkırdak mineralizasyonu	
Normal	3
Anormal/ uygunsuz lokalizasyon	0

3.7.3. İstatistiksel değerlendirme

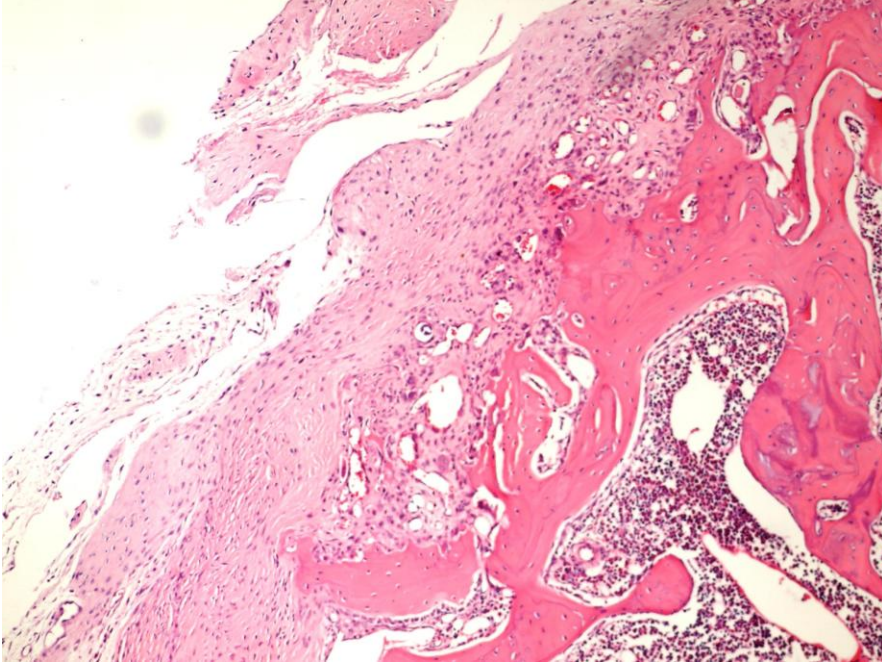
Grupların makroskopik ve histolojik değerlendirme verileri kaydedilip, istatistiksel analizlerin tümü NCSS 2007 programı kullanılarak yapılmıştır. Çalışmadaki tüm verilerin tanımlayıcı istatistiksel değerleri hesaplanmıştır (ortalama, standart sapma, ortanca). Grupların dağılımı normal olmadığı için, gruplar arası karşılaştırmalarda nonparametrik Kruskall Wallis testi ve Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Gruplar arası farklılık detaylarını incelemek için Post Hoc Testi (Dunn Testi) kullanılmıştır. P değeri <0,05 ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

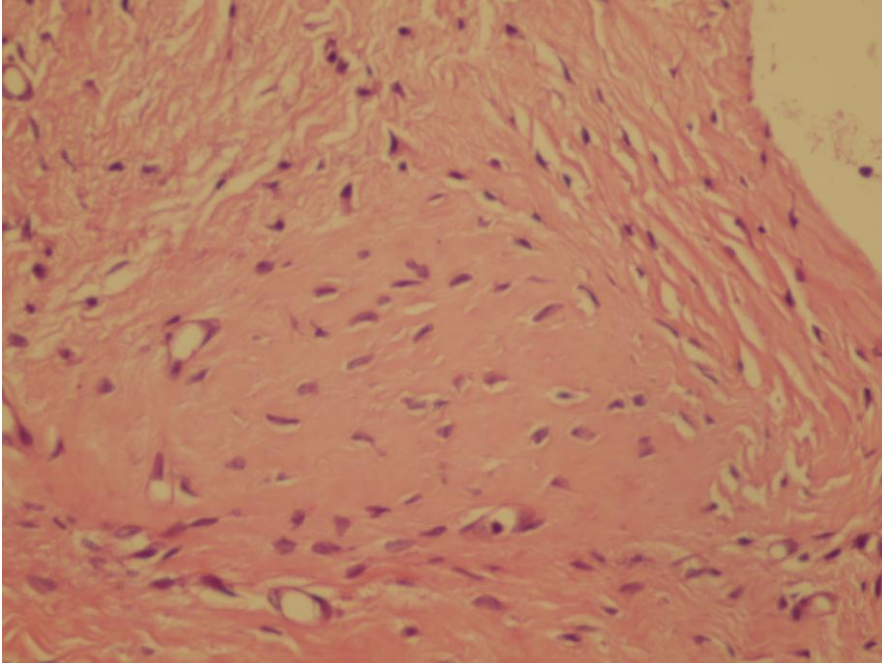
Çalışmada biomimetik skafold grubundan 12 rat, kondral skafold grubundan 10 rat, mikrokırık grubundan 10 rat, kontrol grubundan 14 rat olmak üzere toplam 46 rat kullanıldı. Toplam 46 preparat histopatolojik inceleme için hazırlandı. Histopatolojik incelemeler sırasında preparatların fotoğrafları çekildi (Resim 22-27).



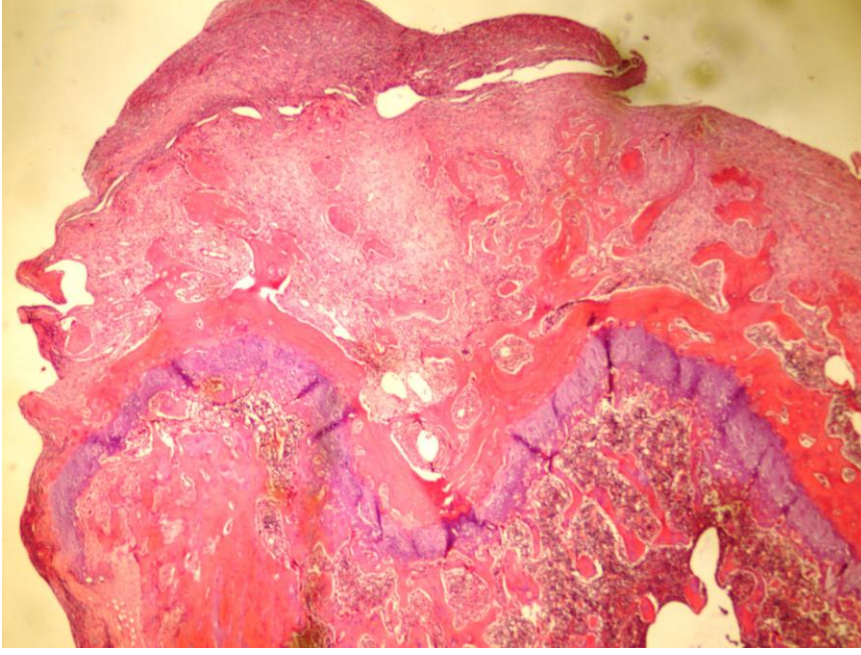
Resim 22. Kontrol grubunda dolum defekti(Hematoksilen ve Eozin X40)



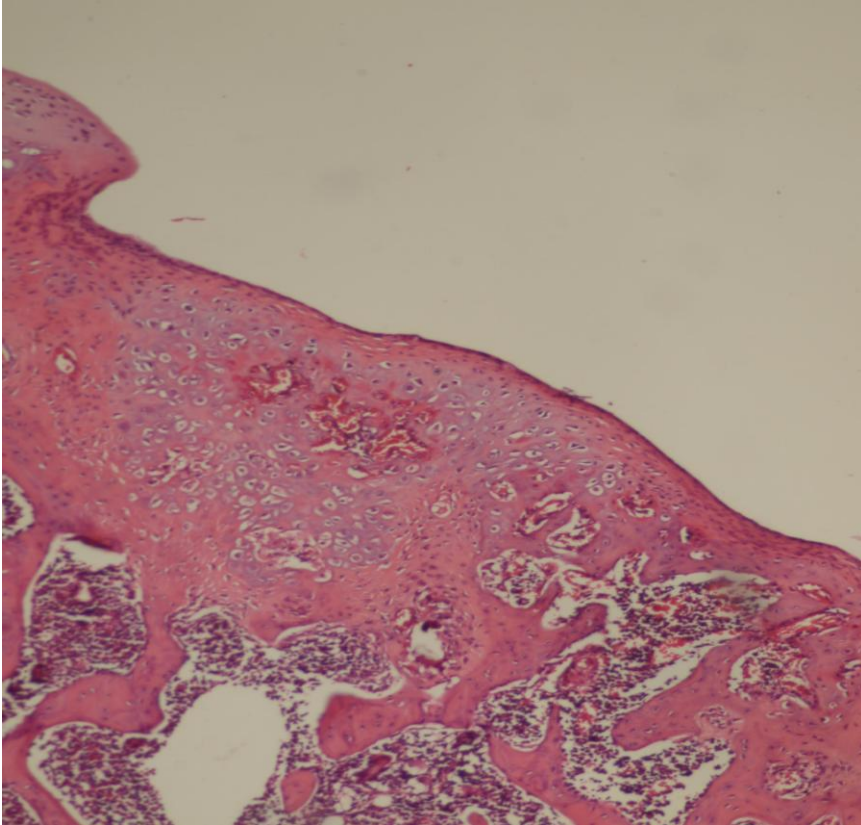
Resim 23. Kontrol grubunda yüzeyde oluşmuş fibrozis tabakası (Hematoksilen ve eozin X100)



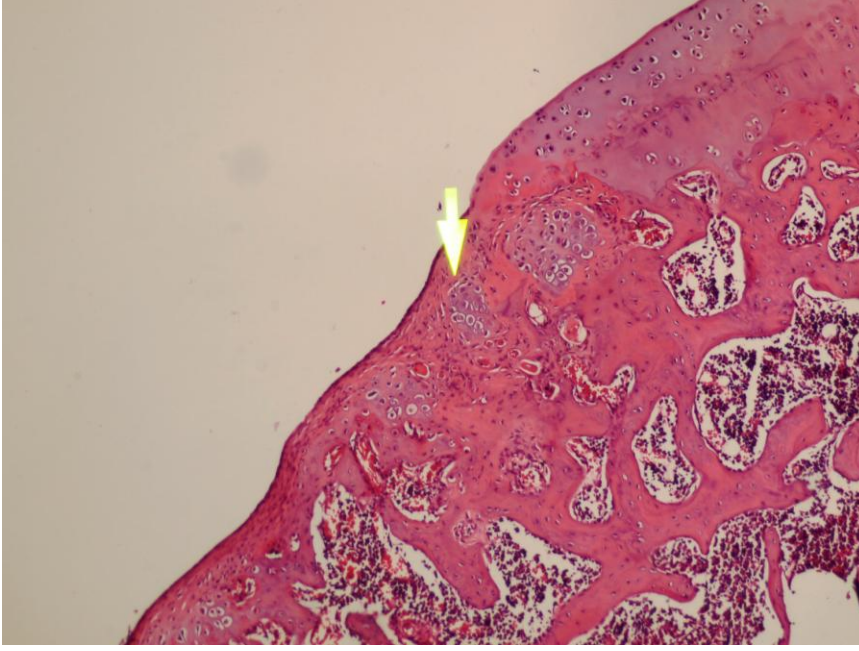
Resim 24. Mikrokırık grubunda fibröz kıkırdak oluşumu (Hematoksilen ve Eozin X100)



Resim 25. Mikrokırık grubunda yüzeyde kallus oluşumu (Hematoksilen ve Eozin X40)



Resim 26. Biomimetik skafold grubunda fibrohiyalen kıkırdak yapımı (Hematoksilen ve Eozin X40)



Resim 27. Biomimetik skafold grubunda yüzeyde yeni oluşmuş hiyalen kıkırdak adaları (Hematoksilen Eozin x 100)

Histopatolojik inceleme makroskopik ve histolojik olarak yapıldı. Makroskopik inceleme de Modifiye Fortier Skoru (88) kullanıldı. Histolojik inceleme Mankin Skoru (95) ve ICRS skoruna (21) göre yapıldı. Her ratın makroskopik ve histolojik skorlamaları ve hangi grupta olduğu Tablo 9, 10 ve 11’de verilmiştir.

Tablo 9. Her ratın ait olduğu grubu ve makroskopik skorları (Modifiye Fortier Skoru)

Grup	Rat No	Tamir Dokusunun Yüzey Yapısı	Doldurulmuş Defektin Yüzdesi	Greft ve Alıcı Doku Entegrasyonu	Kemik-Kıkırdak Ara Yüz Görünümü	Kemik Defekti Dolumu
Biomimetik Skafold	1	1	0	0	2	2
Kondral Skafold	2	2	2	2	2	3
Kontrol	3	2	1	-	3	2
Biomimetik Skafold	4	0	1	0	1	1
Mikrokırık	5	3	3	-	2	2
Kontrol	6	3	3	-	3	3
Biomimetik Skafold	7	0	1	1	0	0
Mikrokırık	8	3	1	-	2	2
Kondral Skafold	9	3	2	2	2	1
Biomimetik Skafold	10	1	0	0	1	0
Kondral Skafold	11	2	3	0	3	3
Biomimetik Skafold	12	0	0	0	0	0
Biomimetik Skafold	13	1	1	1	1	1
Mikrokırık	14	2	2	-	0	0
Mikrokırık	15	2	2	-	2	2
Biomimetik Skafold	16	1	0	1	1	1
Kontrol	17	3	1	-	2	1
Kontrol	18	2	1	-	2	2
Kontrol	19	3	2	-	3	2
Kontrol	20	3	3	-	3	3
Mikrokırık	21	2	2	-	2	2
Biomimetik Skafold	22	1	0	0	0	0

Kontrol	23	3	2	-	3	2
Mikrokırık	24	2	1	-	2	1
Kontrol	25	3	2	-	1	2
Kondral Skafold	26	3	1	2	2	1
Mikrokırık	27	3	1	-	2	1
Kontrol	28	2	1	-	3	1
Biomimetik Skafold	29	1	0	0	1	0
Kontrol	30	3	0	-	2	0
Mikrokırık	31	3	2	-	2	2
Biomimetik Skafold	32	0	0	0	1	0
Kondral Skafold	33	3	1	2	2	1
Kondral Skafold	34	2	0	0	2	0
Mikrokırık	35	2	2	-	2	1
Biomimetik Skafold	36	1	0	0	1	0
Kondral Skafold	37	3	2	1	2	1
Kontrol	38	3	2	-	2	2
Mikrokırık	39	3	1	-	1	1
Biomimetik Skafold	40	1	0	1	2	0
Kondral Skafold	41	2	1	1	0	1
Kontrol	42	3	1	-	3	1
Kondral Skafold	43	2	1	1	2	1
Kondral Skafold	44	3	2	1	2	2
Kontrol	45	1	1	-	0	1
Kontrol	46	3	2	-	3	2

Tablo 10. Her ratın ait olduğu grubu ve Mankin Skorları

Grup	Ra t No	Kıkırdak Yapısı	Hücre Anormallik	Matriks Boyanma (safranin o)	Tidemark Devamlılığı
Biomimetik Skafold	1	0	0	1	1
Kondral Skafold	2	4	2	2	1
Kontrol	3	6	2	4	1
Biomimetik Skafold	4	3	0	2	1
Mikrokırık	5	5	2	3	1
Kontrol	6	6	2	4	1
Biomimetik Skafold	7	1	0	1	0
Mikrokırık	8	4	2	3	1
Kondral Skafold	9	3	2	1	1
Biomimetik Skafold	10	1	0	1	1
Kondral Skafold	11	5	2	3	1
Biomimetik Skafold	12	0	0	1	0
Biomimetik Skafold	13	1	0	1	1
Mikrokırık	14	3	0	3	1
Mikrokırık	15	5	3	4	1
Biomimetik Skafold	16	0	0	1	0
Kontrol	17	5	2	4	1
Kontrol	18	4	2	4	1
Kontrol	19	5	3	3	1
Kontrol	20	6	3	4	1
Mikrokırık	21	4	3	2	1
Biomimetik Skafold	22	0	0	2	0

Kontrol	23	5	3	4	1
Mikrokırık	24	3	1	2	1
Kontrol	25	4	3	3	1
Kondral Skafold	26	4	2	1	1
Mikrokırık	27	6	3	3	1
Kontrol	28	5	2	3	1
Biomimetik Skafold	29	0	1	1	0
Kontrol	30	2	2	2	1
Mikrokırık	31	3	3	3	1
Biomimetik Skafold	32	0	1	1	1
Kondral Skafold	33	5	3	4	1
Kondral Skafold	34	2	1	2	1
Mikrokırık	35	5	3	3	1
Biomimetik Skafold	36	3	2	2	1
Kondral Skafold	37	4	3	3	1
Kontrol	38	6	3	4	1
Mikrokırık	39	3	2	2	1
Biomimetik Skafold	40	1	1	1	1
Kondral Skafold	41	4	1	2	1
Kontrol	42	5	2	2	1
Kondral Skafold	43	4	2	2	1
Kondral Skafold	44	6	2	4	1
Kontrol	45	1	0	2	1
Kontrol	46	6	3	3	1

Tablo 11. Her ratın ait olduğu grubu ve ICRS Skoru

Grup	Rat No	Kıkırdak Yüzey Özelliği	Kıkırdak Matriks Yapısı	Hücre Dağılımı	Hücre Popölasyon Canlılığı	Subkondral Kemik Özelliği	Kıkırdak Mineralizasyon
Biomimetik Skafold	1	0	0	0	3	1	3
Kondral Skafold	2	0	1	0	1	2	0
Kontrol	3	0	1	0	1	3	3
Biomimetik Skafold	4	0	1	1	3	3	3
Mikrokırık	5	0	1	0	1	1	0
Kontrol	6	0	0	0	1	0	0
Biomimetik Skafold	7	3	2	2	3	3	3
Mikrokırık	8	0	1	0	0	1	0
Kondral Skafold	9	0	2	1	1	1	0
Biomimetik Skafold	10	3	2	3	3	3	3
Kondral Skafold	11	0	1	1	3	2	3
Biomimetik Skafold	12	3	3	2	3	3	3
Biomimetik Skafold	13	3	2	2	3	2	3
Mikrokırık	14	0	1	0	3	3	3
Mikrokırık	15	0	0	0	1	0	0
Biomimetik Skafold	16	3	2	2	3	3	3
Kontrol	17	0	0	0	1	0	0
Kontrol	18	0	0	0	1	2	0
Kontrol	19	0	0	1	1	1	0
Kontrol	20	0	0	0	0	0	0
Mikrokırık	21	0	0	2	1	0	0
Biomimetik Skafold	22	3	2	2	3	2	3

Kontrol	23	0	0	0	1	0	0
Mikrokırık	24	0	1	1	1	2	0
Kontrol	25	0	0	1	0	1	0
Kondral Skafold	26	0	1	2	3	2	0
Mikrokırık	27	0	0	1	3	1	0
Kontrol	28	0	0	1	1	0	0
Biomimetik Skafold	29	0	2	1	3	3	3
Kontrol	30	0	0	0	1	1	0
Mikrokırık	31	0	2	0	1	3	0
Biomimetik Skafold	32	3	2	2	3	3	3
Kondral Skafold	33	0	0	1	0	0	0
Kondral Skafold	34	0	1	1	1	2	0
Mikrokırık	35	3	0	0	1	1	0
Biomimetik Skafold	36	3	1	2	3	2	0
Kondral Skafold	37	0	1	1	1	3	0
Kontrol	38	0	0	1	1	1	0
Mikrokırık	39	0	1	2	1	2	3
Biomimetik Skafold	40	0	2	2	3	3	3
Kondral Skafold	41	3	0	1	1	1	0
Kontrol	42	0	0	0	1	1	0
Kondral Skafold	43	0	1	2	1	2	0
Kondral Skafold	44	0	0	0	1	1	0
Kontrol	45	3	1	0	1	2	3
Kontrol	46	0	0	1	1	2	0

Her değerlendirme için gruptaki preparatların skorlarının ortalaması alındı. Makroskopik ve histolojik sınıflandırma parametreleri gruplara göre incelendi ve grupların ortalama sonuçları ve median değerleri tablo 12, 13, 14' te verildi. Tablo 15'de grupların makroskopik ve histolojik incelemelerinin parametrelere göre minimum ve maksimum değerleri verildi.

Mikrokırık ve kontrol grubunda greft ve alıcı doku entegrasyonu olmadığından bu parametre için ortalama değer ve standart deviasyon hesaplanmamıştır. Dolayısıyla bu grupların total makroskopik skorları da hesaplanmamıştır. Bu parametre sadece biomimetik skafold grubu ve kondral skafold grubu arasında karşılaştırılmıştır. Biomimetik skafold grubunun total makroskopik skoru ortalama değeri, kondral skafold grubundan daha düşük bulunmuştur. Ayrıca biomimetik skafold grubunun tamir dokusunun yüzey yapısı, doldurulmuş defektin yüzdesi, kemik-kıkırdak ara yüz görünümü ve kemik defekti dolumu ortalama değerleri, diğer üç gruptan da düşük bulunmuştur. Graft ve alıcı doku entegrasyonu ortalama değeri kondral skafold grubunda daha düşük bulunmuştur.

Tablo 12'de grupların makroskopik incelemelerinin ortalama ve median değerleri verilmiştir.

Tablo 12. Gruplardan elde edilen Makroskopik Skorların (Modifiye Fortier) ortalama ve median değerleri

		BİOMİMETİK SKAFOLD GRUBU	KONDRAL SKAFOLD GRUBU	MİKROKIRIK GRUBU	KONTROL GRUBU
Tamir Dokusunun Yüzey Yapısı	Ortalama	0,67±0,49	2,5±0,53	2,5±0,52	2,64±0,63
	Median	1	2.5	2.5	3
Doldurulmuş Defektin Yüzdesi	Ortalama	0,25±0,45	1,5±0,85	1,7±0,67	1,57±0,85
	Median	0	1.5	2	1.5
Graft ve Alıcı Doku Entegrasyonu	Ortalama	0,33±0,49	0,2±0,79	-	-
	Median	0	0	-	-
Kemik- Kıkırdak Ara Yüz Görünümü	Ortalama	0,92±0,67	1,9±0,74	1,7±0,67	2,36±0,93
	Median	1	2	2	3
Kemik Defekti Dolumu	Ortalama	0,42±0,67	1,4±0,97	1,4±0,70	1,71±0,83
	Median	0	1	1.5	2
Total Makroskopik Skor	Ortalama	2,58±1,62	8,5,±2,41	-	-
	Median	2	9	-	-

Histolojik olarak Mankin sınıflandırmasının parametreleri gruplara göre incelendiğinde; biomimetik skafold grubunun hem total Mankin Skalası, hem de kıkırdak yapısı, hücresel anormallik, matriks boyanması, tidemark devamlılığı ortalama değerleri diğer üç gruba göre daha düşük bulunmuştur.

Tablo 13'te grupların Mankin Skorlarının ortalama ve median değerleri verilmiştir.

Tablo 13. Grupların elde edilen Mankin Skorlarının ortalama ve median değerleri

		BIOMİMETİK SKAFOLD GRUBU	KONDRAL SKAFOLD GRUBU	MİKROKIRIK GRUBU	KONTROL GRUBU
Kıkırdak Yapısı	Ortalama	0,83±1,11	4,1 ± 1,1	4,1±1,10	4,71±1,54
	Median	0.5	4	4	5
Hücresel Anormallik	Ortalama	0,42±0,67	2±0,67	2,2±1,03	2,28±0,83
	Median	0	2	2.5	2
Matriks Boyanma (safranin o)	Ortalama	1,25±0,45	2,4±1,07	2,8±0,63	3,29±0,83
	Median	1	2	3	3.5
Tidemark Devamlılığı	Ortalama	0,58±0,51	1±0	1±0	1±0
	Median	1	1	1	1
Total Mankin Skoru	Ortalama	3,08±2,07	9,5±2,41	10,1±2,23	11,28±2,78
	Median	2,5	9	10	12

Histolojik olarak ICRS sınıflandırmasının parametreleri gruplara göre incelendiğinde; biomimetik skafold grubunun hem total ICRS Skalası, hem de kıkırdak yüzey özelliği, kıkırdak matriks yapısı, hücre dağılımı, hücre popülasyon canlılığı, subkondral kemik özelliği ve kıkırdak mineralizasyonu ortalama değerleri diğer üç gruba göre daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 14’de grupların ICRS Skorlarının ortalama ve median değerleri verilmiştir.

Tablo 14. Grupların elde edilen ICRS skorlarının ortalama ve median değerleri

		BİOMİMETİK SKAFOLD GRUBU	KONDRAL SKAFOLD GRUBU	MİKROKIRIK GRUBU	KONTROL GRUBU
Kıkırdak Yüzey Özelliği	Ortalama	2±1,47	0,3±0,95	0,3±0,95	0,21±0,80
	Median	3	0	0	0
Kıkırdak Matriks Yapısı	Ortalama	1,75 ±0,75	0,8±0,63	0,7±0,67	0,14±0,36
	Median	2	1	1	0
Hücre Dağılımı	Ortalama	1,75±0,75	1±0,67	0,6±0,84	0,36±0,5
	Median	2	1	0	0
Hücre Popülasyon Canlılığı	Ortalama	3±0	1,3±0,95	1,3±0,95	0,86±0,36
	Median	3	1	1	1
Subkondral Kemik Özelliği	Ortalama	2,58±0,67	1,6±0,84	1,4±1,07	1±0,96
	Median	3	2	1	1
Kıkırdak Mineralizasyonu	Ortalama	2,75±0,87	0,3±0,95	0,6±1,26	0,43±1,09
	Median	3	0	0	0
Total ICRS Skoru	Ortalama	13,83±3,07	5,3±2,62	4,9±2,88	3±2,77
	Median	15	5.5	5	2

Tablo 15’de grupların makroskopik ve histolojik incelemelerinin parametrelere göre minimum ve maksimum değerleri

Tablo 15. Grupların makroskopik ve histolojik incelemelerinin parametrelere göre minimum ve maksimum değerleri

	BİOMİMETİK SKAFOLD GRUBU	KONDRAL SKAFOLD GRUBU	MİKROKIRIK GRUBU	KONTROL GRUBU
Tamir Dokusunun Yüzey Yapısı	0-1	2-3	2-3	1-3
Doldurulmuş Defektin Yüzdesi	0-1	0-3	1-3	0-3
Greft ve Alıcı Doku Entegrasyonu	0-1	0-2	-	-
Kemik-Kıkırdak Ara Yüz Görünümü	0-2	0-3	0-2	0-3
Kemik Defekti Dolumu	0-2	0-3	0-2	0-3
Kıkırdak Yapısı	0-3	2-6	3-6	1-6
Hücreyel Anormallik	0-2	1-3	0-3	0-3
Matriks Boyanması	1-2	1-4	2-4	2-4
Tidemark Devamlılığı	0-1	1	1	1
Kıkırdak Yüzey Özelliği	0-3	0-3	0-3	0-3
Kıkırdak Matriks Yapısı	0-3	0-2	0-2	0-1
Hücre Dağılımı	0-3	0-2	0-2	0-1
Hücre Popülasyon Canlılığı	3	0-3	0-3	0-1
Subkondral Kemik Özelliği	1-3	0-3	0-3	0-3
Kıkırdak Mineralizasyonu	0-3	0-3	0-3	0-3

İstatistiksel değerlendirmeler

Yapılan istatistiksel değerlendirmede, grupların makroskopik skorları Kruskal-Wallis testi ile incelendiğinde, makroskopik sınıflandırma parametrelerinden; tamir dokusunun yüzey yapısı, doldurulmuş defektin yüzdesi, kemik-kıkırdak ara yüz görünümü, kemik defekti dolumu değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.004$). Greft ve alıcı doku entegrasyonu sadece biomimetik skafold ve kondral skafold grubu arasında değerlendirildiği için Mann-Whitney-U testi ile incelenmiş ve iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.017$).

Anlamlı olduğu tespit edilen parametrelerin hangi gruplar arasında farklılık olduğunu incelemek için Post Hoc Testi (Dunn testi) kullanılmıştır.

Makroskopik inceleme (Modifiye Fortier) sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi:

Kruskal-Wallis testi ile tamir dokusunun yüzey yapısı değişkeni incelendiğinde; 4 grup arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde, biomimetik skafold grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ($p<0.001$), kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının kendi aralarında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile doldurulmuş defektin yüzdesi değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ($p<0.001$), kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının kendi aralarında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Mann-Whitney-U testi ile greft ve alıcı doku entegrasyonu değişkeni bakımından; 2 grup (biomimetik skafold, kondral skafold) karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.017$).

Kruskal-Wallis testi ile kemik-kıkırdak ara yüz görünümü değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile kontrol grubunun istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklı olduğu ($p<0.001$), biomimetik skafold grubu ile kondral skafold ve mikrokırık grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile kemik defekti dolumu değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.004$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile kontrol grubunun istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklı olduğu ($p<0.001$), biomimetik skafold ile kondral skafold ve mikrokırık grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Total makroskopik skor Mann-Whitney-U testi ile sadece biomimetik skafold ve kondral skafold grubu arasında incelenmiştir. 2 grup (biomimetik skafold, kondral skafold) karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$).

Mankin Skalası sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi:

Mankin Skalasının parametreleri istatistiksel olarak, Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildiğinde gruplar arasında; total Mankin Skalası ortalama değerlerinin istatistiksel açıdan ileri derece anlamlı farklılık olduğu ($p<0.001$) ve Mankin Skalası parametrelerinden kıkırdak yapısı, hücresel anormallik, matriks boyanması, tidemark devamlılığı ortalama değerlerinin istatistiksel açıdan ileri derece anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$).

Kruskal-Wallis testi ile kıkırdak yapısı değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı

farklılık olduğu ($p<0001$), kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının kendi araların da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile hücrel anormallik değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ($p<0001$), kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının kendi araların da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile matriks boyanması değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile mikrokırık ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ($p<0001$), biomimetik skafold ile kondral skafold grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile tidemark devamlılığı değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak ileri derece anlamlı farklılık olduğu ($p<0001$), kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının kendi araların da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile total Mankin Skalası bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak ileri derece anlamlı farklılık olduğu ($p<0001$), kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının kendi araların da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

ICRS Skalası sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi:

ICRS Skalasının parametreleri istatistiksel olarak, Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildiğinde gruplar arasında; total ICRS Skalası ortalama değerlerinin istatistiksel açıdan ileri derece anlamlı farklılık olduğu ($p<0.001$) ve ICRS Skalası parametrelerinden kıkırdak yüzey özelliği, kıkırdak matriks yapısı, hücre dağılımı, hücre popölasyon canlılığı, subkondral kemik özelliği, kıkırdak mineralizasyonu ortalama değerlerinin istatistiksel açıdan ileri derece anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$).

Kruskal-Wallis testi ile kıkırdak yüzey özelliği değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ($p<0.0001$), kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının kendi araların da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile kıkırdak matriks yapısı değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ($p<0.0001$), biomimetik skafold ile mikrokırık ve kondral skafold grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile hücre dağılımı değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile mikrokırık ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ($p<0.0001$), biomimetik skafold grubu ile kondral skafold grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile hücre popölasyon canlılığı değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde

biomimetik skafold grubu ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ($p<0.001$), kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının kendi araların da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile subkondral kemik özelliği değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile mikrokırık ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ($p<0.001$), biomimetik skafold grubu ile kondral skafold grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile kırıldak mineralizasyonu değişkeni bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile diğer tüm gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu ($p<0.001$), kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının kendi araların da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

Kruskal-Wallis testi ile total ICRS Skalası bakımından; 4 grup karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Gruplar arasında farklılık detayları Dunn Testi ile incelendiğinde biomimetik skafold grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak ileri derece anlamlı farklılık olduğu ($p<0.001$), kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının kendi araların da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada deneysel osteokondral defekt modelinde nano kompozit multilayer biomimetik skafold, kondral skafold ve mikrokırık yönteminin etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Sonuçlar cerrahi sonrası 6. hafta sonunda değerlendirilmiştir. Osteokondral defekt iyileşmesinde biomimetik skafoldunun kondral skafolda, mikrokırık yöntemine ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak ileri derece anlamlı farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.001$). Kondral skafoldun da mikrokırık ve kontrol grubuna göre daha belirgin iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Mikrokırık yönteminin de kontrol grubuna göre rakamsal olarak daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Kıkırdak defektlerinin tedavisi için pek çok yöntem geliştirilmiş olmasına rağmen tatmin edici uzun vadeli bir çözüm bulunamamıştır, uzun dönemde mevcut tedavilerin dejeneratif sorunlarla karşı karşıya olduğu görülmektedir. Uygulanan tedavi metodunun temel sorunu yeni rejenerasyon dokusunun yetersiz biyomekanik özellikleridir. Bu yüzden çok sayıda çalışma kıkırdak defektlerinin rejenerasyonunu açıkça tarif etmekte başarısız olmuştur. Eklem kıkırdak defektinden kaynaklanan ağrı ve fonksiyon kaybı, kıkırdak rehabilitasyonunu iyileştirmek ve kolaylaştırmak için yeni metodlar geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (96). Son zamanlarda eklem kıkırdaki defektlerinde doku mühendisliği ürünü olan, hücrelerin ya da büyüme faktörlerinin defekt içerisinde tutulmalarını sağlayan skafoldlar üzerinde durulmaktadır. Piyasada halen kullanılmakta olan çok çeşitli skafold materyalleri vardır (92).

Çalışmamızda osteokondral defekt oluşturduğumuz rat dizleri biomimetik skafold, kondral skafold ve mikrokırık yöntemi ile tedavi edilmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Her üç grupta da tedavi edilmeyen kontrol grubuna göre rakamsal olarak anlamlı derecede fark eden iyileşme görüldü, fakat istatistiksel olarak çoğu parametrede kondral skafold, mikrokırık ve kontrol grubu arasında anlamlı derece farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Kondral skafoldun rakamsal olarak iyileşme bulguları, mikrokırık grubundan iyi olsa da, istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Biomimetik skafoldun istatistiksel olarak diğer gruplardan ileri derece anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür ($p<0.001$).

Scaffold; hücrelere ya da büyüme faktörlerine dayalı tedavilerde iyileşme ilerleyene kadar hücrelerin ya da büyüme faktörlerinin defekt içerisinde tutulmalarını sağlayacak yapılardır (92). Bu amaçla kollajenler, hyaluronan, fibrin, karbon fiberler, poroz polilaktik asit, politetrafloroetilen poliester ve bunlara benzer birçok polimer denenmiştir (92). İdeal bir scaffold, hücreler kendi çevrelerini oluşturana kadar destek sağlayan, geçici bir çatı oluşturan özellikte olmalıdır. Kondrositlerin kendi matriksini oluşturma hızında yani birkaç ay içerisinde yok olması gerekmektedir (97).

Nano kompozit multilayer biomimetik scaffold gözenekli, üç boyutlu, yüksek porozite ve hidrofilik özelliği olan, tüm osteokondral anatomiye taklit edebilen bir yapıya sahiptir. Materyalin şişmesi sayesinde dikiş ya da diğer fiksasyon yöntemlerine ihtiyaç olmadan kendi stabilizasyonunu sağlamaktadır. Biomimetik kimyasal bileşim sayesinde tamamen yıkılır ve böylece rejeneratif süreci kolaylaştırmaktadır. En üst tabaka olan kıkırdak tabakası, %100 tip I kollajenden oluşan, pürüzsüz bir yüzeye sahiptir. Orta tabaka tide mark tabakası %60 tip I kollajen ve %40 HA yapılı bir birleşiminden oluşmaktadır. En altta mineralize katman subkondral kemik tabakayı taklit etmektedir. %30 Tip I kollajen ve %70 HA karışımından oluşmaktadır (8, 10, 84-89).

Kon ve ark. (87) on iki koyunun toplam yirmi dört femoral kondilinde oluşturdukları osteokondral lezyon modelinde biomimetik scaffoldun etkinliğini araştırmışlardır. Biomimetik scaffold grubu, biomimetik scaffold ile birlikte PRP (platelet rich plazma) uygulanan grup ve kontrol grubu olmak üzere üç grup oluşturmuşlardır. Hayvanları 6 ay takip etmişlerdir. Mikroradyografik, makroskopik ve histolojik incelemelerini yapmışlardır. Yalnızca scaffold uygulanan grupta daha iyi kemik rejenerasyonu ve kıkırdak yüzey rekonstrüksiyonu izlenmiştir. Scaffold ve PRP uygulanan grupta inkomplet kemik rejenerasyonu ve düzensiz kıkırdak yüzey integrasyonu izlenmiştir. Kontrol grubunda ise kemik ve kıkırdak defekti izlenmiş ve defektli bölgenin fibröz doku ile dolduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak PRP nin osteokondral lezyonları olumsuz etkilediğini, yalnızca biomimetik scaffold'un daha etkili bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Kon ve ark. (90) bir başka çalışmada atmış hastanın (atmış iki diz; kırkbeş medial, onyedili lateral kondil) dizlerinde oluşan stage 3-4 osteokondritis dissekansa yönelik osteokondral otolog transplantasyonu (OATS), kemik grefti ile otolog kondrosit implantasyonu (ACI), biomimetik scaffold, kemik-kıkırdak pasta grefti ve hyaluronik asit

skafolda emdirilmiş kemik iliği derivasyonu uygulayarak tedavi etmişlerdir. Hastaları IKDC (International Knee Documentation Committee) skoru, EQ-VAS (EuroQol visual analog scale) skoru, radyografik ve MRI skorlamasını yaparak değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak tüm teknikler radyografik ve klinik olarak iyi bulunmuştur. Fakat biomimetik skafold gibi yeni tekniklerin uygulama gerekçelerinin farklı olduğunu, öncelikle skafoldun karakteristik yapısının güvenilir olduğu, mezenşimal hücrelerin çoğalmasında rol oynadığı için hastalara güvenli bir şekilde uygulanabileceğini belirtmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada kırk altı yaşında medial femoral kondilinde, trohlea ve patellada osteokondral lezyonu olan atletik bir hastaya biomimetik skafold uygulamışlardır (84). Hastanın 1 yıllık takiplerinde ağrısının azaldığını, diz hareketlerinin tam olduğunu, atletik etkinliklere tam olarak döndüğünü bildirmişlerdir. MRI değerlendirmesinde 6. ayda hyalin kırkırdak gibi sinyal verdiğini, iyi bir eklem yüzeyi restorasyonu ve minimal subkondral kemik iliği ödemi olduğunu, 12. ayında neredeyse hiç belli olmayan subkondral ödem olduğunu belirtmişlerdir.

Başka bir çalışmada da osteokondral lezyonu olan otuz hastaya biomimetik skafold uygulanmıştır (89). Lezyonların boyutu 1.5 cm^2 ile 6 cm^2 arasında değişmekteymiş. Hastaları 2 yıl takip ederek IKDC, Tegner ve MOCART (Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue) skorlamasını yapmışlardır. Hastaların büyük çoğunluğunda IKDC ve Tegner skorlamasında düzelme görülmüştür. Yaşlı hastalar ve daha önce cerrahi geçiren hastalarda yavaş iyileşme gözlemlenmiş, buna karşın genç ve aktif hastalarda daha hızlı iyileşme gözlenmiştir. MRI değerlendirmesinde lezyonların % 70'inde kırkırdak defektinin tamamen dolduğunu ve greftin tam entegre olduğunu belirtmişlerdir. Ancak subkondral lamina ve kemiğin vakaların küçük bir kısmında bozulmamış olduğunu bildirmişlerdir (%7, %47).

Kon ve ark. (8) iki adet at üzerinde yaptıkları çalışmada, atların medial kondillerinde osteokondral lezyon, lateral kondillerinde kondral lezyon oluşturmuşlardır. Her iki lezyona da biomimetik skafold uygulamışlardır. Hayvanları altı ay takip etmişlerdir. Cerrahiden iki ay sonra anestezi altında artroskopi yaparak skafoldun yapısını ve tamir dokusunun iyileşmesini gözlemişlerdir. Artroskopik olarak osteokondral ve kondral lezyonlarda gözle görülür bir iyileşme olduğunu, greft dokusunda fibrokartilajinöz bir yapı oluştuğunu ve lezyon etrafında inflamatuvar reaksiyon oluşmadığını gözlemlemişlerdir. Makroskopik olarak osteokondral

lezyon etrafında fibröz doku oluştuğu, defektin yeni formunda kıkırdak doku yüzeyinin düzgün, pürüzsüz, sert ve, sağlam kıkırdağa sıkıca tespit edilmiş şekilde olduğu, oluşan kıkırdak yüzeyinde hiç kemik dokusu olmadığı gözlenmiştir. Yeni oluşan kıkırdak ile sağlam kıkırdak arasında hiç boşluk olmadığı ve yeni oluşan kıkırdağın subkondral kemiğe ve sağlam kıkırdağa fikse olduğu gözlenmiştir. Histopatolojik olarak kondral ve osteokondral defekt arasında önemli bir fark olamadığı bildirilmiştir. Yeni oluşan kıkırdak ile kemik arasında tide-mark tabakası oluşmuş, sağlıklı kemikle trabeküler kemik ayırt edilemez olmuş ve yüzeye hiçbir kemik infiltrasyonu olmamıştır. Yeni oluşan kıkırdak dokusunda polarize ışık altında uzunlamasına dizilmiş kollajen lifleri görülmüştür. Sonuçta bu çalışmayla biomimetik skafoldun osteokondral ve kondral lezyonlarda kemik ve kıkırdak rejenerasyonunda kullanılabilecek bir materyal olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda biomimetik skafoldun etkinliğine bakacak olursak biomimetik skafoldun etkinliği literatürle uyumlu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda biomimetik skafold grubu ile diğer gruplar arasında makroskopik ve histopatolojik parametrelerde istatistiksel açıdan ileri derece anlamlı farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0.001$).

Doku mühendisliği çerçevesinde geliştirilmiş bu skafoldlar iyi tespit edilebilmeli, kendileri ve metabolitleri toksik olmamalı, hücrelerin yapışması ve çoğalması için uygun olmalı, hücreleri koruyabilecek mekanik güce sahip olmalı, yeni kıkırdak remodele oldukça matriksin yerini alabilmeli ve enflamasyonu uyarmamalıdır (92). Hücreler ve hücreler arasında ki iletişim için en az %90 geçirgenlik içermeli, kondrojen ve difüzyon için yeterli derece de biyoyararlı olmalı ve kontrol edilebilir çözülme hızında olmalıdır. Bir skafoldun por büyüklüğü azaldıkça ($< 50 \text{ Mm}$) sağlamlığı artar, ancak hücreleri daha çok fibroblastik morfolojiye yönlendirmektedir (92).

Bioabsorbabl eklem implantı adı da verilen kondral skafold (ACS, Swissbiomed Orthopaedics AG, Zürich, Switzerland) 50,000 moleküler ağırlığa sahip saf PGA'ten oluşan emilebilen dokumasız bir yapıdır (93, 94). Otolog serum ve PGA skafold bir araya getirilmekte ve tam kalınlıkta osteokondral defekte implante edilmektedir. Dokumasız yapısı düzensiz anatomik yapılara kolayca adapte olabilen mükemmel bir matriks özelliği sağlamaktadır. Polimerin kimyasal formülü $(C_2H_2O_2)_n$ 'dir. Homojen lif yapısı yeni kıkırdak oluşması ile paralellik gösteren kontrollü emilim hızı sağlamaktadır (12, 93, 94). Genellikle implantasyondan birkaç hafta sonra emilmektedir. Yedi günün sonunda mekanik olarak gücü

%50 oranında kaybolmaktadır. Bu skafold vücut tarafından emilebilen, yumuşak ama bir hayli elastik, yırtılmaya karşı dayanıklı bir materyaldir. Kıkırdak hasarı olan bölgeye göre şekil verilip istenildiği şekilde kesilebilir ve gerekli görüldüğünde pinle, dikiş ipliği ya da fibrin yapıştırıcı ile istenilen eklem yüzüne sabitlenebilmektedir (94).

Piyasada halen kullanılan bir çok skafold veya matriks ürünü bulunmaktadır. Chondrogide (Geistlich Pharma, Wolhusen, İsviçre) ve Maix (Matricel, Hezzenrath, Almanya) domuz kaynaklı tip I ve tip III kollajenden oluşan iki katmanlı bir membrandır. Hyaff 11 (Fidia Advanced Biopolymers Laboratories, Abano Terme, İtalya) hyaluronik asitin benzilik esteridir. BioSeed (Biotissue Technologies, Freiburg, Almanya) mekanik olarak dengeli ancak biyobozunur bir polimer jel kullanmaktadır. CaReS (Arthro Kinetics, Esslingen, Almanya) tip I kollajen jel matriks içine yerleştirilen otolog kondrositler ile elde edilen bir implanttır. BioCart TM II (ProChon Biotech Ltd, Ness Ziona, İsrail) fibrin hyaluronan matriks ve üretilmiş kondrositlerden oluşmaktadır. Cartipatch (Tissue Bank of France, Lyon, Fransa), agaroz-aljinat hidrojel doku iskeletidir. Atelocollagen (Koken Co. Ltd, Tokyo, Japonya) tip I kollajen jeldir. NeoCart (Histogenetics Co, Waltham, MA, ABD) tip I kollajen matriks üzerine ekilmiş kondrosit kullanmaktadır (92).

Nehrer ve ark. (98) semptomatik kronik kıkırdak hasarı olan sekiz hastaya fibrin-hyaluronan yapılı üç boyutlu skafold (BioCartTMII ProChon BioTech Ltd., Ness Ziona, Israel) ile birlikte otolog kondrosit implantasyonu tedavisini uygulamışlardır. Lezyonların büyüklüğü 1 cm² ile 8 cm² arasında ve derinliği 5 mm imiş. Hastaları ortalama 1 yıl takip ederek, IKDC, Lysholm ve MOCART (Magnetic resonance observation of cartilage repair tissue) skorlamasını yapmışlardır. Takip sonucunda klinik skorlarda artış izlenmiştir. MRI skorlamasında ise tüm hastalarda defektin dolumunun iyi olduğunu ve kıkırdak imajı görüntülerinin oluştuğunu, üç hasta da ise geçici efüzyon olduğunu bildirmişlerdir. Fibrin hyaluronan matriks; homolog fibrinojen ve rekombinant hyaluronan ortak polimeridir. Polimerizasyon sonrasında liyofilize edilmektedir. Üretimde otolog serum ve büyüme faktörleri kullanılmaktadır. Santimetre kareye 400.000 hücre ekilmekte ve fibrin yapıştırıcı ile yapıştırılmaktadır. BioCart(TM) II fibrin hyaluronan iskelet ve otolog kondrositlerden oluşmaktadır (106).

Loken ve ark. (99) 11 adet tavşanın her iki diz medial femoral kondilinde 4 mm genişliğinde 1.5 mm derinliğinde osteokondral defekt oluşturmuşlardır. Her ratın bir dizine

hyaluronan skafold (HYAFF-11, Fidia Advanced Biopolymers Laboratories, Abano Terme, İtalya) ile birlikte MSC (mesenchymal stem cells) uygulamışlar, karşı dizine sadece skafold uygulamışlardır. 24 hafta takip edilen hayvanların yaşamı sonlandırıldıktan sonra histolojik olarak patoloğ tarafından kör bir şekilde değerlendirilmiştir. Defektlerde yüksek oranda dolum tespit edilmiş fakat her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bununla birlikte MSC grubunda kırıldak tamirinin daha kaliteli olduğunu bildirmişlerdir. Hyaff 11 hyaluronik asitin benzilik esteridir. Yirmi mikrometre kalınlığında liflerin oluşturduğu değişken aralıklara sahip bir dokumadır. Hücre tutunmasına, grup oluşturmaya ve ara madde sentezlemesine destek olmaktadır (100). Kondrositlerin üretilerek üzerine ekilmiş hali Hyalograft C (Fidia Advanced Biopolymers, Abano Terme, İtalya) adıyla pazarlanmaktadır (101). Kondrosit kültürü sırasında rekombinan insan büyüme faktörleri de kullanılmaktadır. Sekiz milyon hücre ekilerek teslim edilmektedir. Hyaluronik asit esterleri membranın kondrosit tutunmasını desteklediği ve yerleşen kondrositlerin tip II kollajen ve agrekan sentezlediği, tip I kollajen sentezinin ise baskılandığı gösterilmiştir (100). Hyalograft C defekte sıkıştırılarak tespit edilebilmektedir. Ayrıca dikişe ihtiyaç duyulmamaktadır. Bu nedenle artroskopik olarak da uygulanabilmektedir. On iki aylık histolojik incelemelerde hiyalin benzeri kırıldak elde edildiği bildirilmiştir (101).

Bachelin (93) tarafından yapılan bir çalışmada da 2003-2010 arasında 43 hastaya ACT (autolog chondrocyte transplantation), 27 hastaya AMIC (autologous matrix induced chondrogenesis) tedavisi uygulamışlardır. Bu 70 olgunun 30 tanesi 5 yıl boyunca takip edilmiştir. 25 olgu da çok iyi sonuç, 4 olgunun iyi sonuç fakat sportif faaliyetlerle şikayeti varmış, 1 olgu da ise sportif faaliyetler kısıtlanmıştır. AMIC tedavisinde çeşitli matrisler uygulanabilmektedir. Bu çalışma da PGA yapılı skafold (ACS (Alpha Chondro Shield), Alpha Research®) kullanılmıştır. Bu skafold sentetik, poliglikolik asit yapılı, esnek ve yırtılmaya dayanıklıdır. Mezenşimal kök hücreleri defekt bölgesine toplamakta, mekanik bir koruma sağlamakta ve destek fonksiyonu görmektedir. 3-4 hafta içinde farklılaşmaya başlar ve 3 ay içinde tamamen emilmektedir. Yapısı tam sentetik 3-5 mikron kalınlığında liflerden oluşmaktadır (93).

Erggelet ve ark. (12) yaptığı bir çalışmada koyun dizinde oluşturulan osteokondral defekt modelinde mikrokirik ve PGA yapılı skafoldun etkinliği araştırılmıştır. Bir gruba sadece mikrokirik yapmışlardır. Diğer gruba ise mikrokirik işlemi sonrası PGA yapılı hücresiz serbest eklem implantını otolog serum ve hiyaluronan ile bir araya getirilerek tam

kalınlıkta ki defekte serbest sütür mayeryali ile implante etmişlerdir. Üç ay sonra kıkırdak onarım dokusunun histolojik incelemesini yapmışlardır. Mikrokırık ile tedavi edilen grupta hiçbir tamir dokusu oluşumu görülmemiştir. Otolog serum içeren hücresiz kıkırdak implantında hiyaluronan ve PGA'in kıkırdak rejenerasyonu için mezenşimal progenitör hücrelerin migrasyon ve farklılaşma özelliğini kullandığını bildirmişler ve mikrokırık sonrası kıkırdak defektlerinin tedavisinde iyi bir yöntem olduğunu göstermişlerdir.

Nagura ve ark. (102) atmış adet, her biri yaklaşık 3.3 kg olan tavşanların sağ dizinde, femoral trohlear bölgesinde OATS (Osteochondral Autograft Transfer System) setini kullanarak 5 mm genişliğinde ve 5 mm derinliğinde osteokondral defekt oluşturmuşlardır. 30'ar adet tavşandan oluşan iki grup oluşturmuşlardır. Gruplardan biri PLG skafold (poly DL lactide co-glycolide) ile tedavi edilen grup, diğeri ise kontrol grubudur. Hayvanları 1,3,6,12 ve 24 ay arayla takip etmişler ve histolojik ve makroskopik skorlamasını yapmışlardır. PLG skafold grubunda eklem yüzeyinin daha düzgün olduğunu, subkondral alanda yeni kemik oluştuğunu ve defektin dolumunun daha iyi olduğunu gözlemişlerdir. Kontrol grubunda ise eklem yüzeyinin düzensiz olduğunu ve defekt dolumunun yetersiz olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak PLG skafold grubunun skorları, kontrol grubuna göre daha anlamlı bulunmuştur.

Gille ve ark. (103) elli yedi hastanın dizlerinde bulunan osteokondral lezyona AMIC tedavisini uygulamışlardır. Bu teknikte mikrokırık ile birlikte kollajen yapılı skafold (Chondro-Gide, Geistlich Pharma, Switzerland) uygulanmıştır. Yaş ortalaması 37.3, defekt çapını ortalama 3.4 cm² ve Outerbridge sınıflamasına göre grade 3-4 olarak bildirmişlerdir. Ortalama 2 yıl takip edilen hastaların çoğunluğunun ameliyat sonrası ağrı skorunda azalma olduğunu (VAS ameliyat öncesi = 7.0 ortalama; 1 yıl postop = 2.7; 2 yıl postop = 2.0), ortalama Lysholm skorunda artış olduğunu rapor etmişlerlerdir (preop. 50.1, 1 yıl postop. 79.9, 2. yıl postop. 85.2). Sonuçta AMIC yönteminin diz semptomatik kıkırdak defektlerinde etkili ve güvenli bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Chondrogide domuz kaynaklı tip I kollajenden oluşan düzgün ve tip III kollajenden oluşan pürüzlü yüzeye sahip bir membrandır (104). Hücre ekilerek pazarlanan hali MACI'dir (Verigen, Leverkusen, Almanya) (105). Tip I/III kollajen membranda hücre farklılaşması hyaluronana kıyasla daha geç, tip II kollajen sentezi daha az olmakta, ancak hücre dizilimi doğal kıkırdağa daha çok benzemektedir. Hyaluronan ve jelatinde ise hızlı farklılaşma ve yüksek miktarda tip II kollajen sentezi olmaktadır. Fakat hücre dağılımı doğal kıkırdağa benzememektedir (106).

Bark ve ark. (107) femoral kondilinde Outerbridge grade 4 kıkırdak hasarı olan profesyonel bir futbol oyuncusuna gelişmiş bir mikrokırık tekniği olan AMIC tedavisi uygulamışlardır. Kıkırdak lezyonunun çapı 3 cm² büyüklükteymiş. Mikrokırık üzerine kollajen skafoldu fibrin yapıştırıcı ile sabitlemişlerdir. Hasta 10 ay sonra futbola tekrar başlamıştır. 12 ay sonra diz fonksiyonları tamamen düzelmiş ve Lysholm skoru 90 puan olarak bildirilmiştir.

Andereya ve ark. (108) patellafemoral kıkırdak hasarı olan 14 hastaya 3 boyutlu kollajen jel skafold (CaReS; Arthro Kinetics, Esslingen, Almanya) uygulamışlardır. Hastaları 2 yıl takip etmişler ve sonuçları ICRS, IKDC ve Brittberg skorlama sistemleri ile değerlendirmişlerdir. Sonuçlar preoperatif değerlendirmeye göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Hastaların %85'nin sonucu çok iyi veya iyi olarak değerlendirilmiştir. CaReS tip I kollajen jel matriks içine yerleştirilen otolog kondrositler ile elde edilen bir implanttır. Fibrin yapıştırıcı ile yapıştırılmaktadır.

Almqvist ve ark. (109) dizlerinde kıkırdak ve osteokondral lezyonları olan yirmi bir hastayı insan olgun allojenik kondrositlerini ihtiva eden, biyolojik olarak parçalanabilen, alginat bazlı biyo uyumlu skafold (Cartipatch; Tissue Bank of France, Lyon, Fransa) ile tedavi etmişlerdir. Yirmi bir hasta klinik ve prospektif Western Ontario ve McMaster Üniversiteleri Osteoartrit İndeksi (WOMAC) ve ağrı için Visual Analog Skalası (VAS) ameliyat öncesi ve 3, 6, 9, 12, 18, ve 24. ay da değerlendirilmiştir. 21 hastanın, 13'ünden biyopsi örneği alınmış ve tamir dokusunun histolojik yapısı değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı klinik iyileşme 6 ay sonra ortaya çıkmış, ve hastaların izlemi 24 ay boyunca devam etmiştir. Allojenik kıkırdak hücreleri ile aljinat-fibrin skafold arasında yan etki gözlenmemiştir. Biyopsi örneklerinin histolojik analizi %30.8 fibrokartilaj olarak, %46.2 karışık doku olarak, örneklerin %15,3'ü hiyalin benzeri tamir dokusu olarak bildirilmiştir. Sonuç olarak insan olgun allojenik kondrositlerini içeren aljinat tabanlı skafold ile diz semptomatik kıkırdak defektlerinin tedavisinin mümkün olduğu, fakat açıklanan tekniğin diğer kıkırdak onarım tekniklerinden daha üstün olmadığı bildirilmiştir. Cartipatch skafold agaroz-aljinat hidrojel doku iskeletidir. Agaroz – aljinat hidrojel süspansiyonunun 1 ml'sinde 10 milyon kondrosit bulunmaktadır. Yosunlardan elde edilir. Kalite garantisi için yaşayan hücre oranı, mikrobiyolojik tetkik ve tip II kollajen ve aggregan varlığı için immünohistokimyasal incelemeden geçmektedir (110).

Crawford ve ark. (111) tam kat kıkırdak yaralanması olan sekiz hastayı tip I kollajenden oluşan skafold (NeoCart (Histogenetics Co, Waltham, MA, ABD) ile tedavi etmişler ve prospektif olarak değerlendirmişlerdir. Artroskopik biyopsi ile alınan otojen kondrosit üç boyutlu skafold içine ekilmiştir. Skafold, bir biyoreaktör ile işlenerek doku mühendisliği protokolüne tabi tutulmuştur. Hazırlanan kıkırdak doku implantı mini artrotomi ile kıkırdak hasarı olan bölgeye uygulanmıştır. Hastalar 24 ay boyunca izlenmiş ve postoperatif öznel IKDC Skalası, VAS Skalası, eklem hareket açıklığı ve radyolojik olarak değerlendirilmiştir. NeoCart implantasyonu sonrası ağrı skorları 12 ve 24. ayda başlangıca göre anlamlı derecede düşmüştür. Gelişmiş fonksiyon ve hareket de 24. ayda kaydedilmiştir. Altı hastanın 24. ay da çekilen MRG değerlendirmesinde iyi (% 67 ile % 100) derece dolum varmış. Bir hastada orta (% 33 -% 66) derece dolum, ve diğer hasta da kötü derece (< % 33) dolum varmış. Hiçbir hasta da artrofibrozis veya implant hipertrofisi yaşanmamıştır. Sonuç olarak Yirmi dört ay takipte sekiz hastanın altısında stabil implant, periferik entegrasyon, defektin dolması, ilerleyici olgunlaşma ve organize kıkırdak oluşumu izlenmiştir.

Çalışmamızda kullanılan biomimetik skafold ve kondral skafoldu karşılaştıracak olursak; biomimetik skafold grubunda kıkırdak yapısının hyaline daha yakın olduğu, defekt dolumunun ve defekt yüzeyinin daha iyi olduğu ve biomimetik skafold grubunda istatistiksel olarak ileri derece anlamlı farklılık olduğu görülmüştür ($p<0.001$). Kondral skafoldun etkinliğine bakacak olursak; mikrokırık ve kontrol grubuna göre rakamsal olarak ortalama değerleri daha iyi bulunmuştur. Biomimetik skafold ve kondral skafold grubunda, diğer gruplara göre eklem yüzeyinin daha düzgün olduğu, subkondral alanda yeni kemik oluştuğu ve defektin dolumunun daha iyi olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda ise eklem yüzeyinin düzensiz olduğu ve defekt dolumunun yetersiz olduğu gözlenmiştir.

Literatürde skafold kullanılan grupların; klinik skorlarında artış izlendiği, kıkırdak tamirinin daha kaliteli olduğu, mezenşimal kök hücreleri defekt bölgesine topladığı, mekanik bir koruma sağladığı ve destek fonksiyonu gördüğü, eklem yüzeyinin daha düzgün olduğu, subkondral alanda yeni kemik oluştuğu ve defektin dolumunun daha iyi olduğunu gözlemlemişler. Bu sonuçlara bakacak olursak her iki skafoldun etkinliği de literatürle uyumlu olarak bulunmuş ve bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Dizin tam kat kırıkta lezyonlarında mikrokırık yönteminin etkili olduğu gösterilmiştir (112, 113). Mikrokırık yöntemi, sterotip damarlanmaya yol açan kemik iliği uyarılması işlemidir. Subkondral kemiğin delinmesi sonrasında biyolojik yanıt oluşturulur ve subkondral kemik plağının penetrasyonu defekt içinde pıhtı oluşumuna yol açmaktadır (9). Kemik iliğinden kaynaklanan pluripotent mezenkimal kök hücrelerinden oluşan bu pıhtı, değişen miktarlarda tip 2 kollajen içeren karışık fibrokırıkta tamir dokusunu üretmektedir (65, 76). Onarılan dokunun kalitesi tartışma konusudur. Kondral lezyonların tedavisinde kemik iliği stimülasyon teknikleri ile ilgili sorun tamir dokusunun dayanıklılığıdır. Bu gibi prosedürlerden sonra görülen kırıkta doku normal eklem kırıkta doku yapısı ve kompozisyonu veya mekanik özellikleri ile aynı değildir (112).

Heir ve ark. (114) 22 haftalık Yeni Zellanda tavşanlarının medial femoral kondilinde 4 mm çapında deneysel osteokondral defekt modeli oluşturmuşlardır. Bu defektleri mikrokırık ve mozaikplasti tekniğini uygulayarak tedavi etmişler ve bu iki tekniğin sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Hayvanların yaşamına 12, 24 ve 36. ay da son verilmiştir. Histopatolojik olarak defekt dolumu, yeni kemik oluşumu ve subkondral kemik mineralizasyonunu açısından karşılaştırmışlardır. Mozaikplasti tekniğinin sonuçlarının daha iyi olduğu, yüksek oranda defekti doldurduğu ve yeni kemik oluşturduğu fakat subkondral kemik mineralizasyonun mikrokırıkta daha iyi olduğunu belirtmişlerdir.

Güneş ve ark. (115) kırık adet olgun tavşanın sağ medial femoral kondillerinin yük binen yüzeyinde 4 mm çapında tam kalınlıkta kırıkta defekti oluşturmuşlardır. Denekler rastgele yöntemle eşit sayıda dört gruba ayrılmıştır. Kontrol grubunda sadece defekt yaratılıp, herhangi bir işlem uygulanmamıştır. İki gruba periost flebi transplantasyonu veya mikrokırık uygulanmıştır. Son grupta ise mikrokırık ve periost flebi birlikte uygulanmıştır. Ameliyat sonrasında tüm tavşanlara iki hafta immobilizasyon uygulanmıştır. Ameliyat sonrası 12. haftada tüm hayvanların yaşamı sonlandırılarak, çıkarılan örnekler ICRS skalasına göre değerlendirilmiştir. Kombine tedavi grubunun (mikrokırık ve periost transplantasyonu birlikte) Mikrokırık veya periost flep tekniklerinin tek başına kullanımıyla karşılaştırıldığında, tamir kalitesinde daha belirgin artış meydana getirdiği görülmüş ve kombine tekniğin kırıkta defektlerinin tedavisinde daha etkin olduğunu bildirmişlerdir.

Brian ve ark. (116) hayvanların femoral trohlear bölgesinde oluşturulan 6 mm lik tam kat kırıkta hasarı modelinde mikrokırık ve PTH'un (parathormon) kırıkta iyileşmesi

üzerine etkinliğini incelemişlerdir. Araştırmacılar dört grup oluşturmuşlardır. 1. grup yalnızca mikrokırık uygulanan grup, 2. grup mikrokırık ve 10 µg/kg human recombinant PTH verilen grup (7 gün), 3. grup mikrokırık ve 10 µg/kg human recombinant PTH verilen grup (28 gün), 4. grup ise SF verilen kontrol grubu olarak oluşturulmuştur. Hayvanlar 3 ay sonra sakrifiye edilerek, makroskopik ve histopatolojik olarak incelenmiştir. Yalnızca mikrokırık uygulanan grupta makroskopik ve histopatolojik olarak daha iyi iyileşme gözlenmiştir. 1 ya da 4 hafta PTH ile tedavi edilen grupta kırık iyileşmesinin yetersiz olduğu görülmüştür. Sonuç olarak bu çalışma da PTH uygulamasının kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etki yaptığını ve kırık iyileşmesinde de dikkatli kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Wang ve ark. (117) hayvanlarda oluşturdukları deneysel tam kat kırık defekti modelinde bir gruba sadece mikrokırık diğer gruba mikrokırık ve düşük enerjili şok dalga tedavisi uygulamışlar ve tedavi uygulanmayan bir de kontrol grubu oluşturmuşlardır. Deneklerin medial femoral kondillerine 4.5 mm lik defekt oluşturmuşlardır. Mikrokırık deliklerini 1 mm lik derinlikte ve 2-3 mm aralıklarla yapmışlardır. 12 hafta sonra hayvanların yaşamına son verilerek, sonuçları stereolojik, histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelemişlerdir. Şok dalga ve mikrokırık ile tedavi edilen grupta defekt bölgesinin tamir dokusu ile dolduğunu, fakat kontrol grubunda hiç dolum olmadığını bildirmişlerdir. Onarım dokusunun proteoglikan, tip II kollajen ve kondrosit içeriğinin mikrokırıkla birlikte şok dalga tedavisi uygulanan grupta daha fazla olduğunu, yalnızca mikrokırık uygulanan grupta ise fibröz doku oluştuğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak şok dalga tedavisinin kırık iyileşmesini olumlu etkilediğini, mikrokırık tedavisinin tek başına kırık iyileşmesinde yetersiz olduğunu ve mikrokırıkla birlikte ek tedavilere ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir.

Kuo ve ark. (118) oluşturdukları tam kat kırık defekti modelinde; kontrol, mikrokırık, BMP-7 (bone morphogenetic protein 7), mikrokırık ile birlikte kollajen süngere emdirilmiş BMP-7 ve mikrokırık ile birlikte kollajen sünger uygulanan grup olmak üzere 5 grup oluşturarak tedavi uygulamışlardır. Oluşan tamir dokusunu histopatolojik olarak ICRS skorlama sistemi ile karşılaştırmışlardır. Gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BMP-7 grubu tamir dokusunun kalitesini etkilemeden onarım dokusunun miktarını artırmıştır. Mikrokırık ile birlikte BMP-7 uygulanan grupta tamir dokusunun hem yüzey düzgünlüğü, hem de miktarı artmıştır. Sonuç olarak kombine tedavi uygulanan grupta (mikrokırık ve BMP-7 uygulanan grup) oluşan kırık kalitesinin daha iyi olduğunu belirtmişlerdir. Mikrokırık eklem kırığı yaralanmaları tedavisinde kullanılan, ancak daha çok fibrokartilaj

oluşumunu sağlayan bir yöntemdir. Yazarlar BMP-7'nin kıkırdak farklılaşmasını indüklediğinden, mikrokırık ile beraber uygulanması oluşan kıkırdağın nicelik ve nitelik bakımından hyalin kıkırdağa daha çok benzediğini bildirmişlerdir.

Xing ve ark. (119) ratların dizlerinde yapılan deneysel tam kat kıkırdak defektini mikrokırık ve osteokondral yapıştırıcı implant kullanarak tedavi etmişlerdir. Denekleri 12 hafta takip ettikten sonra yaşamlarını sonlandırarak, makroskopik, histolojik, biyokimyasal ve gen ekspresyon analizini yapmışlardır. Kıkırdak dokusu her iki grupta da yavaş yavaş yeniden oluşmaya başlamıştır. Osteokondral yapıştırıcı implant grubunda tamir dokusu daha kalın ve defekt dolumu yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu grupta hyalin benzeri rejeneratif doku ve Safranin-O ile boyama da yüksek tip II kollajen yapısı izlenmiştir. Mikrokırık grubunda ise fibrokartilaj doku ve Safranin-O ile kötü boyanma ve tip II kollajenden fakir bir yapı izlenmiştir. Kontrol grubunda makroskopik olarak yüksek oranda dolum defekti görülmüştür. Biyokimyasal olarak GAG ve DNA içeriği her iki grupta da normal bulunmuştur. Sonuç olarak mikrokırık ile kombine edilen osteokondral yapıştırıcı implantın tamir dokusunun kalitesini ve hyalin kıkırdak oluşumunu olumlu etkilediğini belirtmişlerdir.

Bulut ve ark. (9) femoral kondilde kıkırdak hasarı nedeniyle mikrokırık yöntemi uygulanan 26 hastayı retrospektif olarak incelemişlerdir. Hastaların 15 tanesi erkek, 11 tanesi bayan, yaş ortalaması 37.2, ortalama defekt alanı 1.6 cm², ortalama takip süresi 24.3 ay imiş. Hastalar ameliyat öncesi ve sonrası subjektif hasta memnuniyeti ve Lysholm skalasına göre değerlendirilmiştir. Lysholm skoruna göre, 9 (%34.6) olguda mükemmel, 7 (%27) olguda iyi, 10 (%38.4) olguda orta sonuç elde edilmiştir. Sonuç olarak iyi ve mükemmel sonuçlanan hastaların aktif, genç ve semptom sürelerinin daha kısa ve lezyon alanının daha küçük olduğu gözlenmiştir. Kıkırdak lezyonlarının tedavisinde erken yapılan mikrokırık tedavi yönteminin, günlük aktivitelere geri dönüşü hızlandıran, maliyeti düşük, etkili ve başarılı bir tedavi seçeneği olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda mikrokırık tekniğinin etkinliği literatürle uyumlu olarak bulunmuştur. Literatürde mikrokırık tekniğinin tek başına normal ve sağlam bir eklem kıkırdağı oluşturmasının mümkün olmadığı, tedavinin başarı şansını artırmak için ek tedavilere ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda da kombine grupla (kondral skafold +mikrokırık), mikrokırık grubu karşılaştırıldığında rakamsal olarak kondral skafoldun ortalama değerlerinin mikrokırık grubuna göre daha iyi olduğu görülmüştür.

Literatürdeki çalışmalarda genel olarak skafold kullanılan grupların sonuçları hem mikrokırık, hem de kontrol grubunun sonuçlarına göre daha iyi olduğu görülmüştür. Bu çalışmada da biomimetik skafold ve kondral skafold kullanılan grupların mikrokırık ve kontrol gruplarına göre daha iyi sonuçları olduğu, ve biomimetik skafoldun kırık iyileşmesi üzerine etkinliği diğer üç gruba göre daha iyi olduğu gösterilmiştir.

Kondral skafold çeşitli çalışmalarda kullanılmış ve bu çalışmaların çoğunda etkili olduğu yönünde sonuçlar bildirilmiştir. Skafold uygulaması ile ilgili literatürde pek çok çalışma yer almasına rağmen kondral skafold uygulaması ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (12, 93). Çalışmamızda kondral skafoldun osteokondral defekt modelinde histopatolojik olarak mikrokırık ve kontrol gruplarına göre kondroprotektif açıdan olumlu etkilere sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Biomimetik skafold osteokondral defektlerde kırık iyileşmesi üzerine etkinliği bilinen ve standart tedavi seçenekleri arasında yerini almış bir yapıdır. Günümüzde çeşitli skafold materyallerinin klinik olarak kırık hasarı tedavisinde kullanıldığını bildiren çok sayıda araştırma vardır, fakat biomimetik skafold, kondral skafold ve mikrokırık yöntemini bir arada karşılaştıran çalışma yoktur. Biomimetik skafoldun üç boyutlu yapısı, eklem kırık ve kemik yapıyı taklit edebilen özelliği sayesinde büyük osteokondral defektlerin tamirinde güvenle kullanılabilecek bir yapı olduğu kanaatindeyiz.

6. SONUÇ

Ratlarda oluşturulan deneysel osteokondral defekt modelinde biomimetik skafold, kondral skafold ve mikrokırık uygulamasının etkinliklerini, makroskopik olarak Modifiye Fortier sınıflaması, histopatolojik olarak Mankin ve ICRS skorlamasını kullanarak karşılaştırdık. Biomimetik skafold uygulanan tedavi grubunun makroskopik ve histopatolojik olarak skorları, kondral skafold, mikrokırık ve tedavi edilmeyen kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ileri derece anlamlı farklılığı vardır ($p<0.001$). Kondral skafold, mikrokırık ve kontrol gruplarının tedavi etkinliği birbiriyle karşılaştırıldığında, skorlarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmamakla ($p>0.05$) birlikte, kondral skafold grubunun skorlarının mikrokırık ve kontrol grubunun skorlarından rakamsal olarak daha iyi olduğu görülmüştür. Aynı şekilde mikrokırık ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, mikrokırık grubunun skorlarının kontrol grubundan daha iyi olduğu görülmüştür.

Mevcut çalışmamız osteokondral defekt tedavisinde biomimetik skafold ve kondral skafoldun olumlu etkisini göstermiştir. Osteokondral defekt tedavisinde etkisi daha önce yapılan çalışmalarda kabul edilmiş mikrokırık yönteminin tek başına kırık iyileşmesinde yetersiz kaldığı, biomimetik skafoldun defekt dolumunun daha iyi olduğu ve kırık yüzeyinin daha düzgün olduğu, kontrol grubunun ise defekt dolumunun yetersiz olduğu ve kırık yüzeyinin düzgün olmadığı görülmüştür.

Biomimetik skafold üç boyutlu yapısı, eklem kırıkdağını ve kemik yapıyı taklit edebilen özelliği sayesinde büyük osteokondral defektlerin tamirinde güvenle kullanılabilecek alternatif bir metod olarak değerlendirilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Bedi A, Feeley BT, Williams RJ 3rd. Management of articular cartilage defects of the knee. *J Bone Joint Surg Am.* 2010; 92: 994-1009.
2. Günay C, Sağlıyan A, Ünsaldı E, Yaman M. Köpek Diz Eklemine Deneysel Oluşturulan Osteokondral Defektlerin Otojen Kansellöz Gref İle Onarılması. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi.* 2005; 19, 107- 113.
3. Birinci B, Öztürk AM, Tabak AY, Aktekin CN, Korkusuz P, Korkusuz F. Prostaglandin E2 and hyaluronic acid facilitates treatment of osteochondral defects. *Joint Dis Rel Surg* 2008; 19(2):78-83.
4. Bekkers JE, Inklaar M, Saris DB. Treatment selection in articular cartilage lesions of the knee: a systematic review. *Am J Sports Med* 2009; 37 Suppl 1:148S-55S.
5. Aynacı O, Saraçoğlu M, Gedikli İ, Turhan AU, Çobanoğlu Ü; The treatment of osteochondral defects with autologous osteochondral and apophyseal grafts in animal models. *Joint Dis Rel Surg.* 2008; 19(3):119-126.
6. Sağlıyan A, Karabulut E, Ünsaldı E, Yaman I. Evaluation of the activity of intraarticular hyaluronic acid in the repair of experimentally induced osteochondral defects of the stifle joint in dogs. *Veterinarni Medicina.* 2009; 54(1): 33–40.
7. Solchaga LA, Yoo JU, Lundberg M, Dennis JE, Huibregtse BA, Goldberg VM, Caplan AI. Hyaluronan-based polymers in the treatment of osteochondral defects. *J Orthop Res.* 2000; 18(5):773-80.
8. Kon E, Mutini A, Arcangeli E, Delcogliano M, Filardo G, Nicoli Aldini N, Pressato D, Quarto R, Zaffagnini S, Marcacci M. Novel nanostructured scaffold for osteochondral regeneration: pilot study in horses. *J. Tissue Eng Regen Med.* 2010; 4(4):300–308
9. Bulut M, Tosun B, Serbest S, Palancı Y, Yılmaz E. Diz kırık lezyonlarında mikrokirik tedavi yöntemi sonuçları ve sonuca etki eden faktörler. *Dicle Tıp Dergisi* 2011; 38 (4): 405-411
10. Tampieri A, Sandri M, Landi E, Pressato D, Francioli S, Quarto R, Martin I. Design of graded biomimetic osteochondral composite scaffolds. *Biomaterials.* 2008; 29(26), 3539-3546
11. Panseri S, Russo A, Cunha C, Bondi A, Di Martino A, Patella S, Kon E. Osteochondral tissue engineering approaches for articular cartilage and subchondral bone regeneration. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy.* 2012; 20(6):1182-91.

12. Erggelet C, Neumann K, Endres M, Haberstroh K, Sittering M, Kaps C. Regeneration of ovine articular cartilage defects by cell-free polymer-based implants. *Biomaterials*. 2007; 28(36): 5570–5580
13. Sophia Fox AJ, Bedi A, Rodeo SA. The basic science of articular cartilage: Structure, composition, and function. *Sports Health*. 2009; 1(6): 461-468.
14. Doral MN, Dönmez G, Atay ÖA, Bozkurt M, Leblebicioğlu G, Üzümcügil A, Aydoğ T. Dejeneratif Eklem Hastalıkları. *TOTBİD Dergisi*. 2007; Cilt:6, Sayı:1-2: 56-65.
15. Karagöl C, Aydın AT, Gür S, Denkçeken T, Canpolat M. An optical method for investigation of thickness of damaged articular cartilage. *Eklem Hastalik Cerrahisi*. 2010; 21(2):104-9.
16. Lee JH, Kisiday J, Grodzinsky AJ. Tissue-engineered versus native cartilage: linkage between cellular mechano-transduction and biomechanical properties. In: Bock G, Goode J (Eds): *Tissue Engineering of Cartilage and Bone*. Wiley, Chichester (Novartis Foundation Symposium 249), 2003, pp 52-69.
17. Wong M, Carter DR. Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective. *Bone* 2003;33:1-13.
18. Hunziker EB, Quinn TM, Hauselmann HJ. Quantitative structural organization of normal adult human articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage* 2002; 10:564-72.
19. Mow VC, Sugalski MT. Physiology of synovial joints and articular cartilage. In: Gonzales Eg, Myers SJ, Edelstein JE, Lieberman JS, Downey JA (Eds): *Physiological Basis of Rehabilitation Medicine*. 3rd ed. Butterworth- Heinemann, Woburn, 2001, pp 133-168.
20. Brinker MR, O'Connor DP. Temel Bilimler. Çeviri Ed: Yazıcı M, Yetkin H. Miller'in Ortopedi Kitabı. 4. Baskıdan çeviri. Sayfa:44-66. Akademi Doktorlar Yayınevi, Ankara, 2006.
21. Mainil-Varlet P, Aigner T, Brittberg M, Bullough P, Hollander A, Hunziker E, Kandel R, Nehrer S, Pritzker K, Roberts S, Stauffer E. Histological assessment of cartilage repair: a report by the Histology Endpoint Committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS). *J Bone Joint Surg Am*. 2003;85:45-57.
22. Williams III RJ. *Cartilage Repair Strategies*. Humana Press Inc, Totowa, New Jersey, 2007, pp. 1-12.
23. Mollenhauer JA. Perspectives on articular cartilage biology and osteoarthritis. *Injury*. 2008;39 Suppl 1:S5-12.

24. Tyyni A, Karlsson J. Biological treatment of joint cartilage damage. Scand J Med Sci Sports. 2000; 10(5): 249-265.
25. Treadwell BV, Mankin HJ. The synthetic processes of articular cartilage. Clin Orthop. 1986; 213: 50-61.
26. <http://tip.baskent.edu.tr/egitim/mezuniyetoncesi/calismagrp/ogrsmpzsnm12/11.1.pdf>.
Erişim tarihi 06.08.2013
27. Nelson DL, Cox MM. Carbohydrates and Glycobiology Glycoconjugates: Proteoglycans, Glycoproteins and Glycolipids. In Nelson DL, Cox MM (ed.). Lehninger Principles of Biochemistry. W.H. Freeman Custom Publishing. Fourth edition. 2005; 238-272
28. Buckwalter JA. Kas-İskelet Sistemi ve Dokuları. Çeviri Ed:Alpaslan AM. Turek Ortopedi İlkeler ve Uygulamaları. 6. Baskıdan çeviri. Sayfa:1-57. Güneş Tıp Kitabevleri 2009.
29. Ünite 6 Kıkırdak dokusu. www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/EHSM/1219/unite07. Erişim tarihi 19.05.2005.
30. Jungueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Basic Histology. Eighth ed., Beta A.Ş, İstanbul, pp.124-131, 1998.
31. Weinstein SL and Buckwalter JA. Turek's Orthopaedics principles and their application. Sixth ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp.26-31, 2005.
32. Wakitani S, Kawaguchi A, Tokuhara Y, Takaoka K. Present status of and future direction for articular cartilage repair. J Bone Miner Metab. 2008; 26(2): 115-122.
33. Browne JE, Branch TP. Surgical Alternatives for Treatment of Articular Cartilage Lesions. J Am Acad Orthop Surg. 2000; 8(3): 180-189.
34. Bhosale AM, Richardson JB. Articular cartilage: structure, injuries and review of management. Br Med Bull. 2008;87:77-95.
35. Birinci B. Rat dizlerinde oluşturulan osteokondral defektlerin PGE2 ile tedavisi. Uzmanlık Tezi. Ankara 2006.
36. Tuncer S. Eklem Kıkırdağının Mekanobiyolojisi. Türk Geriatri Dergisi. 2011; Sayı 4: 15-18.
37. Mow VC, Wang CC, Hung CT. The extracellular matrix, interstitial fluid and ions as a mechanical signal transducer in articular cartilage. Osteoarthritis Cartilage. 1999;7(1):41-58.

38. Chhhabra A, Katolik LI, Pavlovich R, Cole BJ, Miller MD. Spor Hekimliği, Çeviri Ed: Yazıcı M, Yetkin H. Miller'ın Ortopedi Kitabı. 4. Baskıdan çeviri, sayfa: 203-224, Akademi Doktorlar Yayınevi, Ankara, 2006.
39. Mahmutoglu AS. Diz ekleminde geç dönem kondropatilerin bölgelere göre tanısı ve sınıflandırılmasında MRG'nin etkinliği. Uzmanlık tezi. İstanbul 2006.
40. Buckwalter JA. Chondral And Osteochondral Injuries: Mechanisms Of Injury And Repair Responses. Oper Tech Orthop. 1997; 7(4): 263-269.
41. 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.
42. Yılmaz C. Kıkırdak yaralanmalarının tedavisi TOTBİD Dergisi 2010;9(3):115-121
43. International Cartilage Repair Society Cartilage Injury Evaluation Package. Developed during ICRS 2000 Standards Workshop: January 27-30, 2000; Schloss Münchenwiler, Switzerland; 2000.
44. Goldberg VM, Caplan AI. Biologic restoration of articular surfaces. Instr Course Lect 1999;48:623-627
45. O'Driscoll SW. The healing and regeneration of articular cartilage. J Bone Joint Surg Am. 1998; 80:1795-1812
46. Mason JM, Breitbart AS, Barcia M, Porti D, Pergolizzi RG, Grande DA. Cartilage and bone regeneration using gene-enhanced tissue engineering. Clin Orthop. 2000; 379:S171- S178
47. Mitchell N, Shepard N. Healing of articular cartilage in intraarticular fractures in rabbits. J Bone Joint Surg Am. 1980; 62:628-634
48. Schulz RM, Bader A. Cartilage tissue engineering and bioreactor systems for the cultivation and stimulation of chondrocytes. Eur Biophys J. 2007; 36(4-5):539-568
49. Buckwalter JA, Rosenberg I, Coutts R. Articular cartilage: injury and repair. Am Acad of Orthop Surg. 1988; 465.
50. Douglas R, Dirschl VA. Articular fractures. J Am Acad of Orthop Surg. 2004; 12(6):417-424.
51. Merchant AC, Mercer RL, Jacobsen RH, Cool CR. Roentgenographic analysis of the patellofemoral congruence . J Bone Joint Surg. 1974; 56(7): 1391-6
52. Ateşalp A. Patellofemoral eklemin görüntülenmesi Bölüm II. Acta Orthop Traumatol Turc. 1995; 29: 361-368.
53. Aydeniz A, Şendur F, Gürer G. Erken romatoid artrit. Romatizma. 2005; 20(3):27-31.

54. Modl JM, Sether LA, Haughton VM. Articular cartilage correlation of histologic zones with signal intensity at MR imaging. *Radiology*. 1991; 181(3):853-5.
55. Marlovits S, Singer P, Zeller P, Mandl I, Haller J, Trattnig S. Magnetic resonance observation of cartilage repair tissue (MOCART) for the evaluation of autologous chondrocyte transplantation: determination of interobserver variability and correlation to clinical outcome after 2 years. *Eur J Radiol*. 2006; 57(1):16-23.
56. Goodwin DW, Wadghiri YZ, Zhu H, Vinton CJ, Smith ED, Dunn JF. Macroscopic structure of articular cartilage of the tibial plateau: influence of a characteristic matrix architecture on MRI appearance. *AJR Am J Roentgenol*. 2004; 182(2):311-8.
57. Christoforakis J, Pradhan R, Sanchez-Ballester J, Hunt N, Strachan RK. Is there an association between articular cartilage changes and degenerative meniscus tears. *Arthroscopy*. 2005; 21(11):1366-9.
58. Doral MN, Atay ÖA, Bilge O, Dönmez G, Üzümcügil A, Olgun D, Ayvaz M, Kaya D. Kıkırdak Tamirinde Güncel Cerrahi Yaklaşımlar. *Türk Geriatri Dergisi*. 2011; Özel Sayı 1: 95-100.
59. Alemdar C. Ratlarda deneysel osteokondral defektlerde intraartiküler IGF-1 ve hyalüronik asid uygulamalarının karşılaştırılması. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji. Uzmanlık Tezi. Düzce 2010.
60. Aydoğan F. Diz ekleminde kondral defekt iyileşmesine, elektromanyetik alanın etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Uzmanlık Tezi. Isparta, 2008.
61. Scopp JM, Mandelbaum BR. A treatment algorithm for the management of articular cartilage defects. *Orthop Clin North Am*. 2005; 36:419-26.
62. Cain EL, Clancy WG. Treatment algorithm for osteochondral injuries of the knee. *Clin Sports Med*. 2001; 20:321-42.
63. Preston CF, Fulkerson EW, Meislin R, Di Cesare PE. Osteotomy about the knee: applications, techniques, and results. *J Knee Surg*. 2005; 18:258-72.
64. Bert JM. Unicompartamental knee replacement. *Orthop Clin North Am*. 2005;36:513-22.
65. Gill TJ, Asnis PD, Berkson EM. The treatment of articular cartilage defects using the microfracture technique. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2006; 36(10):728-38.
66. Seo SS, Kim CW, Jung DW. Management of focal chondral lesion in the knee joint. *Knee Surg Relat Res*. 2011; 23(4):185-96.
67. Atik OS, Takka S, Satana T, Kanatli U, Bayar A, Senkoylu A. Osteokondral multipl otogreft transferi. *Artroplasti ve Artroskopik Cerrahi Dergisi*. 1996; 7:1-2.

68. Buckwalter JA, Coutts R, Hunziker E, Mow VC. Breakout Session 3: Articular Cartilage. Clin Orthop Rel Res. 1999; 367:S 239-243,
69. Gomoll AH, Madry H, Knutsen G, van Dijk N, Seil R, Brittberg M, Kon E. The subchondral bone in articular cartilage repair: current problems in the surgical management. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2010; 18(4):434-447
70. Binnet M, Başarır K, Aydın M. Kıkırdak Defektlerinde Günümüz Tedavi Yaklaşımları. Türkiye Klinikleri. 2011; 4(1): 11
71. Tabur H. Matür Tavşanlarda Tam Kat Eklem Kıkırdak Defektlerinin İyileşmesinde Trombosit Kökenli Büyüme Faktörünün Rolü. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi. Şanlıurfa 2007
72. Grainger R, Cicuttini FM. Medical management of osteoarthritis of the knee and hip joints. Med J Aust. 2004; 180(5):232-6.
73. Yılmaz C. Kıkırdak yaralanmalarının tedavisinde kemik iliği uyarım yöntemleri. TOTBİD Dergisi 2010; 9(3):122-130
74. Steadman JR, Rodkey WG, Singleton SB, Briggs KK. Microfracture technique for full-thickness chondral defects: technique and clinical results. Oper Tech Orthop. 1997;7:300-4.
75. 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.
76. 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 Am. 2006; 88 Suppl 1 Pt 2:294-304.
77. Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ. Microfracture surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. Clin Orthop Relat Res.2001;(391 Suppl):S362-9.
78. Zantop T, Petersen W. Arthroscopic implantation of a matrix to cover large chondral defect during microfracture. Arthroscopy. 2009; 25:1354-60.
79. 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.
80. Spahn G, Kirschbaum S. Operative treatment of deep chondral defects of the patella: results after abrasive arthroplasty and periosteal arthroplasty. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2005; 13:352-6.

81. Dorotka R, Windberger U, Macfelda K, Bindreiter U, Toma C, Nehrer S. Repair of articular cartilage defects treated by microfracture and a three-dimensional collagen matrix. *Biomaterials*. 2005;26:3617-29.
82. Sterett WI, Steadman JR. Chondral resurfacing and high tibial osteotomy in the varus knee. *Am J Sports Med*. 2004;32:1243-9.
83. Salter RB, Simmonds DF, Malcolm BW, Rumble EJ, MacMichael D, Clements ND. The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg Am*. 1980; 62:1232-51.
84. Kon E, Delcogliano M, Filardo G, Altadonna G, Marcacci M. Novel nano-composite multi-layered biomaterial for the treatment of multifocal degenerative cartilage lesions. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2009 November; 17(11): 1312–1315.
85. Kon E, Delcogliano M, Filardo G, Pressato D, Busacca M, Grigolo B, Desando G, Marcacci M. A novel nano-composite multi-layered biomaterial for treatment of osteochondral lesions: technique note and an early stability pilot clinical trial. *Injury*. 2010;41(7):693-701
86. Tampieri A, Sprio S, Sandri M, Valentini F. Mimicking natural bio-mineralization processes: A new tool for osteochondral scaffold development. *Trends in Biotechnology*. 2011; 29(10):526-35
87. Kon E, Filardo G, Delcogliano M, Fini M, Salamanna F, Giavaresi G, Martin I, Marcacci M. Platelet autologous growth factors decrease the osteochondral regeneration capability of a collagen-hydroxyapatite scaffold in a sheep model. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2010; 11:220
88. Kon E, Delcogliano M, Filardo G, Fini M, Giavaresi G, Francioli S, Martin I, Pressato D, Arcangeli E, Quarto R, Sandri M, Marcacci M. Orderly osteochondral regeneration in a sheep model using a novel nano-composite multilayered biomaterial. *J Orthop Res*. 2010 28(1):116–124
89. Kon E, Delcogliano M, Filardo G, Busacca M, Di Martino A, Marcacci M. Novel nano-composite multilayered biomaterial for osteochondral regeneration: a pilot clinical trial. *Am J Sports Med*. 2011;39(6):1180-90.
90. Kon E, Vannini F, Buda R, Filardo G, Cavallo M, Ruffilli A, Nanni M, Di Martino A, Marcacci M, Giannini S. How to treat osteochondritis dissecans of the knee: surgical techniques and new trends: AAOS exhibit selection. *J Bone Joint Surg Am*. 2012;94(1)
91. <http://www.jri-ltd.co.uk/pdf/MaioRegen.pdf>. Erişim tarihi 06.08.2013.

92. Yılmaz C. Kıkırdak yaralanmalarının tedavisinde matriks rehberli otolog kondrosit implantasyonu. TOTBİD Dergisi 2010;9(3):164-174
93. Bachelin P. Biologische Therapie von Knorpelschäden Unsere klinische Erfahrung mit ACT und AMIC. Orthopädie & Rheumatologie. 2011
94. <http://www.swissbiomedortho.com/alpha-chondro-shield>. Erişim tarihi 06.08.2013.
95. Murat N, Karadam B, Özkal S, Karatosun V, Gidener S. Quantification of papain induced rat osteoarthritis in relation to time with the Mankin score. Acta Orthop Traumatol Turc. 2007;41(3):233-237
96. Erbil B. Ratlarda deneysel osteokondral defektlerde intraartiküler hyalüronik asid ve eswt (extracorporeal shock wave therapy) uygulamalarının karşılaştırılması. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji. Uzmanlık Tezi. Düzce 2012.
97. Bell E. Strategy for the selection of scaffolds for tissue engineering. Tissue Eng. 1995;1:163-79.
98. Nehrer S, Chiari C, Domayer S, Barkay H, Yayon A. Results of chondrocyte implantation with a fibrin-hyaluronan matrix. Clin Orthop Relat Res. 2008;466(8):1849-55
99. Løken S, Jakobsen RB, Arøen A. Bone marrow mesenchymal stem cells in a hyaluronan scaffold for treatment of an osteochondral defect in a rabbit model. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2008;16(10):896-903.
100. Grigolo B, Lisignoli G, Piacentini A. Evidence for redifferentiation of human chondrocytes grown on a hyaluronan-based biomaterial (HYAff 11): molecular, immunohistochemical and ultrastructural analysis. Biomaterials. 2002;23(4):1187-95.
101. Marcacci M, Kon E, Zaffagnini S. Arthroscopic second generation autologous chondrocyte implantation. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2007;15(5):610-9.
102. Nagura I, Fujioka H, Kokubu T. Repair of osteochondral defects with a new porous synthetic polymer scaffold. J Bone Joint Surg. 2007;89(2):258-64.
103. Gille J, Behrens P, Volpi P. Outcome of Autologous Matrix Induced Chondrogenesis (AMIC) in cartilage knee surgery: data of the AMIC Registry. Arch Orthop Trauma Surg. 2013;133(1):87-93.
104. Iwasa J, Engebretsen L, Shima Y, Ochi M. Clinical application of scaffolds for cartilage tissue engineering. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2009;17(6):561-77.
105. Cherubino P, Grassi FA, Bulgheroni P, Ronga M. Autologous chondrocyte implantation using a bilayer collagen membrane: a preliminary report. J Orthop Surg (Hong kong). 2003;11(1):10-5.

106. Schlegel W, Nürnberger S, Hombauer M, Albrecht C, Vécsei V, Marlovits S. Scaffold-dependent differentiation of human articular chondrocytes. *Int J Mol Med*. 2008;22(5):691-9.
107. Bark S, Riepenhof H, Gille J. AMIC Cartilage Repair in a Professional Soccer Player. *Case Rep Orthop*. 2012;2012:364342.
108. Andereya S, Maus U, Gavenis K. Treatment of patellofemoral cartilage defects utilizing a 3D collagen gel: two-year clinical results. *Z Orthop Unfall*. 2007;145(2):139-45.
109. Almqvist KF, Dhollander AA, Verdonk PC. Treatment of cartilage defects in the knee using alginate beads containing human mature allogenic chondrocytes. *Am J Sports Med*. 2009;37(10):1920-9.
110. Selmi TA, Verdonk P, Chambat P, Dubrana F, Potel JF, Barnouin L, Neyret P. Autologous chondrocyte implantation in a novel alginate-agarose hydrogel: outcome at two years. *J Bone Joint Surg*. 2008;90(5):597-604.
111. Crawford DC, Heveran CM, Cannon WD Jr, Foo LF, Potter HG. An autologous cartilage tissue implant NeoCart for treatment of grade III chondral injury to the distal femur: prospective clinical safety trial at 2 years. *J Sports Med*. 2009;37(7):1334-43.
112. Steadman JR, Miller BS, Karas SG, Schlegel TF, Briggs KK, Hawkins RJ. The microfracture technique in the treatment of full-thickness chondral lesions of the knee in National Football League players. *J Knee Surg*. 2003;16(2):83-6.
113. Aşık M, Şen C, Çiftçi F, Polat G. Diz ekleminde tam kat kırıkta lezyonlarının mikrokirik yöntemiyle tedavisi. *Türkiye Klinikleri J Orthop & Traumatol-Special Topics*. 2011;4(1):39-44.
114. Heir S, Årøen A, Løken S. Cartilage repair in the rabbit knee: mosaic plasty resulted in higher degree of tissue filling but affected subchondral bone more than microfracture technique. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2012;20(2):197-209.
115. Güneş T, Sen C, Erdem M. Combination of microfracture and periosteal transplantation techniques for the treatment of full-thickness cartilage defects. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 2006;40(4):315-23.
116. Feeley BT, Doty SB, Devcic Z, Warren RF, Lane JM. Deleterious effects of intermittent recombinant parathyroid hormone on cartilage formation in a rabbit microfracture model. *HSS J*. 2010; 6(1):79-84.

117. Wang Qi, LI Zhong-li, FU Yang-mu. Effect of low-energy shock waves in microfracture holes in the repair of articular cartilage defects in a rabbit model. *Chin Med J.* 2011;124(9):1386-1394.
118. Kuo AC, Rodrigo JJ, Reddi AH. Microfracture and bone morphogenetic protein 7 (BMP-7) synergistically stimulate articular cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006;14(11):1126-35.
119. Xing L, Jiang Y, Gui J, Lu Y, Gao F, Xu Y, Xu Y. Microfracture combined with osteochondral paste implantation was more effective than microfracture alone for full-thickness cartilage repair. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2013;21(8):1770-6

8. EKLER

Ek-1. Özgeçmiş

Ek-2. Etik kurul onay örneği

Ek-1. ÖZGEÇMİŞ

22.09.1982 tarihinde Kırşehir’de dünyaya geldim. İlköğrenimi, Yeşilyurt İlkokulu ve Prof. Dr. Erol Güngör İlköğretim Okulu’nda tamamladım. Lise öğrenimimi ise Kırşehir Anadolu Öğretmen Lisesi’nde tamamladım. 2001-2007 yılları arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde tıp eğitimimi aldıktan sonra Zonguldak Merkez Aşağıçayır Sağlık Ocağı’nda 2007 yılında pratisyen doktor olarak görevime başladım. Ağustos 2008’den itibaren halen çalışmakta olduğum Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji A.D.’nda görev yapmaktayım. Evli ve bir kız çocuk babasıyım.

Ek-2. Etik kurul onay örneği



T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu

Sayı :B.30.2.ABÜ.0.05.05-050.01.04- 247

19/12/2012

Konu: Kararlar.

Sayın; Doç. Dr. İstemi YÜCEL

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi
Ortopedi ve Travmatoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi

Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu tarafından 2012/58 no.“ Ratlarda oluşturulan deneysel tam kat osteokondral defekt modelinde, nano kompozit multilayer biomimetik skafold (maioresgen), bioabsorbabl eklem implantı (acs) ve mikrokirik yönteminin karşılaştırılması” isimli çalışmanız etik olarak uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ayşel KÜKNER
(Başkan)

Prof. Dr. Erol AYAZ
(Üye)

Prof. Dr. Mehmet YAZICI
(Üye)

Prof. Dr. Neriman ŞENGÜL
(Üye)

Doç. Dr. Fatih DEMİRCİOĞLU
(Üye)

Doç. Dr. Alper KARAKAŞ
(Üye)

Doç. Dr. Serkan ÇAKIR
(Üye)

Yrd. Doç. Dr. Eray KEMAHİ
(Üye)

Yrd. Doç. Dr. Orçun TOPTAŞ
(Üye)

Av. Erol ALTINTAŞ
(Üye)

Orhan BULUT
(Veteriner Hekim)

Adres : Abant İzzet Baysal Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu 14280 Gököy / BOLU
Telefon : 0374 253 45 68 Fax : 0374 253 45 59

