



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**Ortopedi ve Travmatoloji
Anabilim Dalı**

**TAM KAT KIKIRDAK HASARLARININ PEDİKÜLLÜ VE SERBEST
SİNOVİYA GREFTİ İLE TEDAVİSİ: HAYVAN MODELİNDE
KARŞILAŞTIRMALI ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Bahtiyar Haberal

Ankara, 2015



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**Ortopedi ve Travmatoloji
Anabilim Dalı**

**TAM KAT KIKIRDAK HASARLARININ PEDİKÜLLÜ VE SERBEST
SİNOVİYA GREFTİ İLE TEDAVİSİ: HAYVAN MODELİNDE
KARŞILAŞTIRMALI ÇALIŞMA**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Bahtiyar Haberal**

**Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Orçun Şahin**

Ankara, 2015

**Bu çalışma Başkent Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmış
(Proje no: DA 14/21) ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir.**

TEŞEKKÜR

Başkent Üniversitesi kurucusu Sayın Prof. Dr. Mehmet Haberal'a ve Başkent Üniversitesi Rektörü Sayın Prof. Dr. Ali Haberal'a,

Çalışmam süresince tez danışmanlığımı üstlenerek bana yol gösteren, tez konumun belirlenmesinde, çalışmamın planlanmasında, gerçekleştirilmesinde ve sonuçlandırılmasında her türlü bilimsel katkı ve manevi desteğini esirgemeyen çok değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Orçun Şahin'e,

Uzmanlık eğitimim süresince hem hekimlik mesleğine hem de hayata bakış açılarıyla örnek olan başta bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. İsmail Cengiz Tuncay olmak üzere, Prof. Dr. Hüseyin Demirörs, Prof. Dr. İlhami Kuru ve Doç. Dr. Rahmi Can Akgün'e,

Tezimin gerçekleştirilmesinde ve değerlendirilmesindeki değerli katkı ve desteklerinden dolayı Sayın Doç. Dr. Ayşe Canan Yazıcı, Dr. Mustafa Agah Tekindal, Yrd. Doç. Dr. Ayşen Terzi , Doç. Dr. Necdet Özçay, Dr. Didem Bacanlı, Adem Kurtçuoğlu ve Sezai Kölcük'e,

Meslek hayatımın ilk kısmı olan asistanlığım boyunca gösterdikleri yakın ilgi ve verdikleri destek için Sayın Dr. M. Çağrı Avcı, Dr. Mehmet Kıral, Dr. İbrahim Deniz Canbeyli, Dr. Süleyman Altun, Dr. A. Sinan Sarı ve Dr. Mustafa Arık'a,

Asistanlığın yorucu koşuşturmasında omuz omuza çalıştığım; tez çalışmamda deneyin cerrahi kısmında, yazım aşamasında benim yanımda olan Sayın Dr. Engin Baylar, Dr. Ekin Kaya Şimşek ve Dr. Ateş Mahmuti'ye,

Öğrencilik dönemimde bölümümü bana sevdiren, asistanlık hayatımda bana el veren, destek olan abim Sayın Dr. Barış Kafa'ya,

Hem meslek hayatımda hem de özel hayatımda yanımda olan bölümümüz emektar çalışanları Naciye Küçük, Beyhan Deyim ve Melek Özer'e,

Mensubu olmaktan onur duyduğum, sahip olduğum her şeyi borçlu olduğum, birlikte hareket edildiği zaman her türlü zorluğun üstesinden gelinebileceğini gösteren ilham verici Haberal ailesinin her bir ferdine,

Her zaman yanımda olan yol arkadaşım, sevgili eşim Dr. Elifcan Haberal'a,

en içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Eklem kıkırdak hasarına bağlı olarak ortaya çıkan osteoartrit dünyada en sık görülen kas-iskelet sistemi hastalığı olup önemli bir sağlık sorunudur. Osteoartrit bir kere oluştuktan sonra ciddi tedavi maliyetlerine sebep olduğu için araştırmacılar dejeneratif kalıcı değişiklikler oluşmadan önleyici tedavi yöntemlerine yönelmişlerdir. Bu amaçla birçok yöntem denenmiştir ve günümüzde bu konu yoğun olarak çalışılmaktadır.

Bizim bu çalışmadaki amacımız, tavşan modelinde oluşturulan travmatik eklem kıkırdak defektlerinin onarımında pediküllü ve serbest sinoviya grefti uygulamalarını birbirleriyle ve kontrol grubuyla karşılaştırarak iyileşme üzerine etkilerini histolojik olarak değerlendirmektir.

Bu amaçla beyaz Yeni Zellanda cinsi 24 adet tavşan kullanıldı. 24 tavşan 2 eşit gruba ayrılarak defekt oluşturulduktan sonra bir grupta sağ dizlere pediküllü sinoviya grefti, diğer grupta serbest sinoviya grefti uygulandı. Sol dizler kontrol grubunu oluşturdu. Her iki gruptan 6 adet tavşan 4 hafta, 6 adet tavşan 8 hafta boyunca takip edildikten sonra sakrifikasyon gerçekleştirildi ve histolojik inceleme yapıldı.

Sonuç olarak, kontrol dizlerle işlem yapılan dizler karşılaştırıldığı zaman hem pediküllü hem de serbest sinoviya greftinin kıkırdak dokuyu anlamlı olarak iyileştirildiği gösterilmiştir; ancak pediküllü greft yapılan grupta bu ilişki istatistiksel olarak daha anlamlı bulunmuştur. Her iki grupta 4. hafta sonuçları istatistiksel olarak anlamlı çıkarken, 8. hafta sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Anahtar kelimeler: Osteoartrit, kıkırdak defekt, sinoviya grefti

ABSTRACT

Treatment of Full Thickness Cartilage Defects By Pedunculated and Free Synovial Grafts: A Comparative Study in an Animal Model

Osteoarthritis due to articular cartilage defects is the most common musculoskeletal disease in the world. As serious treatment costs may occur once osteoarthritis ensues, researchers began to prefer preventive treatments in order to reduce these costs. Various methods have been tested for his purpose and this is still a current intriguing research area.

The aim of this study is to evaluate the effect of pedunculated synovial grafts and free synovial grafts histologically in the repair of traumatic articular cartilage defects created in a rabbit model.

For this purpose twenty four New Zealand white rabbits were divided into two groups of 12 rabbits each. After inducing cartilage defects into the medial condyles, pedunculated synovial grafts were transplanted to the right knees in the first group. In the second group free synovial grafts were applied to the right knees. Left knees formed the control group. At the fourth and eighth weeks, 6 rabbits from each group were sacrificed. The samples were examined histologically.

As a result, when control knees were compared with grafts, it was seen that both pedunculated and free synovial grafts had repaired the defective cartilage tissue. This association was found to be more statistically significant in the pedunculated synovial graft group. While the results from the fourth week were statistically significant for both of the study groups, this significance was not observed at the eight week.

Key words: Osteoarthritis, cartilage defect, synovial graft.

İÇİNDEKİLER

<u>Bölüm</u>	<u>Sayfa</u>
Teşekkür	iii
Özet.....	iv
İngilizce özet.....	v
İçindekiler dizini.....	vi
Kısaltmalar ve simgeler dizini.....	vii
Şekiller dizini.....	viii
Tablolar dizini	x
1. Giriş	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. Hiyalin kıkırdak anatomisi.....	3
2.2. Sinoviyal anatomi	7
2.3. Eklem kıkırdağının iyileşme potansiyeli ve tedavi alternatifleri	10
2.4. Mezenkimal kök hücreler ve uygulama alanları.....	15
3. Gereç ve Yöntem	17
3.1. Deney hayvanları ve gruplandırma	17
3.2. Histolojik yöntem.....	20
3.3. Çalışma gruplarının analizi ve istatistiksel yöntem	26
4. Bulgular	28
4.1. Gruplar için genel ortalama değerler	28
4.2. İstatistiksel analiz sonuçları	30
5. Tartışma	37
6. Sonuç ve öneriler	43
7. Kaynaklar.....	44

KISALTMALAR ve SİMGELER

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
GAG	: Glikozaminoglikan
H&E	: Hematoksilen & eozin
MKH	: Mezenkimal kök hücre
mm	: Milimetre
OA	: Osteoartrit
PGA	: Polyglycolic acid
PLA	: Polylactic acid
PRP	: Platelet rich plasma
SMKH	: Sinoviyal mezenkimal kök hücre
SPSS	: Statistical package for social sciences
TGF- β	: Transforming growth factor β
UDPDG	: Uridine diphosphoglucose dehydrogenase
%	: Yüzde
°C	: Santigrad derece

ŞEKİLLER

<u>Sekiller</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1: Normal eklem kıkırdağı	3
Şekil 2.2: Eklem kıkırdağı ve alttaki kemik doku	3
Şekil 2.3: Hiyalin kıkırdağın bileşimi ve yapısı	5
Şekil 2.4: Hiyalin kıkırdağın elektron mikroskopik görüntüsü	5
Şekil 2.5: Hiyalin kıkırdağın bileşimi.....	5
Şekil 2.6: Eklem kıkırdağının kesitsel yapısı	7
Şekil 2.7: Normal sinoviyum.....	7
Şekil 2.8: Orta derecedeki osteoartritli hastadaki sinoviyal doku	7
Şekil 2.9: (A) Areolar sinoviyal membran. (B) Adipöz sinoviyal membran. (C) Fibröz sinoviyal membran	8
Şekil 2.10: Sinoviyositlerin şematik çizimi	9
Şekil 2.11: Sinoviyositlerin elektron mikroskopik görüntüsü	10
Şekil 2.12: Rejenere olan kondrositlerin görüntüsü	11
Şekil 2.13: Fibrokıkırdağın görüntüsü	12
Şekil 2.14: Onarım kıkırdak dokusunun görüntüsü	12
Şekil 2.15: Fibröz doku ile yer değiştirmiş kıkırdak dokusu	13
Şekil 2.16: Eklem kıkırdak fibrilasyonu	13
Şekil 3.1: Cerrahi öncesi hazırlık	18
Şekil 3.2: Cilt kesisi	18
Şekil 3.3: Eklem açılması	18
Şekil 3.4: Defekt oluşturulması	18
Şekil 3.5: Tünel açılması	19
Şekil 3.6: Pediküllü sinoviya grefti alınması	19
Şekil 3.7: Pediküllü sinoviya grefti nakli	19
Şekil 3.8: Serbest sinoviya grefti nakli	19

<u>Sekiller</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.9: Katların kapatılması	19
Şekil 3.10: Sakrifikasyon sonrası alınan doku	19
Şekil 3.11: İyileşmiş operasyon bölgesi	19
Şekil 3.12: Kontrol grubu 8. Hafta (HE)	20
Şekil 3.13: Kontrol grubu 4. Hafta (HE)	20
Şekil 3.14: Serbest greft yapılan grup 4. Hafta (HE), genel görünüm	21
Şekil 3.15: Serbest greft yapılan grup 4. Hafta (HE).....	21
Şekil 3.16: Pediküllü greft yapılan grup 8. Hafta (HE).....	21
Şekil 3.17: Serbest greft yapılan grup 8. Hafta (HE).....	21
Şekil 3.18: (A)Serbest greft yapılan grup 8. Hafta (HE). (B) 40'lık büyütme	21
Şekil 3.19: Pediküllü greft yapılan grup 4. Hafta (HE), kötü iyileşme	22
Şekil 3.20: Pediküllü greft yapılan grup 4. Hafta (HE), kötü iyileşme	22
Şekil 3.21: Serbest greft yapılan grup 4. Hafta (Kollajen 2), grade 3 boyanma	22
Şekil 3.22: Serbest greft yapılan grup 8. Hafta (Kollajen 2), grade 3 boyanma	22
Şekil 3.23: Serbest greft yapılan grup 4. Hafta (Kollajen 2), grade 1 boyanma	22
Şekil 3.24: Serbest greft yapılan grup 4. Hafta (Kollajen 2), grade 3 boyanma	22
Şekil 3.25: Pediküllü greft yapılan grup 4. Hafta (Safranin-O).....	23
Şekil 3.26: Pediküllü greft yapılan grup 4. Hafta (Safranin-O).....	23
Şekil 3.27: Serbest greft yapılan grup 4. Hafta (Safranin-O).....	23
Şekil 3.28: Çalışma grupları	26

TABLULAR

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1: Skorlama sistemi	24
Tablo 3.2: Kollajen 2 ile boyanma derecesi evrelendirme	25
Tablo 4.1: Ortalama değerler	29
Tablo 4.2: Pediküllü ve serbest gruplar ile sol diz yer değişim.....	30
Tablo 4.3: Pediküllü ve serbest gruplar ile sağ diz hücre morfolojisi	30
Tablo 4.4: Pediküllü ve serbest gruplar ile sağ diz yüzey yapısı.....	31
Tablo 4.5: 4. ve 8. hafta grupları ile sağ diz yer değişim	31
Tablo 4.6: 4. ve 8. hafta grupları ile sağ diz hücre morfolojisi	32
Tablo 4.7: 4. ve 8. hafta grupları ile sol diz hücre morfolojisi	32
Tablo 4.8: Kollajen 2 ve defekt çaplarının 4 ve 8. haftalarda karşılaştırılması	33
Tablo 4.9: Çalışma grupları ile kollajen 2 ve defekt çaplarının karşılaştırılması	34
Tablo 4.10: Toplam skorların hafta ve yöntemlere göre karşılaştırılması	35
Tablo 4.11: Serbest ve pediküllü gruplarda toplam skora göre karşılaştırma	35
Tablo 4.12: Sağ ve sol dizlerin toplam skora göre karşılaştırılması	36

1. GİRİŞ

Eklem kıkırdak hasarı ve buna bağlı gelişen osteoartrit (OA), coğrafi bölge ve ırk farkı gözetmeksizin, dünyada en sık görülen kas-iskelet sistemi hastalığıdır. İnsidans çalışmaları, OA'ın her yıl yaklaşık 100.000 yeni kişiyi etkilediğini ortaya koymuştur. Ek olarak, 65 yaş üstü hastalarda, özellikle diz OA'ne bağlı hareket kısıtlılığı gelişme riskinin, diğer tüm tıbbi sorunlardan daha fazla olduğu da literatürde gösterilmiştir. Bu nedenlerden dolayı eklem kıkırdak hasarı ve OA, sosyal, psikolojik ve ekonomik sorunlara neden olan ve tedavi harcamalarına ciddi yük getiren, önemli bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir (1, 2).

Son birkaç yılda meydana gelen cesaret verici gelişmeler ile birlikte, sinoviyal eklemlerin kıkırdak yüzeylerini oluşturan hiyalin kıkırdak hasarının, OA gelişimindeki temel ilerletici faktör olduğu anlaşılmış ve bu konu üzerindeki çalışmalar hız kazanmıştır (3). Kanlanması olmayan ve sinoviyal sıvıdan diffüzyon yolu ile beslenebilen hiyalin eklem kıkırdağında bir kez hasar oluştuktan sonra kıkırdak kendini yenileyememekte ve ilerleyen dönemlerde de eklem yük taşıma mekaniği bozularak OA gelişmektedir. Sonuç olarak, hiyalin kıkırdak hasarının erken dönemde, etkin bir biçimde tedavi edilebilmesi, OA gelişimini engelleyecek ve bu sık görülen, aynı zamanda sosyo-ekonomik anlamda yük oluşturan rahatsızlığa çözüm getirecektir.

Hiyalin kıkırdak hasarının tamiri ile ilgili olarak literatürde tanımlanmış pek çok farklı cerrahi tedavi yöntemi bulunmasına karşın, altın standart yöntemin hangisi olduğu halen tartışmalıdır (4-7). Çoğu yöntemin kendine özgü avantaj ve dezavantajları, literatürde daha önce bildirilmiş olmasına rağmen, kıkırdağın eski hali ile iyileşebilmesinin önünü açabilen bir cerrahi prosedür tanımlamak ve onun klinikte yaygın bir şekilde kullanılabilmesini sağlamak mümkün olmamıştır. Son dönemde popülerlik kazanmaya başlayan otolog kondrosit implantasyonu ve kondrosit hücre kültürleri ise teknik olarak zor, çok aşamalı, zaman alıcı ve pahalı yöntemler olarak kabul edilmektedir. Bütün bu sorunlara bağlı olarak, hiyalin kıkırdak hasarının tedavisinde yeni alternatif öneriler düşünülmüş ve özellikle doku mühendisliği alanındaki gelişmeler ile birlikte, hasarlı bölgelerin değişim ya da tamirinin yapay biyomateryaller ile mümkün olabileceği literatürde gösterilmeye başlanmıştır. Böylece, doku mühendisliği alanında yaşanan gelişmelere paralel olarak, biyolojik olarak uyumlu, uygulaması kolay ve her türlü kıkırdak yüzey anatomisine göre şekillendirilebilen, yapay eklem kıkırdağı üretimi ve normal hiyalin kıkırdak yapıya entegrasyonu konusundaki çalışmalar hız kazanmıştır (8-10).

Son yıllarda, özellikle mezenkimal kök hücre kaynaklı çalışmalar literatürde önem kazanmaya başlamıştır. Çok farklı dokular mezenkimal hücre kaynağı olarak kullanılmış olmasına rağmen, halen altın standart yöntem olarak kırıkdam tamirinde hangi dokunun hücre kaynağı olarak kullanılması gerektiği tartışmalıdır. Özellikle son yıllarda adipoz doku, periost ve embriyonik dokular mezenkimal hücre kaynağı olarak kullanılmıştır. Sinoviyum da aynı şekilde, daha önceki çalışmalarda belirtildiği üzere, birçok büyüme faktörü ve mezenkimal hücreyi içinde barındıran bir yumuşak doku örtüsüdür ve kırıkdam iyileşmesi üstüne etkilidir (4, 11). Daha önce kliniğimizde, hayvan deneyi şeklinde tanımlanan pediküllü sinoviya greftlerinin, tam kat kırıkdam hasarlarının tedavisinde hücre kaynağı olarak kullanılabileceği ve kırıkdam hasarının hiyalin kırıkdam ile iyileştiği bildirilmiştir (11). Aynı şekilde sinoviyal dokunun mezenkimal kök hücre göçüne ve farklılaşmasına olanak sağladığı ve yapay iskeleler için potansiyel bir hücre kaynağı olarak kullanılabileceği de daha önce literatürde yayınlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hiyalin kıkırdak anatomisi

Eklem kıkırdağı, hareketli eklemler için bir yüklenme yüzeyi olarak uyum sağlayan yüksek derecede özelleşmiş bir dokudur. Biyomekanik olarak, mekanik yetmezliğe uğramadan fizyolojik yüklere dayanan ve yüzeye dağıtma yeteneğine sahip olan, liflerle güçlendirilmiş bir ara madde gibi işlev görür (12).



Şekil 2.1

Normal eklem kıkırdağı mikroskopik görüntüsü.
(Hematoksilen &Eozin X4)



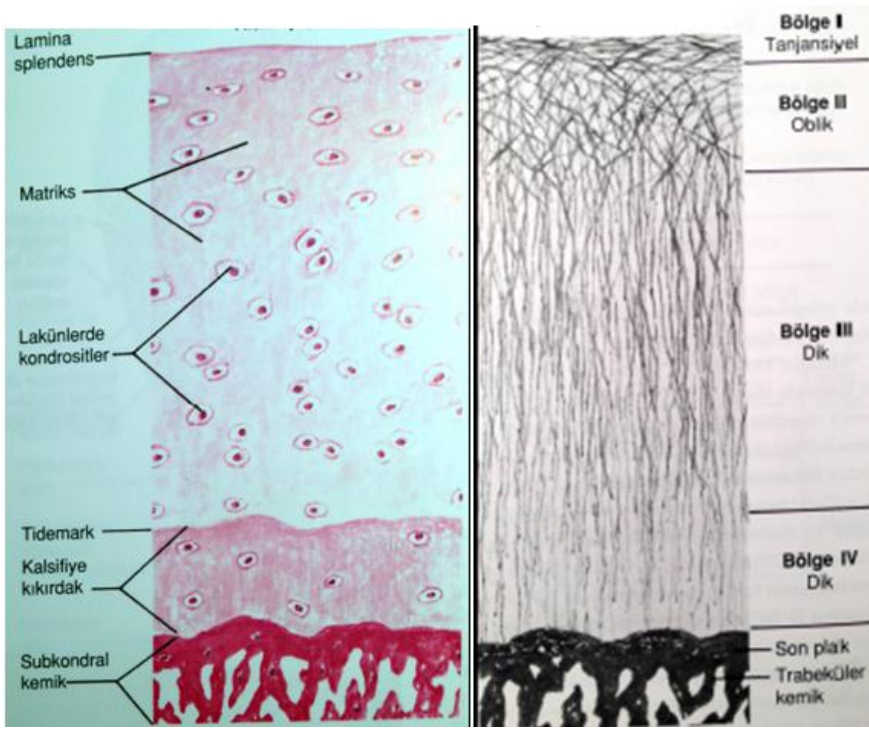
Şekil 2.2

Alttaki kemik dokuyu da gösteren vertikal olarak kesilmiş eklem kıkırdağının bir kısmının fotoğrafı. Dikey yarıklara neden olan iğne deliklerinin doğrultusu görülüyor.

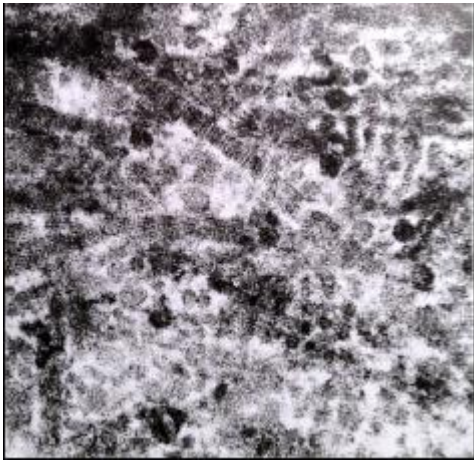
Kıkırdak karmaşık ve çok yönlü bir bağ dokusu yapısıdır. Eklem kıkırdağı sinoviyal (diartrodial) eklemlerin yüzeyinde kendi kendine yağlamayı, düşük sürtünmeli kaymayı, yük dağılımını temin eder (13). Eklem kıkırdağı yoğun miktarda kollajen ve proteoglikan matriks içeren avasküler, anöral, alenfatik bir dokudur. Kıkırdak doku kondrosit ve kondroblast hücrelerinden meydana gelir. Bu hücreler çevrelerinde makromoleküllerden oluşan karmaşık bir matriks sentezler; kıkırdak dokunun mekanik özellikleri öncelikle karmaşık hücre dışı matriksten kaynaklanır.

Eklem kıkırdağı göreceli olarak hücresiz bir dokudur, hacminin %90'ından fazlası hücre dışı ara maddeden oluşur. Bu ara maddenin temel bileşenleri kollajen, proteoglikan ve sudur (14). Kollajen miktarı kuru ağırlığın yaklaşık %60'ıdır. Eklem kıkırdağı içindeki kollajen lifleri kendine özgü çapraz dizimli mimarisi ile karmaşık bir iskelet oluşturur. Kıkırdağın temel fibriler yapısı; kollajen fibriler ağ örgüsü ve dev proteoglikanlardan meydana gelir. Ek olarak su kıkırdak ağırlığına %65 ile %85 oranında katkıda bulunur. Tip 2 kollajen dokunun gerilme kuvveti ve şekline katkı sağlarken proteoglikanlar su tutma yetenekleriyle kıkırdağa basınca karşı bir esneklik ve sertlik verirler. Proteoglikanlar kıkırdak kuru ağırlığının % 25 ile %35'ini kapsarlar. Proteoglikan içeriği yüzeysel bölgede daha düşük, derin bölgede daha yüksek yoğunluktadır. Kondrositler erişkin eklem kıkırdağının toplam hacminin %2'sini oluşturmaktadır (15).

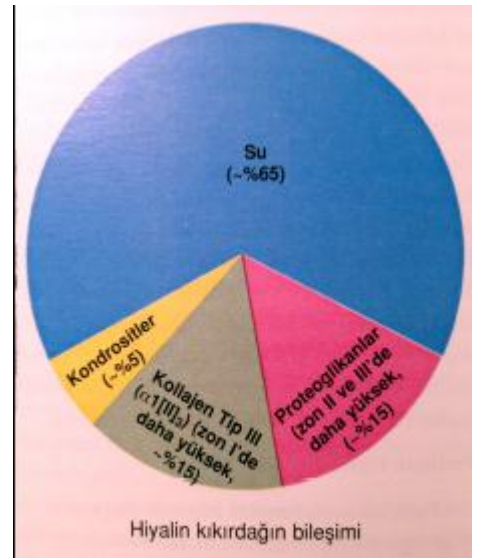
Işık mikroskopik incelemede tüm kıkırdak homojen olarak gözükürken elektron mikroskopisi ve biyokimyasal incelemeler birbirinden pek de iyi ayrılamayan dört bölgeyi ortaya koymaktadır. Işık mikroskopisinde üç ve dördüncü bölgeler arası sınır med-vezir (geçiş, tidemark) çizgisi olarak isimlendirilen dalgalı tabakadır. Bu dört bölge matrikstekki makromoleküllerin bileşimi, oranı ve yönleri kadar hücre büyüklüğü, şekli ve yönleri bakımından da birbirlerinden farklıdır (16).



Şekil 2.3
Artiküler hiyalin kıkırdağın bileşimi ve yapısı



Şekil 2.4
Hiyalin kıkırdağın elektron mikroskopik görüntüsü
(x80.000)



Şekil 2.5
Hiyalin kıkırdağın bileşimi

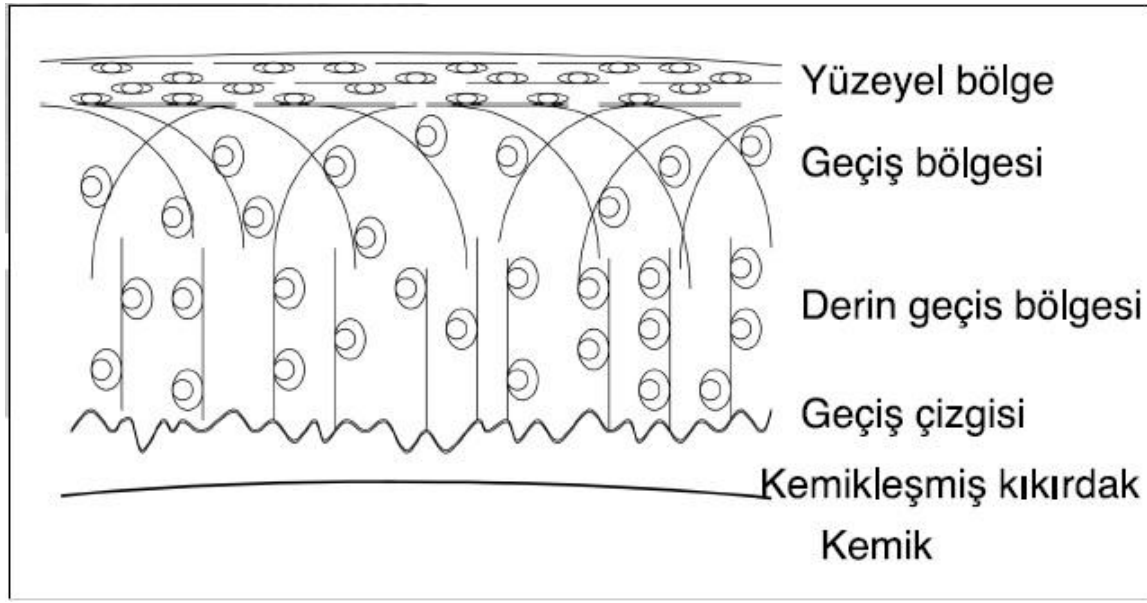
Eklem kıkırdağı yapısal olarak dört tabakaya ayrılır.

1)Yüzeyel Tabaka(Tanjansiyel zon): Eklem kıkırdağına paralel yerleşmiş kollajen lifleri ile özelleşmiştir. Bu lifler gerilme kuvveti sağlar ve makaslamaya direnç gösterir. Bu tabakadaki kondrositler küçük ve yassıdırlar. Kondrositler diğer katlara göre yüksek konsantrasyonda kollajen, düşük konsantrasyonda proteoglikan içeren matriks sentezlerler. Yüzeyel tabaka hücreleri aynı zamanda eklem yağlama proteinlerinin en temellerinden olan lubrikin ile yüzeyel bölge (zone) proteinini salgırlar. Bu tabakada çok yönlü farklılaşma yeteneğine sahip az miktarda kondrosit kök hücre topluluğu da saptanmıştır (17). İnvitro çalışmalarda bu hücrelerin büyüme faktörü uyarılarından etkilendiği ve eklem yüzüne doğru yer değiştirebildiği gösterilse de kıkırdak devamlılığı ve tamirine etkileri tam bilinmemektedir.

2)Orta Tabaka (Transizyonel zon): En kalın tabakadır. Yüzeyel tabakadaki yatay dizilimden derin tabakadaki dik yerleşime doğru büyük miktarda değişim gösteren daha gelişigüzel yerleşimli büyük çaplı kolajen lifler içerir. Su ve kollajen içeriği yüzeyel kata göre daha azdır.

3)Derin Tabaka (Bazal zon): Derin tabaka kondrositlerinin metabolik etkinliği yüzeyel tabaka hücrelerinden on kat daha fazladır. En büyük çaptaki kollajen liflerini içerir. Kollajen lifleri yüzeye dik sütunlar şeklinde dizilir, en yüksek konsantrasyonda proteoglikanları ve en düşük konsantrasyonda suyu içerir. Bu lifler derin tabaka ile kemikleşen kıkırdak arasındaki geçişi işaretleyen çizgiye yapışır.

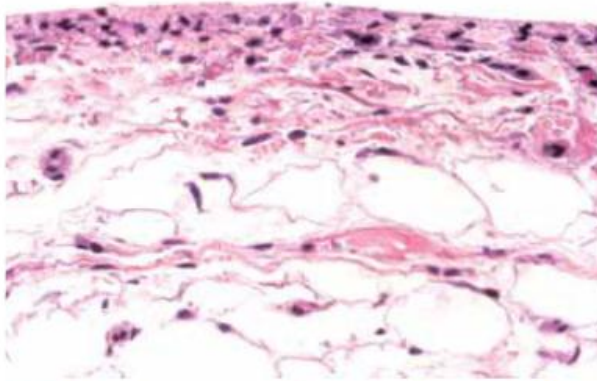
4)Kalsifiye Kıkırdak Bölgesi



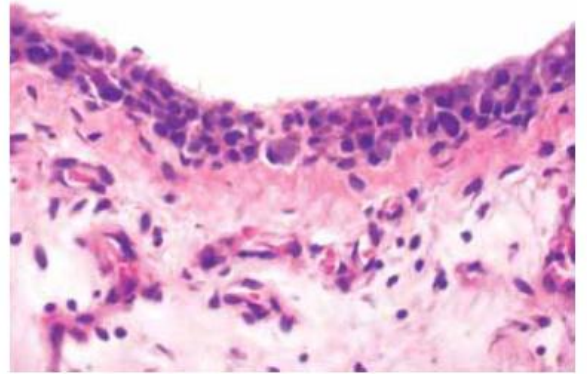
Şekil 2.6
Eklem kıkırdağının kesitsel yapısı

2.2. Sinoviyal anatomi

“Sinoviya” terimi 16. yüzyılda Paracelsus tarafından tanımlanmıştır. Sinoviyal membran ya da sinoviyum, bütün sinoviyal eklem (diartrodial eklem) boşluğunu döşeyen vasküler, mezenşimal bir dokudur. Bu doku eklem sıvısı ve onun çeşitli komponentlerinin üretimini ve eklem boşluğundan hücre ve bağ dokusu artıklarının temizlenmesini sağlar. Normal sinoviya kan plazması dializatına hyaluronat ilavesiyle meydana gelir. Hyaluronat, sadece yağlama (lubrication) ve saflaştırma değil, ayrıca eklem beslenmesine de yardımcıdır (18).

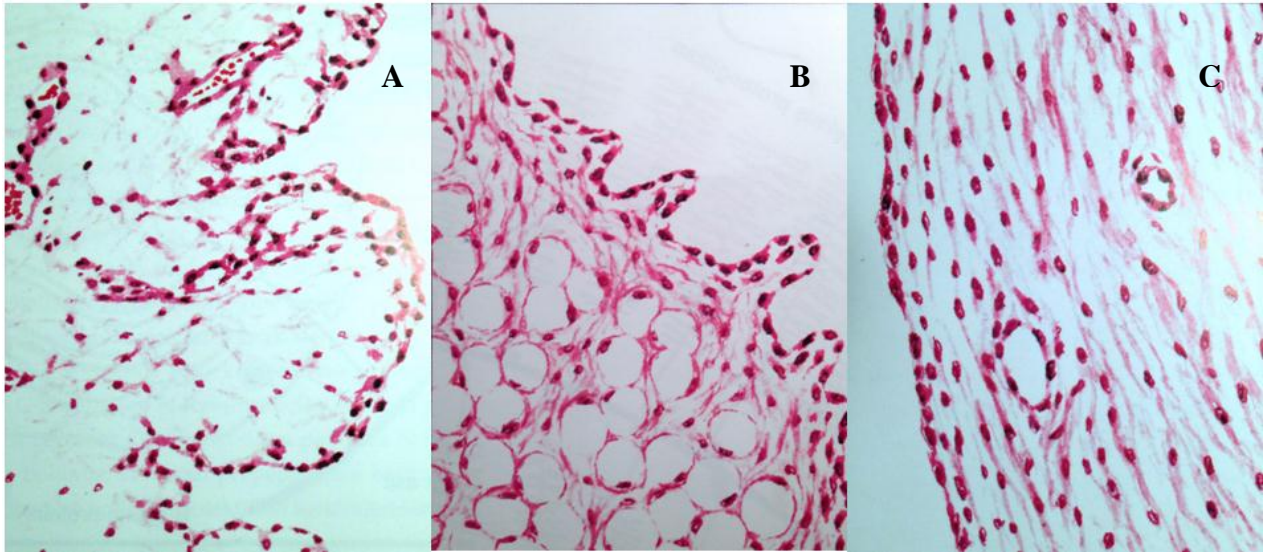


Şekil 2.7
Normal sinoviyum mikroskopik görüntüsü. Yağ/fibröz doku oranı eklem tipine ve eklem içinde sinoviyanın lokalizasyonuna göre değişmektedir.
(Hematoksilen &Eozin x10)



Şekil 2.8
Orta derecede OA'li hastanın dizinden alınan sinoviyal dokunun mikroskopik görüntüsü. Sinoviyal döşeyici hücrelerin (lining cell) hipertrofisi, sinoviyositlerin hiperplazisi görülüyor. Subsinoiyal dokuda artmış vaskülarite ve orta derecede kronik inflamatuvar infiltrasyon.
(Hematoksilen &Eozin x10)

Sinoviyal membran eklem kapsülünün iç yüzünü döşeyen, fakat eklem kıkırdağını örtmeyen vasküler bir bağ dokusudur. Normal sinoviyal membran, döşeyici hücrelerden (lining cell) meydana gelen yüzeysel bir tabakadan oluşur. Normalde 1-3 hücre kalınlığındadır. Bu yüzeysel tabaka ile eklem kapsülü arasında gevşek bağ dokusu mevcuttur. Sinoviyal dokunun üç tipi vardır; fibröz, adipoz ve areolar. Sinoviyal membran, iki tabakadır; 1. Yüzeysel tabadaki hücreler (sinoviyal lining cell) sinoviyumun en üst tabakasıdır ve intraartiküler kavite ile ilişkilidir. Epitele benzer yapısı olmasına rağmen, elektron mikroskopta; bazal membranı olmayan aralıklı hücre tabakası şeklinde görülür. 2. Sinoviyal yüzeysel hücreler, kan damarları, lenfatikler ve sinirlerin olduğu subintimaya gevşek olarak tutunur. Subintimadaki birçok hücreler; fibroblastlar ve makrofajlardır. Ayrıca yağ hücreleri, lenfositler ve mast hücreleri de bulunur (18).



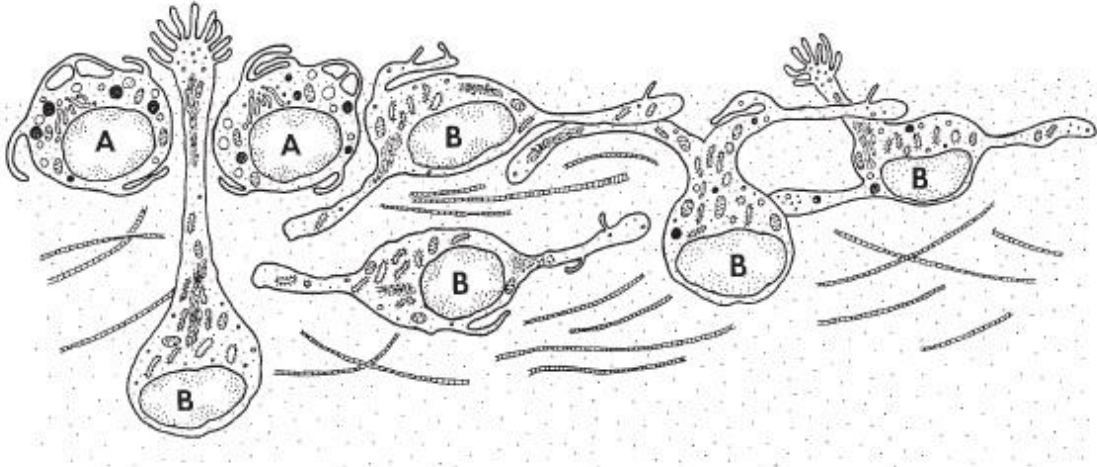
Şekil 2.9

(A) Areolar sinoviyal membran. (B) Adipoz sinoviyal membran. (C) Fibröz sinoviyal membran.

Makroskopik incelemede sinoviyal yüzey, soluk pembe ve parlak görülür. Hücrelerin bir ya da iki tabakası uzun akslarıyla sinoviyal membran üzerine yüzeye paralel olarak uzanır ve aralarında intraselüler bağlantılar yoktur. Daha derin doku gevşek bağ dokusu, fibröz doku ya da yağ içerir; bu nedenle ilişkili sinoviyal membran areolar, fibröz ya da adipoz olarak tanımlanır. Fibröz sinoviyal membran daha çok güç; ancak daha az esneklik gerektiren alanlarda bulunur (19).

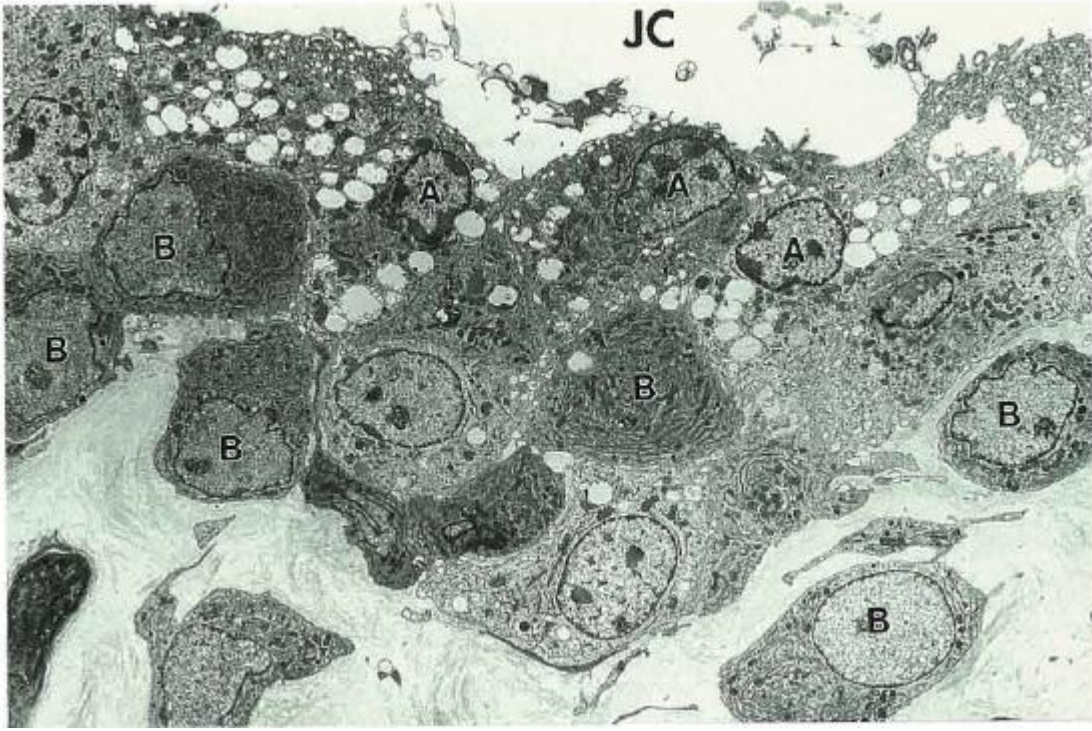
Yapılan immünopatolojik çalışmalarda granüllü endoplazmik retikulumdan zengin hücreler saptanmıştır. Bu hücreler B hücreleri olarak adlandırılır ve prostoglandinler, kollajenaz, hyaluronik asit ve diğer birçok eklem sıvısı komponenti salgırlar. Monositik hücrelerden köken alan, belirgin lizozomlar içeren fagositik hücreler (tip A hücreleri) tip B hücrelerinin üstünde bulunurlar.

Sinoviyal yüzeyel hücreler, 6-12 µm çapındadır, Elektron mikroskopta iki hücre popülasyonu görülür: Tip A hücresi veya fibroblast benzeri sinoviyal hücre; belirgin golgi organeli ve filopodlar ve az endoplazmik retikulum içerir. Bu hücreler CD11b, CD68 ve CD14 eksprese eder ve eklem boşluğundaki istenmeyen partikülleri fagosit eder. Tip B hücresi veya fibroblast benzeri sinoviya hücresi; seyrek vakuoller, filodopodlar ve çok miktarda protein sentezi yapan organeller içerir (20). Bu hücreler, sinoviyumun, kollajen dahil ekstrasellüler matriks proteinlerinin sentezinden sorumludur. Fibronektin, sinoviyal sıvı hyaluronik asidi, lubricin gibi eklem kıkırdak yüzlerindeki normal hareket için gerekli maddeleri üretirler. Fibrinojen yıkımı, metalloproteinaz enzim aktivatörü plazminojen aktivatör de sentezlerler.



Şekil 2.10

Sinoviyositlerin lokalizasyon ve yapısını gösteren şematik çizimi. Tip A hücreler sinoviyal intimanın yüzeyel tabakasında bulunurken, sitoplazmik işlemlerle karakterize olan tip B hücreler genellikle sinoviyal intimanın daha derin tabakalarında bulunurlar.



Şekil 2.11

Sinoviyositlerin iki tipinin elektron mikroskobik görüntüsü. Tip A hücreler vakuollerden zengin olup sinoviyal intimanın yüzeyel tabakasında yerleşmiştir. Gelişmiş endoplazmik retikulumları olan Tip B hücreler eklem kavitesinden uzakta bulunmaktadır. (x2800)

2.3. Eklem kıkırdağının iyileşme potansiyeli ve tedavi alternatifleri

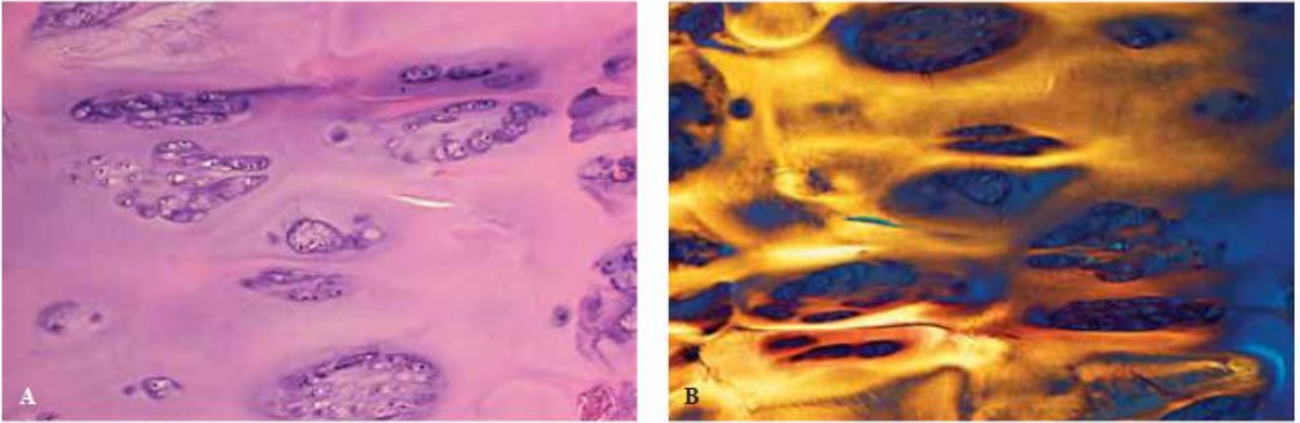
Kıkırdak yaralanmalarının tedavisi ortopedi ve travmatoloji pratiğinde son yıllarda özellikle üzerinde çalışılan konulardan biridir. Eklem kıkırdağını yıkıma uğratan en önemli faktör travmatik yaralanmalardır. Mekanik yaralanmalar, yaralanma derecesine göre üç tipe ayrılır. Bunlar;

- a. Kıkırdak yüzeyde ayrılma olmaksızın kondrosit ve matrikste oluşan mikro hasar
- b. Kalsifiye kıkırdak hattına kadar olan kondral hasar
- c. Subkondral kemiği içeren osteokondral kırıklardır.

Bu üç tip yaralanmanın prognozları birbirinden farklıdır. Lezyon boyutu, yeri, yaş, obezite gibi değişkenler prognozu etkilemektedir. Mikrohasar sonucu hem subkondral kemik hem de kıkırdak incelmektedir. Kondral kırık eklem kıkırdağını tam kat etkileyen ancak subkondral kemiğe ulaşmayan kırıktır. Kondral kayıplar zaman içerisinde artar ve eklem yüzü bozular. Osteokondral kırıklar ise subkondral bölgeye kadar ulaşırlar.

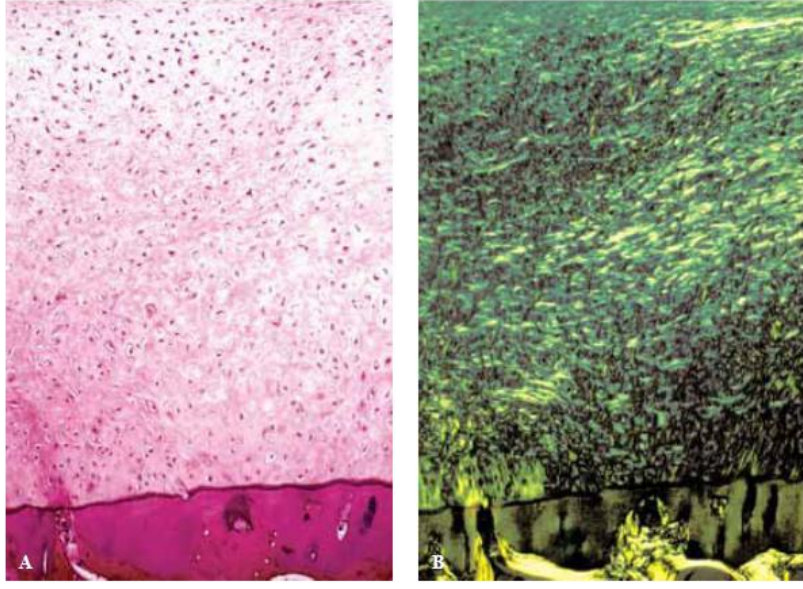
Kıkırdak yaralanmalarının birçoğu zaman içinde dejeneratif eklem hastalığına dönüşmektedir (21). Osteokondral lezyonu olan hastaların takiplerinde yüksek oranda (%80'e varan) ikincil gonartroz tespit edilmiştir. Osteoartrit gelişme yaşı ise birincil gonartrozdan on yıl kadar erkendir. Kıkırdak defekt 10 mm'den büyük olduğunda çevre kıkırdağa %64 daha fazla yük binmektedir (22, 23).

Kıkırdak yaralanma oluşturulan hayvan modellerinde defektlerin bir kısmının kendiliğinden iyileştiği saptanmıştır. Bu durumun olduğu defekt boyutunun büyüklüğü belirsizdir. Bunun yanı sıra iyileşmede önemli olan tek unsur defekt büyüklüğü değildir. Eklem kıkırdak lezyonlarında dokunun kendi kendini onarma kapasitesi düşüktür. İzole kıkırdak lezyonları kondrositler tarafından üretilen kollajen ve proteoglikan gibi metabolik ürünler ile iyileştirilmeye çalışılır. Ancak bu iyileşme yetersizdir. Tam kat kıkırdak yaralanmalarında kendiliğinden iyileşme olabilmektedir. Yaralanma tidemark çizgisini (Kıkırdağın derin katmanı ile kalsifiye kıkırdak arasındaki çizgi) geçerse subkondral kemik bütünlüğü bozularak kemik iliğindeki mezenkimal kök hücreler tarafından iyileşme sağlanabilmektedir (24). Bu hücrelerden kaynaklanan onarım dokusu fibröz kıkırdağa dönüşür.



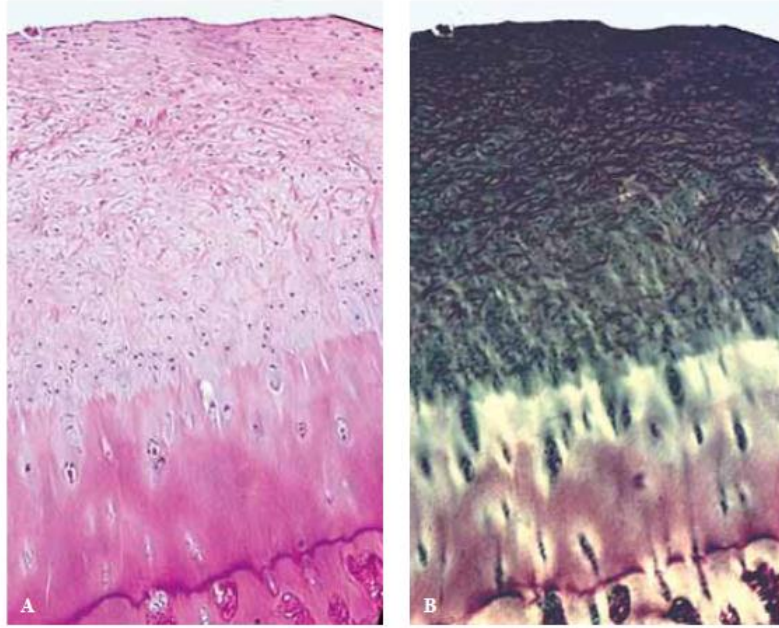
Şekil 2.12

Rejenere olan kondrositleri gösteren mikroskopik görüntü, hücreler etrafındaki bazofili artmış proteoglikan sentezini göstermektedir. (Hematoksilen &Eozin x10). Mevcut kollajen matriksin yerini alan proliferatif hücre kolonileri. (Polarize ışık mikroskobu)



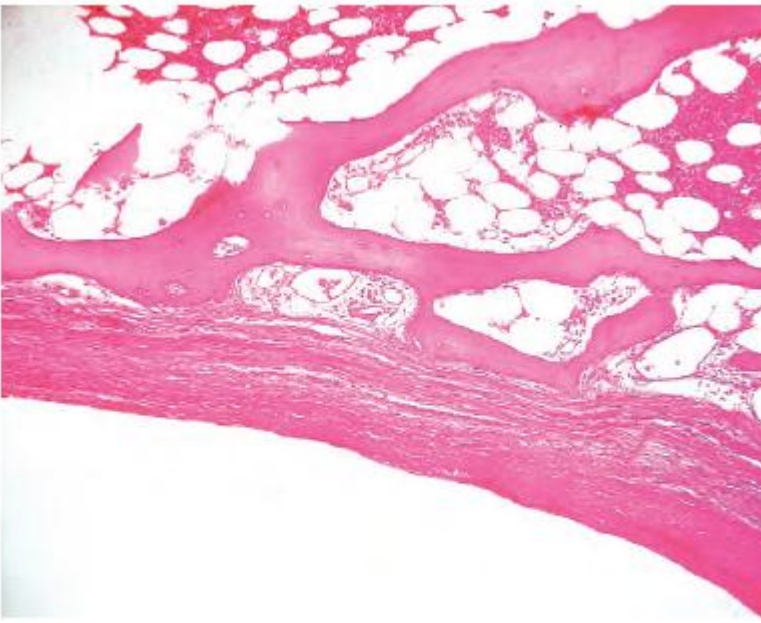
Şekil 2.13

Orjinal hiyalin eklem kıkırdağının tidemark bölgesine uzanan ekstrinsik onarıcı fibrokıkırdağın mikroskobik görüntüsü (Hematoksilen &Eozin x10). Onarım kıkırdağı ve kalsifik bölge arasındaki kollajenin devamsızlığı. (Polarize ışık mikroskobu)



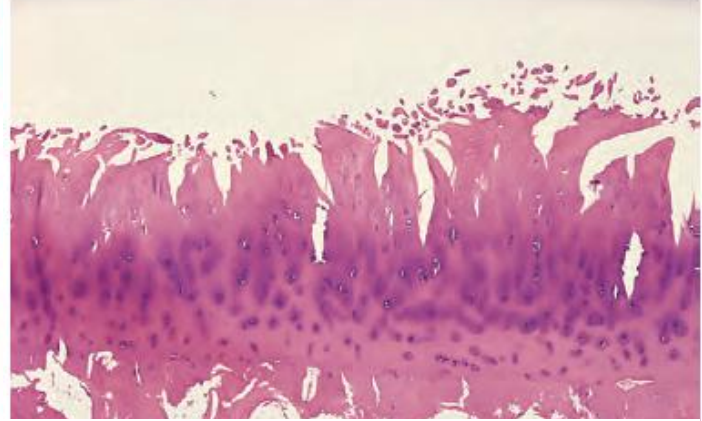
Şekil 2.14

Önceden var olan hasarlanmış kıkırdak üzerinden uzanan onarım kıkırdak dokusu mikroskobik görüntüsü (Hematoksilen &Eozin x10). Aynı görüntünün polarize ışık mikroskobisi.



Şekil 2.15

Osteoartrit. İnce fibröz doku ile yer değiştirmiş eklem kıkırdağı.



Şekil 2.16

Osteoartrit. Eklem kıkırdağının karakteristik fibrilasyonunun histolojik görünümü.

Kıkırdak yaralanmalarının tedavisinde amaç çevre dokuyla entegre, mekanik olarak işlevsel hiyalin kıkırdak oluşturmaktır (25). Çoğu zaman tamir dokusunda birden çok kıkırdak tipi bir arada görülmektedir. Hiyalin kıkırdakta tip 2 kollajen ve proteoglikan sentezleyen kondrositler bulunurken fibröz kıkırdakta tip 1 kollajen sentezleyen kondrosit ve fibroblastlar vardır.

Kıkırdak defektlerin tedavisinde günümüzde birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler iki grupta incelenebilir. Sıklıkla kullanılan yöntemler kemik iliği uyarım yöntemleridir (abrazyon artroplastisi, drilleme, mikrokirik). Bu yöntemlerin sonucunda fibröz kıkırdak oluşmaktadır. Otolog kondrosit implantasyonu, otolog osteokondral transfer, matriks temelli kondrosit transplantasyonu ile hiyalin benzeri kıkırdak elde edilebilmektedir. Osteokondral greft transferinde hazır artiküler hiyalin kıkırdak transfer edilmektedir. Kök hücrelerin kullanıldığı çalışmalar son dönemde popülerite kazanmıştır.

1) Abrazyon artroplastisi (subkondral kemiğe penetrasyon)

Günümüzde kullanım alanı kalmamıştır. Burr ya da shaver ile kanayan kemiğe kadar subkondral kemiğin traşlanması esasına dayanır. Bu sayede kemik iliği kaynaklı fibrin pıhtısı üzerinden tamir dokusu oluşur. Bu doku fibröz kıkırdak yapısındadır (26).

2) Drilleme

Bu yöntem defekt debridmanı sonrası bir Kirschner teli ile delikler açılması esasına dayanmaktadır (27). Günümüzde yerini mikrokırığa bırakmıştır.

3) Mikrokırık

Steadman tarafından 1997'de tanımlanmıştır (28). Temel olarak subkondral penetrasyon için kullanılan matkap ucunun termal hasarını önlemeye dayanır. Mikrokırık artroskopik olarak gerçekleştirilir (28). Lezyon sınırları subkondral kemiğe dik açılı olacak şekilde hazırlanır. Defekt debridmanı shaver ile yapıldıktan sonra küretile kalsifiye kıkırdak kaldırılır. Konik mikrokırık bizi ile defekte dik olacak şekilde 3-4 mm aralıklı 3-4 mm derinlikte delikler açılır. Deliklerin birleşmesi biyomekanik olarak zayıflığa yol açabilir (29). Mikrokırık üzerine periost grefti ya da matriks kapatılabilir.

4) Otolog osteokondral transfer (mozaikplasti)

Otolog osteokondral transfer ilk olarak 1993 yılında Bobic ve Matsusue tarafından, mozaikplasti ise 1996 yılında Bobic ve Hangody tarafından tanımlanmıştır (7, 30, 31). Açık ya da artroskopik olarak yapılabilmektedir. Osteokondral greftler, femur kondillerinin posteriorları, medial femoral kondilin anteromediali, troklea medial ya da laterali, interkondiler çentiğin anterolaterali, patella ya da fibula başından alınabilmektedir (32, 33). Greftler tübüler osteotom ya da trefinler ile eklem yüzüne dik olarak alınır. Greft alınan saha bir yıl içinde fibröz ve kemik doku karışımı ile dolar. Defekt kenarları dik ve sağlam kıkırdağa kadar debride edilerek hazırlanır. Defekt alanının %60-70'i hiyalin, %30-40'ı fibröz kıkırdak ile dolar (7).

5) Otolog kondrosit implantasyonu

Son yirmi yılda popüler olan bir diğer yöntemdir. 2cm^2 'den küçük defektlerde ilk tercih mikrokırık iken 2cm^2 'den büyük ve aktivite düzeyi yüksek olan hastalarda ilk tercih otolog kondrosit implantasyonudur. Cerrahi teknikte ilk olarak artroskopi yapılır ve kıkırdak doku femoral kondil proksimallerinden yani trokleanın medial ya da lateral kenarından ya da interkondiler çentik çevresinden alınabilir (34). Artroskopik küret ile alınan parçalar uygun büyüklüğe ayrılarak transfer edilir. Kıkırdak dokular enzimatik olarak ayrıştırılır, hücre kültürü ile üretilir. 4-6 hafta kadar sonra implantasyon yapılır (35).

6) Kıkırdak doku mühendisliği

Eklem kıkırdağı rejenerasyon yeteneği sınırlı olan bir dokudur, bu durum son zamanlarda araştırmacıları hücreler ve yapay ağlar gibi yapıları kullanmaya itmiştir. Uygun endikasyonlu (18-50 yaş arası, 4-14 cm² yaralanma çapında, izole tek merkezli kıkırdak yaralanması) olgularda diğer tedavi yöntemlerinin başarısız olması halinde kullanılabilir (36). Kondrositler eklem kıkırdağından alınarak laboratuvar ortamında hücre kültüründe çoğaltılır. Daha sonra kollajen ya da sentetik polimerler gibi maddelerden oluşturulan taşıyıcı matrisler üzerine ekilerek ikinci bir ameliyatla defektif bölgeye uygulanır. Deneysel araştırmalar kıkırdak doku mühendisliğinde gelecek yıllarda çok daha umut veren gelişmeler olacağını göstermektedir.

2.4. Mezenkimal kök hücreler ve uygulama alanları

Kendini yenileyebilen ve vücudun ihtiyacına göre farklılaşarak diğer doku hücrelerine dönüşebilen hücreler “kök hücreler” olarak bilinmektedir. Kök hücreler pluripotent hücreler olarak farklı hücrelere dönüşebilme özelliğine sahiptirler (37). Farklılaşmamış kök hücrelerin diğer hücrelerden farkı, başlangıçtaki hücrenin karakteristik özelliklerini taşıyan en az bir benzer hücre oluşturabilme ve tek bir hücreden birden fazla hücre serisine farklılaşabilme yeteneğidir. Mezenkimal kök hücreler (MKH), kemik iliğinin stroması içinde yer alan, uzantılı, fibroblast benzeri hücrelerdir. Mezenkimal kök hücreler başta kemik, kıkırdak, yağ, tendon, stroma gibi bağ doku kökenli hücreler olmak üzere birçok farklı doku hücresine dönüşebilirler (38). Birçok dokudan elde edilebilen, sayıca çoğaltılmaya elverişli, dayanıklı hücrelerdir. Organizmanın en zengin kök hücre kaynaklarından biri olan kemik iliği, MKH'ler için ana kaynak sayılmaktadır. MKH'ler mezodermal kaynaklı adipositler, osteoblastlar, kondrositler, tenositler, iskelet kas hücreleri ve visseral stromal hücrelere differansiye olabilmektedirler. MKH'ler kardiyovasküler hastalıklar, periferik arter hastalıkları, spinal kord yaralanmaları, kas-iskelet sistemi ve periferik sinir hastalıklarında kullanılabilir (39, 40).

Ortopedi ve travmatoloji pratiğinde MKH'ler kemik, kıkırdak, menisküs, tendon-kas ve sinir tamirinde kullanılmaktadır (41). MKH'lerin kondrojenik farklılaşma potansiyelinin anlaşılması ile hayvan çalışmaları yapılmıştır. Tatebe ve arkadaşları tavşan dizlerine polyglycolic-acid (PGA) skafold ile MKH uygulamıştır (42). Murphy ve arkadaşları da kondral

defekt oluşturulan keçilerin dizlerine MKH enjekte etmişlerdir (43). Her iki çalışmada da başarılı sonuçlar bildirilmiştir. Kıkırdak lezyonların tedavisinde kullanılan cerrahi yontemlerin morbiditeleri dűřünüldűğünde MKH'lerin kullanımı önemli bir alternatif tedavi yontemi sunacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney hayvanları ve gruplandırma

DA14/21 no'lu ve "Tam kat kıkırdak hasarlarının pediküllü ve serbest sinoviya grefti ile tedavisi: Hayvan modelinde karşılaştırmalı çalışma" başlıklı araştırma projemizi gerçekleştirebilmek için Başkent Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleti Etik Kurulu'ndan 13/10/2014 tarihli ve 14/39 sayılı karar ile izin alındı.

Çalışmada Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan, 2900-4300 gram ağırlığında, beyaz Yeni Zellanda cinsi 24 adet tavşan kullanıldı. Deneysel çalışmada 2 grup oluşturuldu. I. grupta 12 adet tavşan olup, bu tavşanların sağ dizlerine pediküllü sinoviya greft nakli yapıldı. Sol dizler kontrol grubunu oluşturup bunlara sadece kıkırdak defekti oluşturularak herhangi bir tedavi uygulanmadı. II. grupta 12 adet tavşan olup, bu tavşanların sağ dizlerine serbest sinoviya greft nakli yapıldı. Sol dizler kontrol grubu olarak sadece defekt oluşturuldu. Her iki gruptan 6 adet tavşan 4 hafta, 6 adet tavşan 8 hafta boyunca takip edildi.

Tavşanlara intramüsküler 45 mg/kg dozda ketamin ve 5 mg/kg xylozine verilerek anestezi uygulandı. Batticon solüsyon ile steril yıkama ve örtünmeyi takiben her iki dize medial parapatellar artrotomi ile girilerek patella laterale deviyeye edildi ve femoral kondiller açığa çıkarıldı. Medial femoral kondilin yük taşımayan kısmında tam kat, kansellöz kemik görülecek şekilde kıkırdak defekti oluşturuldu.

Grup I

I.gruptaki 12 adet tavşanın sağ dizlerinde kıkırdak defekt oluşturulduktan sonra artrotominin medial parçasının iç yüzünden pediküllü sinoviyal greft serbestleştirildi. Damarsal yapılar korunarak greftin uçları defekt bölgesinde subkonral kemikten açılan tünellerden geçirilen 6/0 polipropilen dikiş ile defekt bölgesine dikilerek nakledildi. Greftin yerinden ayrılmadığı görülerek katlar 3/0 poliglaktin dikiş ile kapatıldı. Sol dizlerde defekt oluşturulduktan sonra herhangi bir işlem yapılmadan katlar kapatıldı.

II.gruptaki 12 adet tavşanın sağ dizlerinde kırıkta defekt oluşturulduktan sonra sinoviyal greft tamamen serbestleştirildi. Greftin uçları defekt bölgesinde subkonral kemikten açılan tünellerden geçirilen 6/0 polipropilen dikiş ile defekt bölgesine dikilerek nakledildi. Greftin yerinden ayrılmadığı görülerek katlar 3/0 poliglaktin dikiş ile kapatıldı. Sol dizlerde defekt oluşturulduktan sonra herhangi bir işlem yapılmadan katlar kapatıldı.

Tavşanlar anestezi etkisinden kurtulup uyanana dek izole edildi. Daha sonra normal günlük aktivitelerini yapacak şekilde kafeslerine alındı. Tavşanlara herhangi bir hareket kısıtlılığı uygulanmadı. Ameliyat sonrası ilk beş gün, günde tek doz subkutan olarak yapılan Baytril-K %5 solüsyonu ile profilaksi yapıldı.



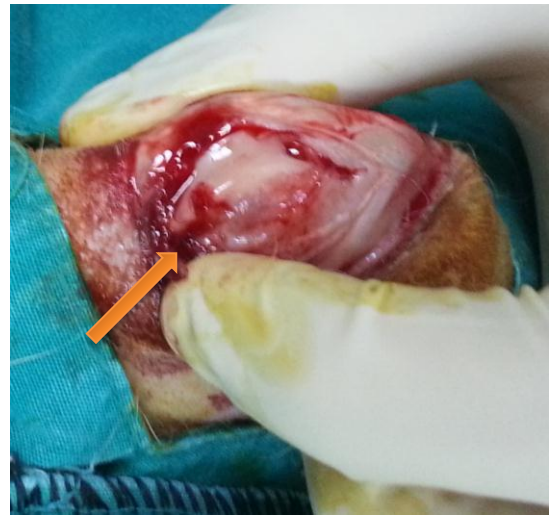
Şekil 3.1
Cerrahi öncesi hazırlık



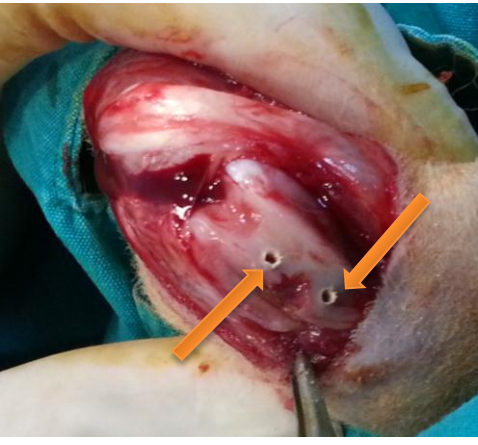
Şekil 3.2
Cilt kesisi



Şekil 3.3
Diz eklemine açılması



Şekil 3.4
Diz eklem kırıkta defekt oluşturulması



Şekil 3.5

Oluşturulan defekt etrafında tünel açılması



Şekil 3.6

Pediküllü sinoviya greftinin alınması



Şekil 3.7

Pediküllü sinoviya greftinin defektli bölgeye nakli



Şekil 3.8

Serbest sinoviyal greft nakli



Şekil 3.9

Tüm katların kapatılmış görüntüsü



Şekil 3.10

Sakrifikasyon sonrası alınan doku



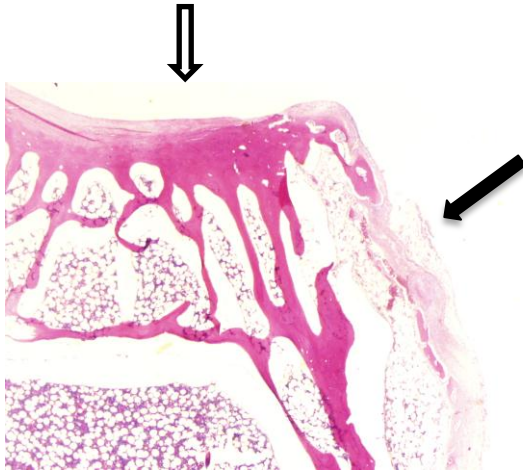
Şekil 3.11

4. Hafta 'da iyileşmiş operasyon bölgesi

3.2. Histolojik yöntem

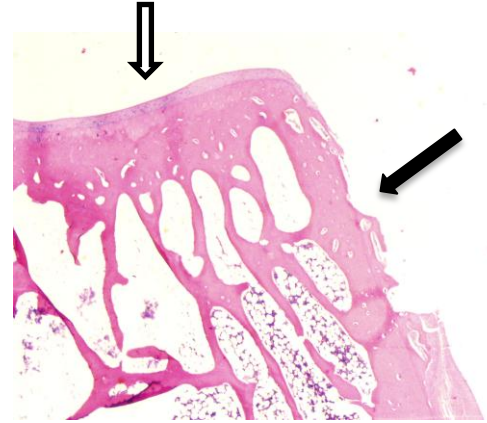
Histolojik ve immünohistokimyasal inceleme için, her diz en-bloc olarak çıkartılarak %10 formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildikten sonra 72 saat %10'luk formik asitle dekalsifiye edildi. Parafin takip sonrası parafin bloklardan 5 micron kalınlıkta kesitler alındıktan sonra etüvde 15 dakika 60 derecede bekletildi. Daha sonra xylene ve takiben %96'lık alkolden iki kez geçirilerek deparafinize edildi. Kesitlerin tamamı rutin hematoxilen-eozin boyası ve safranin-o histokimyasal boyası ile boyandı.

İmmünohistokimyasal inceleme için, deparafinize edilmiş kesitler, uygun hazırlık sonrası kollajen 2 için primer antikorlar ile avidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak, 60 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra antikorlar 1:1000 oranında %1'lik sığır serum albümini ile dilüe edildi. Negatif ve pozitif kontrol için kesitlerdeki matür kıkırdak iç kontrol olarak kullanıldı. Daha sonra bir ışık mikroskobu (Olympus BX51) ile histolojik ve immünohistokimyasal ve özel boyayla boyanmış kesitler değerlendirilerek görüntüler renkli dijital Olympus DP72 kamera ile kaydedilmiştir.



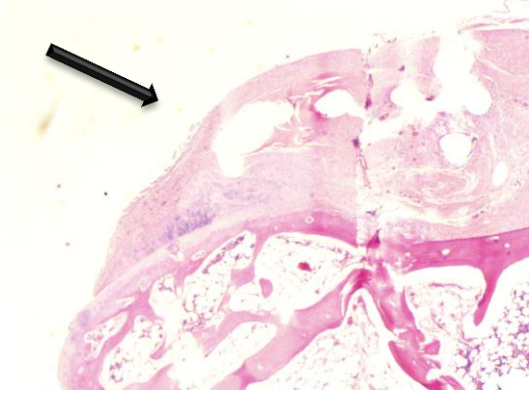
Şekil 3.12

Kontrol grubu 8. Hafta (H.E x20)
Siyah ok: defekt, Beyaz ok:
interkondüler oluk



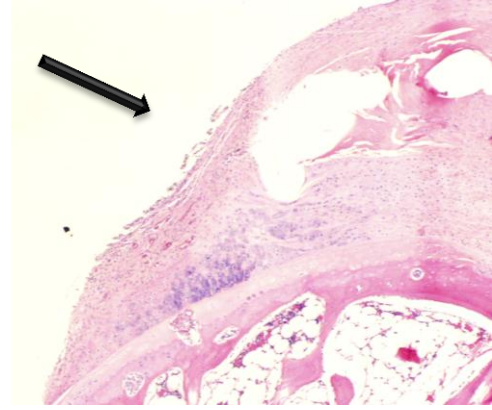
Şekil 3.13

Kontrol grubu 4. Hafta (H.E x20)
Siyah ok: defekt, Beyaz ok:
interkondüler oluk



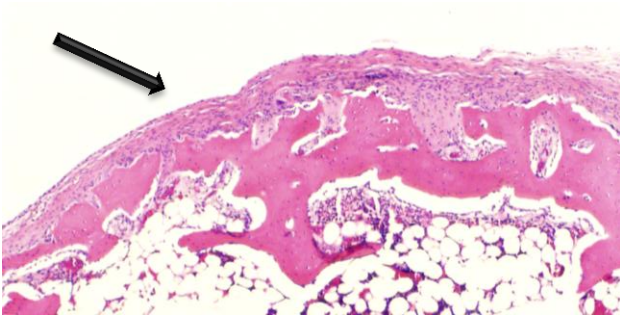
Şekil 3.14

Serbest greft yapılan grup 4. Hafta(H.E x20)
Siyah ok: Defektin genel görüntüsü



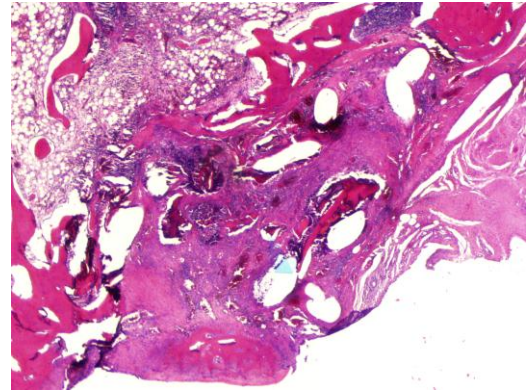
Şekil 3.15

Serbest greft yapılan grup 4. Hafta(H.E x40)
Siyah ok: Yüzey fibrilasyonu, kıkırdak matürasyonu, sütür materyali



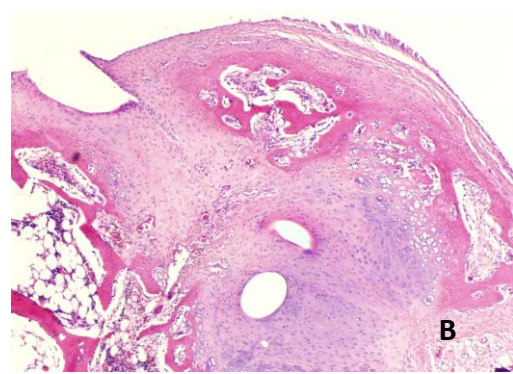
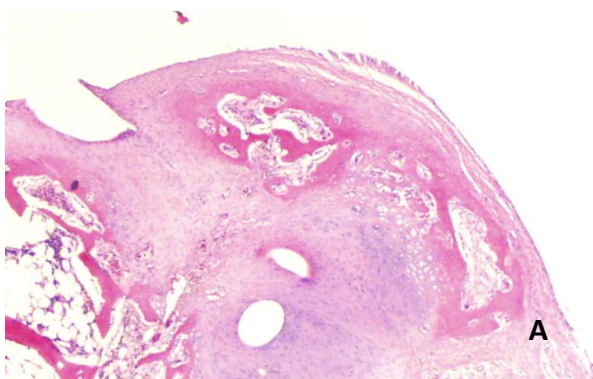
Şekil 3.16

Pediküllü greft yapılan grup 8. Hafta (H.E x40)
Siyah ok: Fibroblast ağırlıklı hücre grubu, düzgün yüzey



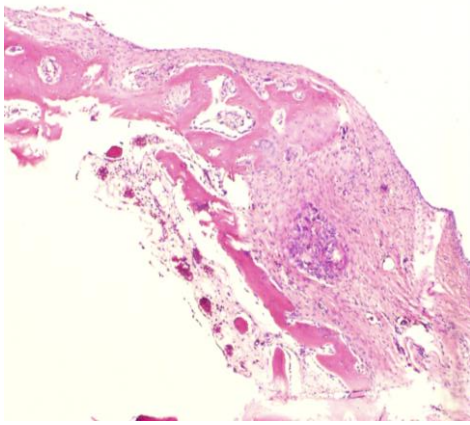
Şekil 3.17

Serbest greft yapılan grup 8. Hafta(H.E x20)
Osteomyelit, sütür materyali, yabancı cisim dev hücre reaksiyonu, medullaya kadar inen PMNL



Şekil 3.18

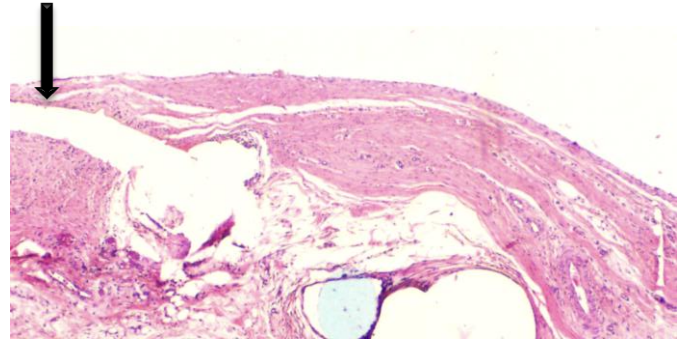
Serbest greft yapılan grup 8. Hafta (A: H.E x20, B: H.E x40)
Matür kıkırdak oluşumu, tidemark oluşumu, kıkırdak ada ortasında sütür boşluğu



Şekil 3.19

Pediküllü greft yapılan 4. Hafta(H.E x40)

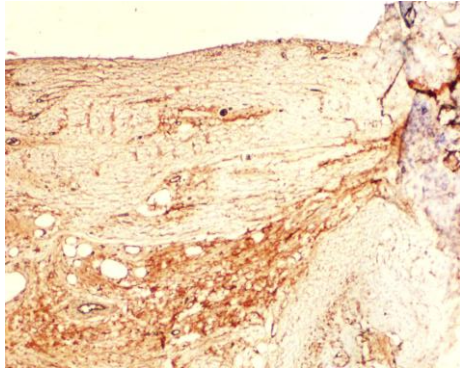
Kıkırdak matürasyonu zayıf, fibroblast ağırlıklı iyileşme, tidemark yok



Şekil 3.20

Pediküllü greft yapılan 4. Hafta(H.E x40)

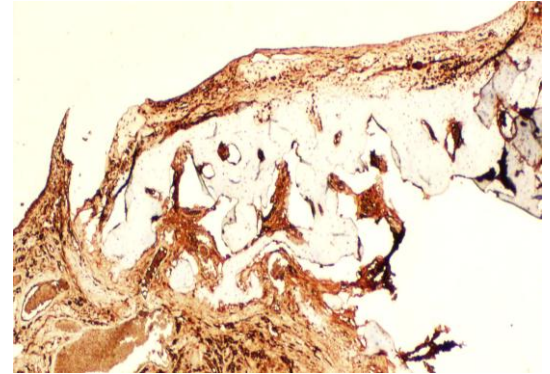
Siyah ok: Kötü iyileşme, yüzey yarıklanması pozitif



Şekil 3.21

Serbest greft yapılan grup 4. Hafta(x40)

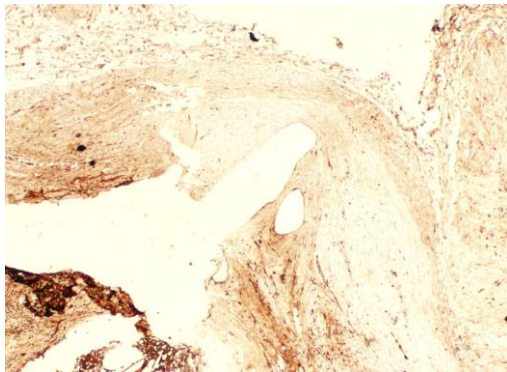
Grade 3 boyanma (Kollajen 2)



Şekil 3.22

Serbest greft yapılan grup 8. Hafta(x40)

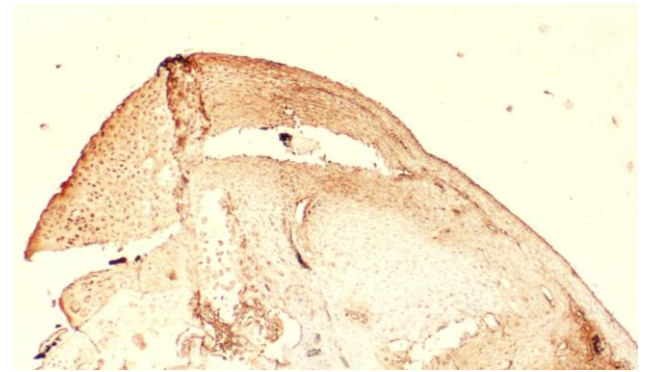
Grade 3 boyanma (Kollajen 2)



Şekil 3.23

Serbest greft yapılan grup 4. Hafta(x40)

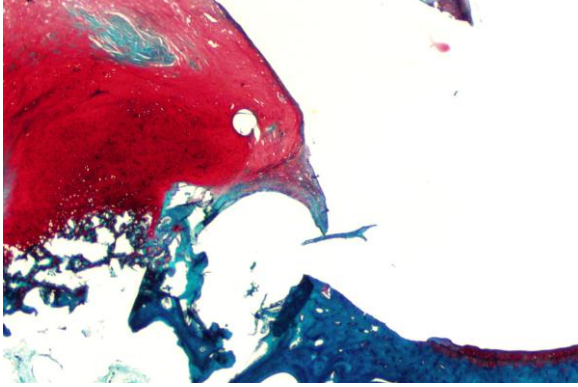
Grade 1 boyanma (Kollajen 2)



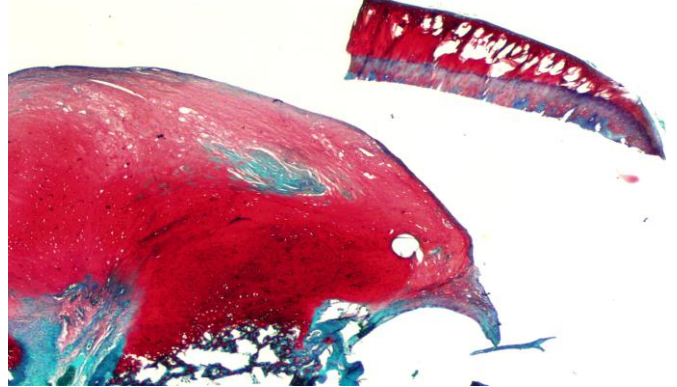
Şekil 3.24

Serbest greft yapılan grup 4. Hafta(x40)

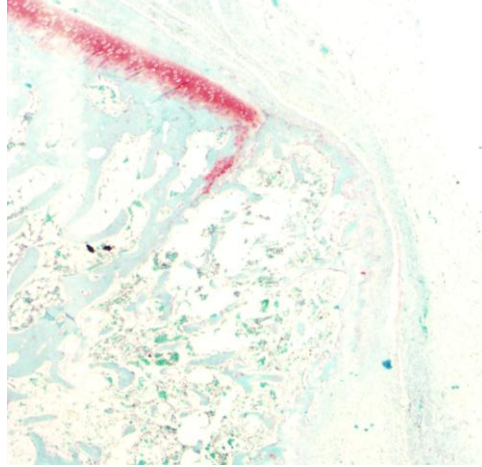
Grade 3 boyanma (Kollajen 2)



Şekil 3.25
Pediküllü greft yapılan grup 4. Hafta(x20)
Normal kıkırdak ile benzer boyanma (Safranin-O)



Şekil 3.26
Pediküllü greft yapılan grup 4. Hafta(x20)
Matür kıkırdağın farklı yerleşimi (Safranin-O)



Şekil 3.27
Serbest greft yapılan grup 4. Hafta(x20)
Kıkırdak ile zayıf boyanma, kemik oluşumu (Safranin-O)

Tablo 3.1
Histolojik Skorlama Sistemi

EKLEM KIKIRDAK DEFEKTLERİNDE HİSTOLOJİK SKORLAMA SİSTEMİ

Kategori	Skor
1. Orjinal eklem kıkırdak yüzeyine göre defekt dolum oranı	
%111-125	1
%91-110	0
%76-90	1
%51-75	2
%26-50	3
<%25	4
2. Çevre eklem kıkırdağı ile tamir dokusunun integrasyonu	
Normal devamlılık ve integrasyon	0
Azalmış hücre sayısı	1
Bir tarafta boşluk	2
İki tarafta boşluk	3
3. Tidemark üzerindeki kıkırdağın Safranin-O-Fast Green ile boyanması	
Normal	0
Hafif azalmış	1
Orta derecede azalmış	2
Belirgin Azalmış	3
Boyanma yok	4
4. Tidemark üzerindeki kıkırdağın hücre morfolojisi	
Normal	0
Kondrositlerin büyük kısmı yuvarlak ise	
%75 den fazla radial zone'da kolon oluşumu	0
%25-75 arası radial zone'da kolon oluşumu	1
<%25 radial zone'da kolon oluşumu (disorganize)	2
%50 Kondrosit morfolojisine sahip yuvarlak hücre	
%75 den fazla radial zone'da kolon oluşumu	2
%25-75 arası radial zone'da kolon oluşumu	3
<%25 radial zone'da kolon oluşumu (disorganize)	4
Çoğu iğsi yapıda (fibroblast benzeri hücreler)	5

5. Tüm defektin yapısı (sınırlar hariç)

Normal	0
1-3 küçük defekt	1
1-3 büyük defekt	2
>3 büyük defekt	3
Defekt içinde yarıklar	4

6. Yüzey yapısı

Normal	0
Hafif düzeyde fibrilasyon ve düzensizlik	1
Orta düzeyde fibrilasyon ve düzensizlik	2
Belirgin düzeyde fibrilasyon ve bozulma	3

7. Subkondral kemik yer değişim oranı

a) Yeni kemik orjinal tidemark'ın altındaysa	
%90-100	0
%75-89	1
%50-74	2
%25-49	3
<%25	4
b) Yeni kemik orjinal tidemark'ın üzerinde ise	
%90-100	0
%75-89	1
%50-74	2
%25-49	3
<%25	4

8. Tidemark'ın yeniden oluşturulması

Tam	0
%75-89	1
%50-74	2
%25-49	3
<%25	4

Not: Bütün kategorilerde alınan puan ne kadar yüksekse kıkırdak iyileşmesi o kadar kötüdür

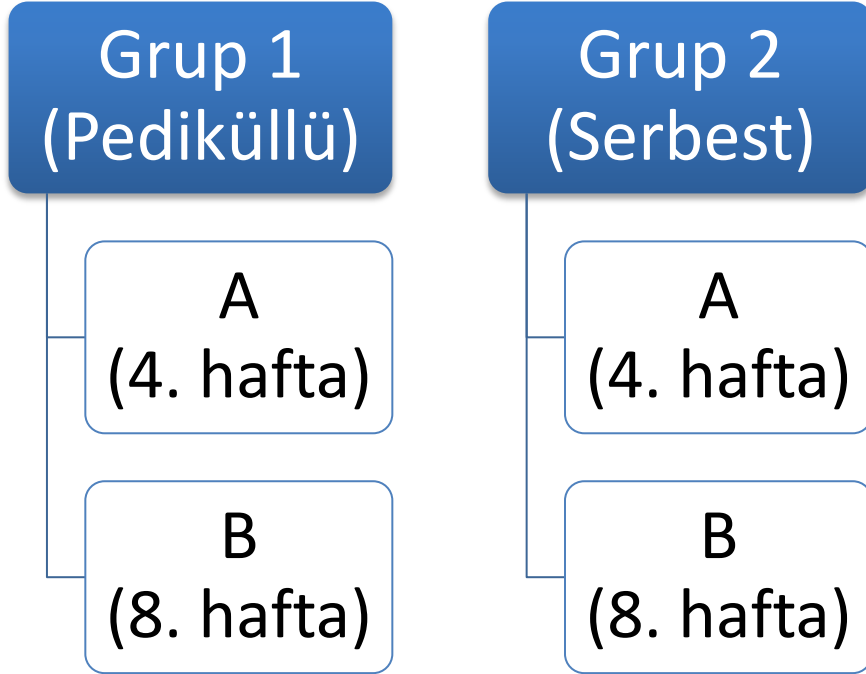
Tablo 3.2
Kollagen 2 ile boyanma derecesi

Kollagen 2 ile boyanma derecesi

Evre 1	Komşu normal kıkırdağa göre çok soluk ve fokal boyanma
Evre 2	Komşu normal kıkırdağa göre nispeten az boyanma
Evre 3	Komşu normal kıkırdak ile benzer boyanma

3.3. Çalışma gruplarının analizi ve istatistiksel yöntem

Çalışmamızda pediküllü (Grup 1) ve serbest (grup 2) sinoviyal fleplerin tam kat kırıldak defetkleri üstüne tedavi potansiyelleri karşılaştırıldı. Her iki çalışma grubundaki tavşanlar randomize olacak şekilde 4. ve 8. haftalarda sakrifiye edilerek dizleri en-blok çıkartıldı ve formalin ile fikse edildi. Grup 1 içerisinde altı adet tavşan 4. haftada (Grup 1-A) ve geri kalan altı tavşanda 8. haftada (Grup 1-B) sakrifiye edildi. Aynı işlem grup 2 çalışma grubu için de gerçekleştirildi ve sonuç olarak 6'şar adet tavşan içeren 4 adet çalışma grubu oluşturuldu.



Şekil 3.28
Çalışma grupları

Çalışmamızda grup analizleri aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

1. Grup 1 ve 2 içerisinde elde edilen veriler kontrol dizilerden elde edilen veriler ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı.
2. Grup 1 ve 2 içerisindeki 4. ve 8. haftada kurban edilen tavşanlardan (Grup 1-A vs. Grup 1-B, Grup 2-A vs. Grup 2-B) elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.
3. Dördüncü haftada kurban edilen tavşanlar (Grup 1-A vs. Grup 2-A) arasındaki veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.
4. Sekizinci haftada kurban edilen tavşanlar (Grup 1-B vs. Grup 2-B) arasındaki veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

İstatistiksel Yöntem

Elde edilen veriler, sosyal bilimler için hazırlanmış istatistik programı (SPSS) (Version 17, Chicago IL, USA) kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışmada kategorik ve sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler (ortalama, standart sapma, ortanca değer, minimum, maksimum, sayı ve yüzdelik dilim) verilmiştir. Ayrıca parametrik testlerin ön şartlarından varyansların homojenliği “ Levene ” testi ile kontrol edilmiştir. Normallik varsayımına ise “Shapiro-Wilk” testi ile bakılmıştır. İki grup arasındaki farklılıklar değerlendirilmek istendiğinde parametrik test ön şartlarını sağladığı durumda “Student’s t Test”; sağlamadığında ise “Mann Whitney–U testi” kullanılmıştır. Bağımlı iki grup arasındaki farklılıklar parametrik test ön şartlarını sağlandığı durumda “Eşleştirme t Testi”; sağlamadığında ise “Wilcoxon testi” ile değerlendirilmiştir. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Fisher’s Exact Test ve Ki Kare testi ile analiz edilmiştir. Beklenen frekansların % 20’den küçük olduğu durumlarda bu frekansların analize dahil edilmesi için “Monte Carlo Simülasyon Yöntemi” ile değerlendirme yapılmıştır. $p < 0,05$ düzeyi istatistik olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Gruplar için genel ortalama değerler

Çalışmamızda toplam 24 adet tavşanın 12'si dört hafta, geri kalan 12'si ise toplam sekiz hafta takip edilmişlerdir. Tavşanların post-operatif takipleri sırasında herhangi bir komplikasyona rastlanmamıştır ve herhangi bir tavşan kaybı söz konusu olmamıştır.

Bütün tavşanlara post-operatif dönemde serbest hareket tanınarak tam yük ile mobilize olmalarına izin verilmiştir. Takiplerinde dizde effüzyon, kızarıklık, ısı artışı vb. enfeksiyon belirtisine hiç bir tavşanda rastlanmamıştır.

Yapılan histolojik değerlendirme sonucu iki adet tavşanın sol dizlerinde değerlendirilmeye uygun büyüklükte defekt saptanamamıştır.

Oluşturulan tam kat defekt çapları değerlendirildiğinde kontrol grubunda ortalama defekt çapı 2.56 mm (min:1, mak:4.5 mm) (2 adet kontrol dizde anlamlı defekt saptanamadı), Grup 1'de 2.875 mm (min:1, mak:4.5 mm), ve Grup 2'de 3.33 mm (min:2, mak:5 mm) olarak değerlendirilmiştir.

Histolojik inceleme sonuçları değerlendirildiğinde skortlama sistemine göre; kontrol grubunda orjinal eklem kıkırdak yüzeyine göre defekt dolum oranı skoru ortalaması 0.72 (min:0, mak:2), Grup 1'de 0.16 (min:0, mak:1), ve Grup 2'de 0.5 (min:0, mak:1);

kontrol grubunda evre eklem kıkırdağı ile tamir dokusunun integrasyonu skoru ortalaması 2 (min:1, mak:3), Grup 1'de 1.5(min:0, mak:3), ve Grup 2'de 1.5 (min:0, mak:3);

kontrol grubunda tidemark üzerindeki kıkırdağın safranin-O-fast green ile boyanması skoru ortalaması 3 (min:1, mak:4), Grup 1'de 2.3 (min:0, mak:3), ve Grup 2'de 1.16 (min:0, mak:3);

kontrol grubunda tidemark üzerindeki kıkırdağın hücre morfolojisi skoru ortalaması 4.63 (min:1, mak:5), Grup 1'de 2.91 (min:1, mak:5), ve Grup 2'de 1.66 (min:1, mak:4);

kontrol grubunda tüm defektin yapısı skoru ortalaması 3.18 (min:0, mak:4), Grup 1'de 1.41 (min:0, mak:4), ve Grup 2'de 1.25 (min:0, mak:4);

kontrol grubunda yüzeyin yapısı skoru ortalaması 2.5 (min:1, mak:3), Grup 1’de 1.75 (min:1, mak:3), ve Grup 2’de 1.75 (min:1, mak:3);

kontrol grubunda subkondral kemik yer değişim oranı skoru ortalaması 3.22 (min:0, mak:4), Grup 1’de 1.5 (min:0, mak:3), ve Grup 2’de 2.58 (min:0, mak:4);

kontrol grubunda tidemark’ın yeniden oluşturulması skoru ortalaması 3.4 (min:2, mak:4), Grup 1’de 2.16 (min:1, mak:4), ve Grup 2’de 2 (min:1, mak:4);

kontrol grubunda kollagen 2 ile boyanma derecesi ortalama skoru ortalaması 1.68 (min:1, mak:3), Grup 1’de 2.33 (min:1, mak:3), ve Grup 2’de 2.66 (min:1, mak:3) olarak bulundu.

Tablo 4.1
Ortalama değerler

	Ortalama Skorlar		
	Kontrol	Grup 1	Grup 2
Defekt çapı (mm)	2.56(min:1,mak:4.5)	2.875(min:1,mak:4.5)	3.33(min:2,mak:5)
Orjinal eklem kırıkta yüzeyine göre defekt dolun oranı	0.72(min:0,mak:2)	0.16(min:0,mak:1)	0.5 (min:0, mak:1)
Çevre eklem kırıktağı ile tamir dokusunun integrasyonu	2(min:1,mak:3)	1.5(min:0, mak:3)	1.5 (min:0, mak:3)
Tidemark üzerindeki kırıktağıın safranin-O-fast green ile boyanması	3(min:1,mak:4)	2.3 (min:0, mak:3)	1.16(min:0,mak:3)
Tidemark üzerindeki kırıktağıın hücre morfolojisi	4.63(min:1,mak:5)	2.91(min:1,mak:5)	1.66(min:1,mak:4)
Tüm defektin yapısı	3.18(min:0,mak:4)	1.41(min:0,mak:4)	1.25(min:0,mak:4)
Yüzeyin yapısı	2.5 (min:1, mak:3)	1.75(min:1,mak:3)	1.75(min:1,mak:3)
Subkondral kemik yer değişim oranı	3.22(min:0,mak:4)	1.5 (min:0, mak:3)	2.58(min:0,mak:4)
Tidemark’ın yeniden oluşturulması	3.4 (min:2, mak:4)	2.16(min:1,mak:4)	2(min:1,mak:4)
Kollagen 2 ile boyanma derecesi	1.68(min:1,mak:3)	2.33(min:1,mak:3)	2.66(min:1,mak:3)

4.2. İstatistiksel analiz sonuçları

1. (pediküllü) ve 2. (serbest) gruplar karşılaştırıldığında işlem yapılmayan dizlerde (sol) yalnızca subkondral kemik yer değişim oranı (**p=0.049**) kategorisinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Tablo 4.2). İki grup arasında işlem yapılan dizlerde (sağ) ise yalnızca tidemark üzerindeki kırırdağın hücre morfolojisi (**p=0.029**) ve yüzey yapısı (**p=0.049**) kategorilerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Tablo 4.3-4.4).

Tablo 4.2

Pediküllü ve serbest gruplar ile subkondral kemik (sol diz) yer değişim (replacement) oranı arasındaki ilişki
Pediküllü sinoviya uygulanan grupta anlamlı derecede daha iyi yer değişim oranı (p=0.049)

			SOL BELOW				Total	p
			90-100%	50-74%	25-49%	<25%		
GRUP	PEDIKÜLLÜ	Count	0	2	1	2	5	
		% within GRUP	,0%	40,0%	20,0%	40,0%	100,0%	
		% within sol below	,0%	100,0%	25,0%	100,0%	55,6%	
	% of Total	,0%	22,2%	11,1%	22,2%	55,6%		
	SERBEST	Count	1	0	3	0	4	
		% within GRUP	25,0%	,0%	75,0%	,0%	100,0%	
% within sol below		100,0%	,0%	75,0%	,0%	44,4%		
% of Total	11,1%	,0%	33,3%	,0%	44,4%			
Total	Count	1	2	4	2	9		
	% within GRUP	11,1%	22,2%	44,4%	22,2%	100,0%		
	% within sol below	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%		
	% of Total	11,1%	22,2%	44,4%	22,2%	100,0%		
							0.049	

Tablo 4.3

Pediküllü ve serbest gruplar ile tidemark üzerindeki kırırdağın (sağ diz) hücre morfolojisi arasındaki ilişki
Serbest sinoviya uygulanan grupta anlamlı derecede daha iyi kırırdağ hücre morfolojisi(p=0.029)

			SAĞ MORFOLOJİ				Total	p
			>75% 'den fazla radial zonada kolon oluşumu (Büyük kısmı Yuvarlak ise)	>75% 'den fazla radial zone'da kolon oluşumu (%50 Kondrosit Morfolojisinde Yuvarlak Hücre)	25-75% arası radial zone'da kolon oluşumu (%50 Kondrosit Morfolojisinde Yuvarlak Hücre)	Çoğu işsi yapıda hücre (fibroblast benzeri)		
GRUP	PEDIKÜLLÜ	Count	2	0	0	4	6	
		% within GRUP	33,3%	,0%	,0%	66,7%	100,0%	
		% within sağ morfolojisi	33,3%	,0%	,0%	100,0%	50,0%	
	% of Total	16,7%	,0%	,0%	33,3%	50,0%		
	SERBEST	Count	4	1	1	0	6	
		% within GRUP	66,7%	16,7%	16,7%	,0%	100,0%	
% within sağ morfolojisi		66,7%	100,0%	100,0%	,0%	50,0%		
% of Total	33,3%	8,3%	8,3%	,0%	50,0%			
Total	Count	6	1	1	4	12		
	% within GRUP	50,0%	8,3%	8,3%	33,3%	100,0%		
	% within sağ morfolojisi	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%		
	% of Total	50,0%	8,3%	8,3%	33,3%	100,0%		
							0.029	

Tablo 4.4

Pediküllü ve serbest gruplar ile yüzey yapısı (sağ diz) arasındaki ilişki
Pediküllü sinoviya uygulanan grupta anlamlı derecede daha iyi yüzey yapısı (p=0.049)

		SAĞ YÜZEY YAPISI			Total	p
		Hafif düzeyde fibrilasyon ve düzensizlik	Orta düzeyde fibrilasyon ve düzensizlik	Belirgin fibrilasyon ve bozulma		
GRUP	PEDİKÜLLÜ	Count	3	3	0	6
		% within GRUP	50,0%	50,0%	,0%	100,0%
		% within sağ yüzey yapısı % of Total	37,5%	100,0%	,0%	50,0%
	SERBEST	Count	5	0	1	6
		% within GRUP	83,3%	,0%	16,7%	100,0%
		% within sağ yüzey yapısı % of Total	62,5%	,0%	100,0%	50,0%
Total	Count	8	3	1	12	
	% within GRUP	66,7%	25,0%	8,3%	100,0%	
	% within sağ yüzey yapısı % of Total	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
						0.049

A (4.hafta) ve B (8.hafta) grupları karşılaştırıldığında işlem yapılan dizlerde (sağ) yalnızca tidemark üzerindeki kırıkdağın hücre morfolojisi (**p=0.048**) ve subkondral kemik yer değişim oranı (**p=0.036**) kategorilerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Tablo 4.5-4.6). İki grup arasında işlem yapılmayan dizlerde (sol) ise yalnızca tidemark üzerindeki kırıkdağın hücre morfolojisi (**p=0.046**) kategorisinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.5

4.hafta ve 8.hafta grupları ile subkondral kemik (sağ diz) yer değişim (replacement) oranı arasındaki ilişki
4.hafta grubunda anlamlı derecede daha iyi kırıkdağ hücre morfolojisi (p=0.036)

		SAĞ BELOW				Total	p
		90–100%	75–89%	50–74%	25–49%		
DÖRT VE SEKİZ HFT	4 HAFTA	Count	3	1	1	0	5
		% within DÖRT VE SEKİZ HFT	60,0%	20,0%	20,0%	,0%	100,0%
		% within sağ below % of Total	100,0%	50,0%	33,3%	,0%	45,5%
	8 HAFTA	Count	0	1	2	3	6
		% within DÖRT VE SEKİZ HFT	,0%	16,7%	33,3%	50,0%	100,0%
		% within sağ below % of Total	,0%	50,0%	66,7%	100,0%	54,5%
Total	Count	3	2	3	3	11	
	% within DÖRT VE SEKİZ HFT	27,3%	18,2%	27,3%	27,3%	100,0%	
	% within sağ below % of Total	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
						0.036	

Tablo 4.6

4.hafta ve 8.hafta grupları ile tidemark üzerindeki kırıkdağın (sağ diz) hücre morfolojisi arasındaki ilişki
8.hafta grubunda anlamlı derecede daha iyi kırıkdağ hücre morfolojisi (p=0.048)

		SAĞ MORFOLOJİ			Total	p	
		>75% 'den fazla radial zonada kolon oluşumu (Büyük kısmı Yuvarlak ise)	>75% 'den fazla radial zone'da kolon oluşumu (%50 Kondrosit Morfolojisinde Yuvarlak Hücre)	Çoğu iğsi yapıda hücre (fibroblast benzeri)			
DÖRT VE SEKİZ HFT	4HAFTA	Count	2	0	4	0.048	
		% within DÖRT VE SEKİZ HFT	33,3%	,0%	66,7%		
		% within sağ morfolojisi	50,0%	,0%	80,0%		
		% of Total	16,7%	,0%	33,3%		
	8HAFTA	Count	2	3	1		6
		% within DÖRT VE SEKİZ HFT	33,3%	50,0%	16,7%		100,0%
	% within sağ morfolojisi	50,0%	100,0%	20,0%	50,0%		
	% of Total	16,7%	25,0%	8,3%	50,0%		
Total		Count	4	3	5	12	
		% within DÖRT VE SEKİZ HFT	33,3%	25,0%	41,7%	100,0%	
		% within sağ morfolojisi	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	33,3%	25,0%	41,7%	100,0%		

Tablo 4.7

4.hafta ve 8.hafta grupları ile tidemark üzerindeki kırıkdağın (sol diz) hücre morfolojisi arasındaki ilişki
8.hafta grubunda anlamlı derecede daha iyi kırıkdağ hücre morfolojisi (p=0.046)

		SOL MORFOLOJİ			Total	p	
		>75% 'den fazla radial zonada kolon oluşumu (Büyük kısmı Yuvarlak ise)	>75% 'den fazla radial zone'da kolon oluşumu (%50 Kondrosit Morfolojisinde Yuvarlak Hücre)	Çoğu iğsi yapıda hücre (fibroblast benzeri)			
DÖRT VE SEKİZ HFT	4.HAFTA	Count	0	0	6	0.046	
		% within DÖRT VE SEKİZ HFT	,0%	,0%	100,0%		
		% within sol morfolojisi	,0%	,0%	75,0%		
		% of Total	,0%	,0%	54,5%		
	8.HAFTA	Count	1	2	2		5
		% within DÖRT VE SEKİZ HFT	20,0%	40,0%	40,0%		100,0%
	% within sol morfolojisi	100,0%	100,0%	25,0%	45,5%		
	% of Total	9,1%	18,2%	18,2%	45,5%		
Total		Count	1	2	8	11	
		% within DÖRT VE SEKİZ HFT	9,1%	18,2%	72,7%	100,0%	
		% within sol morfolojisi	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	9,1%	18,2%	72,7%	100,0%		

Defekt çapları ve kollajen 2 ile boyanma dereceleri değerlendirildiğinde; kollajen 2 ile boyanma açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanamamıştır. Sağ defekt çapları değerlendirildiğinde ise Grup 1-A ile Grup 1-B arasında ($p=0.015$), Grup 1-A ile Grup 2-A arasında ($p=0.042$) ve Grup 1-B ile Grup 2-B arasında ($p=0.018$) istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Tablo 4.8-4.9).

Tablo 4.8
4.hafta ve 8.hafta grupları ile defekt çapları ve kollajen 2 ile boyanma arasındaki ilişki

1A1B	PEDİKÜL												p
	4. HAFTA						8. HAFTA						
	N	Mean	Std. Deviation	Median	Min	Maks	N	Mean	Std. Deviation	Median	Min	Maks	
sol kollajen 2	6	1,33	0,52	1,00	1,00	2,00	5	1,60	0,55	2,00	1,00	2,00	0,54
sol defekt çapı	6	3,08	0,92	3,00	1,50	4,00	5	2,50	0,79	2,50	1,50	3,50	0,33
sağ kollajen 2	6	2,50	0,84	3,00	1,00	3,00	6	2,17	0,75	2,00	1,00	3,00	0,49
sağ defekt çapı	6	3,92	0,97	4,25	2,00	4,50	6	1,83	1,17	1,50	1,00	4,00	0,015*

2A2B	SERBEST												p
	4. HAFTA						8. HAFTA						
	N	Mean	Std. Deviation	Median	Min	Maks	N	Mean	Std. Deviation	Median	Min	Maks	
sol kollajen 2	6	1,83	0,41	2,00	1,00	2,00	5	2,00	0,71	2,00	1,00	3,00	0,792
sol defekt çapı	6	2,67	1,40	3,00	1,00	4,50	5	1,90	1,24	1,50	1,00	4,00	0,537
sağ kollajen 2	6	2,50	0,84	3,00	1,00	3,00	6	2,83	0,41	3,00	2,00	3,00	0,589
sağ defekt çapı	6	2,83	0,52	3,00	2,00	3,50	6	3,83	0,98	3,50	3,00	5,00	0,093

Tablo 4.9

Pediküllü ve serbest gruplar ile defekt çapları ve kollagen 2 ile boyanma arasındaki ilişki

1A2A			sol kollagen 2	sol defekt çapı	sağ kollagen 2	sağ defekt çapı
PEDİKÜL	4. HAFTA	N	6	6	6	6
		Mean	1,33	3,08	2,50	3,92
		Std. Deviation	0,52	0,92	0,84	0,97
		Median	1,00	3,00	3,00	4,25
		Minimum	1,00	1,50	1,00	2,00
		Maximum	2,00	4,00	3,00	4,50
		N	6	6	6	6
SERBEST	4. HAFTA	Mean	1,83	2,67	2,50	2,83
		Std. Deviation	0,41	1,40	0,84	0,52
		Median	2,00	3,00	3,00	3,00
		Minimum	1,00	1,00	1,00	2,00
		Maximum	2,00	4,50	3,00	3,50
		p	0,093	0,617	0,999	0,042*

1B2B			sol kollagen 2	sol defekt çapı	sağ kollagen 2	sağ defekt çapı
PEDİKÜL	8. HAFTA	N	5	5	6	6
		Mean	1,60	2,50	2,17	1,83
		Std. Deviation	0,55	0,79	0,75	1,17
		Median	2,00	2,50	2,00	1,50
		Minimum	1,00	1,50	1,00	1,00
		Maximum	2,00	3,50	3,00	4,00
		N	5	5	6	6
SERBEST	8. HAFTA	Mean	2,00	1,90	2,83	3,83
		Std. Deviation	0,71	1,24	0,41	0,98
		Median	2,00	1,50	3,00	3,50
		Minimum	1,00	1,00	2,00	3,00
		Maximum	3,00	4,00	3,00	5,00
		p	0,339	0,246	0,083	0,018*

Histolojik skorumaya sistemine göre alınan skorların toplamı ile cerrahi yöntemler karşılaştırıldığı zaman hem pediküllü ($p=0.008$) hem de serbest greft ($p=0.033$) yapılan gruplarda kontrol dizler ile cerrahi yapılan dizler arasında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilmiştir (Tablo 4.11). Haftalar karşılaştırıldığında ise sağ ve sol dizler arasında sadece 4. hafta gruplarında (pedikül $p=0.026$, serbest $p=0.027$) istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilirken 8. hafta gruplarında istatistiksel anlamlı bir fark tespit edilememiştir (Tablo 4.12).

Tablo 4.10
Toplam skorların hafta ve yöntemlere göre karşılaştırılması

SOL TOPLAM														
	N	Ort	SS	Med	Min	Maks		N	Ort	SS	Med	Min	Maks	p
1A	6	24,50	2,66	25,00	20,00	27,00	2A	6	22,17	3,25	22,00	17,00	26,00	0,24
1B	6	18,50	9,93	21,50	0,00	27,00	2B	6	16,17	9,54	18,50	0,00	27,00	0,699
p	0,24						p	0,24						

SAĞ TOPLAM														
	N	Ort	SS	Med	Min	Maks		N	Ort	SS	Med	Min	Maks	p
1A	6	16,00	4,10	16,00	9,00	21,00	2A	6	12,17	3,06	12,50	8,00	17,00	0,132
1B	6	11,50	3,62	11,50	6,00	17,00	2B	6	12,67	2,66	12,00	9,00	17,00	0,589
p	0,132						p	0,937						

Tablo 4.11
Serbest ve pediküllü gruplarda sağ ve sol dizlerin toplam skorlara göre karşılaştırılması

		SOL TOPLAM	SAĞ TOPLAM	p
PEDİKÜL (1A+1B)	N	12	12	0,008**
	Mean	21,5000	13,7500	
	Std. Deviation	7,60980	4,37191	
	Median	24,5000	14,0000	
	Minimum	0,00	6,00	
	Maximum	27,00	21,00	
SERBEST (2A+2B)	N	12	12	0,033*
	Mean	19,1667	12,4167	
	Std. Deviation	7,48129	2,74552	
	Median	21,0000	12,0000	
	Minimum	0,00	8,00	
	Maximum	27,00	17,00	
Total	N	24	24	0,001**
	Mean	20,3333	13,0833	
	Std. Deviation	7,47556	3,63458	
	Median	22,5000	12,5000	
	Minimum	0,00	6,00	
	Maximum	27,00	21,00	

Tablo 4.12
Sağ ve sol dizlerin toplam skorlara göre karşılaştırılması

		SOL TOPLAM	SAĞ TOPLAM	p
4. HAFTA PEDİKÜL (1A)	N	6	6	0,026*
	Mean	24,5000	16,0000	
	Std. Deviation	2,66458	4,09878	
	Median	25,0000	16,0000	
	Minimum	20,00	9,00	
	Maximum	27,00	21,00	
8. HAFTA PEDİKÜL (1B)	N	6	6	0,093
	Mean	18,5000	11,5000	
	Std. Deviation	9,93479	3,61939	
	Median	21,5000	11,5000	
	Minimum	0,00	6,00	
	Maximum	27,00	17,00	
4. HAFTA SERBEST (2A)	N	6	6	0,027*
	Mean	22,1667	12,1667	
	Std. Deviation	3,25064	3,06050	
	Median	22,0000	12,5000	
	Minimum	17,00	8,00	
	Maximum	26,00	17,00	
8. HAFTA SERBEST (2B)	N	6	6	0,5
	Mean	16,1667	12,6667	
	Std. Deviation	9,53764	2,65832	
	Median	18,5000	12,0000	
	Minimum	0,00	9,00	
	Maximum	27,00	17,00	
Total	N	24	24	0,001**
	Mean	20,3333	13,0833	
	Std. Deviation	7,47556	3,63458	
	Median	22,5000	12,5000	
	Minimum	0,00	6,00	
	Maximum	27,00	21,00	

5. TARTIŞMA

Hasarlı kıkırdak dokusu çok ciddi bir klinik problemdir ve etkili bir şekilde tedavisi önemlidir. Bunun sebebi, kıkırdak hasarının ilerleyici olması ve yıllar içerisinde tedavi edilmediği takdirde osteoartrit gelişimine neden olarak tıbbi harcamalara önemli bir yük getirmesidir. Osteoartrit oldukça sık görülen bir rahatsızlıktır ve bir kere oluştuktan sonra geriye dönük tedavi edilememektedir. Bu nedenle hastalığın *ilk aşaması* olan kıkırdak hasarının erken dönemde tespiti ve tedavi edilebilmesi, ileri dönemde ihtiyaç duyulan artroplasti gibi yüksek maliyetli tedavileri önleyecektir. İşte bu nedenlerden dolayı, bu uzmanlık tezi çalışması kapsamında gerçekleştirilen bu deneysel araştırmanın önemi, hem bu hasarlı kıkırdak dokusunun tamirinde sinoviyum kullanımı ile ortopedi alanında farklı bir yaklaşım sunması, hem de ileride yapılacak benzer deneysel hayvan modeli in-vivo çalışmalara öncülük etmesidir. Araştırmanın başka bir önemi, tedavi yönteminin ileri dönemde osteoartrit gelişimini engelleyerek bu sık görülen ve tıbbi harcamalara yük getiren sorunu ortadan kaldıracak olmasıdır. Son olarak, bu çalışma ile birlikte, sinoviya yardımı ile doku mühendisliği alanında geliştirilen yapay kıkırdakların, tıp alanında in-vivo olarak kullanılabilmesinin önü açılacak ve bu çalışma yapay iskele ile sinoviyal dokunun birlikte kullanılması ile ilgili çalışmalar için bir başlangıç oluşturacaktır. Bu nedenle biz de bu tez çalışmamızda bu önemli konu üstünde durarak sinoviyal dokunun olası kıkırdak tamir potansiyelini ortaya koyabilmek için bir deneysel hayvan modeli geliştirdik ve pediküllü ve serbest sinoviya greftleri arasındaki iyileşme oranlarını tavşan deney guruplarında karşılaştırmayı amaçladık.

İdeal kıkırdak yaralanmasının tedavisi çevresiyle tamamen uyum sağlamış, mekanik olarak yeterli güce sahip ve hasarlı bölgeyi tamamen doldurmuş bir hiyalin kıkırdak oluşumu ile sonuçlanmalıdır. Oluşan tamirin biyolojik olarak kabul edilebilmesi için yenilenen kıkırdak dokusunun eklem yüzey konturunu sağlamış, sağlam çevre kıkırdak ile birleşmiş ve yük taşımaya uygun şekilde sert olması gerekmektedir. Literatürde yayınlanmış günümüze kadar olan çalışmalara baktığımızda bilinen tedavi yöntemleriyle hiyalin kıkırdak elde etmenin mümkün olmadığı görülmektedir. Çoğu zaman iyileşme dokusu karışık bir histolojiye sahip olmakta ve doku içerisinde birden fazla kıkırdak tipi tespit edilmektedir. İdeal olan her şeyi ile uyumlu ve güçlü bir artiküler kıkırdak elde etmektir.

Günümüzde sıklıkla uygulanan tedavi yöntemlerinin başında kemik iliği uyarı yöntemleri gelmektedir. Bu tedaviler sonucunda en iyi ihtimalle fibröz kıkırdak oluşmaktadır. Osteokondral greftler ile yapılan tedavilerde ise hazır oluşmuş artiküler hiyalin kıkırdak

transfer edilmektedir. Daha ileri yöntemlere daha büyük defektlerin tedavisi için gereksinim duyulmuştur. Hücre temelli bu yöntemlerin başında otolog kondrosit implantasyonu gelmektedir. Bu yöntemle hiyalin benzeri kırıkta elde edilebilmektedir. Oluşan dokunun kalitesini artırmak ve iyileşmeyi hızlandırmak için otolog kondrosit implantasyonu matriks rehberli olarak da gerçekleştirilebilmektedir. Son yıllarda kök hücreler kullanılarak iyileşme sağlamaya yönelik çalışmalar hız kazanmıştır.

Eklem kırıkdağı yaralanmaları her yaştan insanı etkileyebilen çok farklı klinik tablolara yol açabilen, yaygın ve tıbbi harcamalara ciddi yük getiren bir hastalıktır (44). Son zamanlarda yapılan büyük çalışmalarda artroskopi sırasında %60 civarında eklem kırıkta hasarının görüldüğü literatürde bildirilmiştir(45, 46). Her yıl sadece ABD’de yapılan kırıkta lezyonlarına yönelik cerrahi girişim sayısı yaklaşık 500 bindir (47). Eklem kırıkdağını ilgilendiren bu denli fazla cerrahi işlem olmasının bir diğer nedeni de, her ne kadar hiyalin eklem kırıkdağının kendini yenileme kapasitesi düşük olsa da, belirli bir tamir potansiyelinin olmasıdır (44). Bu nedenden dolayı bizde bu tez çalışmamızda tartışmalı ve tam olarak açıklığa kavuşturulmamış kırıkta yaralanmalarının tedavisi üstüne, farklı bir yaklaşım ile deneysel bir çalışma yapmayı planladık. Oluşturduğumuz hayvan modelinde, fokal tam kat kırıkta defektlerinin tedavisinde, mezenkimal kök hücre kaynağı olarak sinoviyumu hem serbest hem de pediküllü greftler olarak kullanarak, sinoviyum içerisindeki mezenkimal kök hücrelerin fokal kırıkta defektinin tamirinde kullanılabilmesini amaçladık.

Literatürde günümüzde pek çok farklı kırıkta tedavi yöntemi tariflenmiş ve tedavi sonuçları farklı hasta gruplarında araştırılmıştır. Herhangi bir olguda tam kat kırıkta yaralanması için kırıkta tamir yöntemini seçerken defektin biyolojisi yanı sıra hastanın fiziksel durumu ve gereksinimleri de göz önünde bulundurulmalıdır (44). Hastanın beklentileri, rehabilitasyon programına uyumu, iş durumu ve sportif aktiviteleri seçilecek yöntemi etkilemektedir (44). Debridman bu yöntemlerden en basit fakat öngörülebilir sonuçları en düşük olanıdır (44). Yetmiş altı dizde yapılan prospektif bir çalışmada hastaların %50’sinden fazlasında ilerleme saptanmıştır; fakat terapötik etki çoğunlukla sadece bir yıl sürmüştür (5). Moseley ve ark. çalışmalarında artroskopik lavaj ve plaseboyu karşılaştırmışlardır. Ne artroskopik lavaj ne de debridman plasebo grubundan üstün bulunmamıştır (48). Bir diğer teknik orjinalini Pridie’nin tanımladığı, Steadman’ın sadeleştirdiği mikrokirik yöntemidir (49). Mikrokirik yöntemi uygulaması kolay, ucuz ve hasta tarafından iyi tolere edilebilen bir tekniktir. Steadman ve arkadaşları 4 cm²’den küçük defekti olan 72 hastanın sonuçlarını incelediklerinde %80 hastada ilerleme saptamışlardır (50). Dorotka ve ark. koyun modelinde kollajen membran ile pıhtının stabilize edildiği zaman

defektin dolumunun daha iyi olduğunu göstermişlerdir (51). Otolog osteokondral greftleme 1990'lı yılların ortalarından beri eklem kıkırdak tamirinde kullanılmıştır (7). Tek dolgu transferinde defekt büyüklüğü limit faktör olduğu için birden çok daha küçük tıkaçların kullanıldığı mozaikplasti yöntemi geliştirilmiştir. Literatürde mozaikplasti ile ilgili sonuçlar değişkendir. Hangody ve ark. 5 yıllık takipte %87 iyi-mükemmel sonuçlar göstermişlerdir (7). Bentley ve ark. ise otolog kondrosit implantasyonu ile mozaikplastiyi karşılatırdıkları çalışmalarında otolog kondrosit implantasyonu ile % 88, mozaikplasti ile % 69 iyi-mükemmel sonuç göstermişlerdir (52). Görüldüğü gibi literatürdeki çalışmalar farklı hasta gruplarında, farklı takip sürelerinde gerçekleştirilen ve klinik olarak karşılaştırılabilmenin pek de mümkün olmadığı çalışmalardır. Aynı şekilde kıkırdak iyileşmesinin tedavi seçenekleri ile de ilgili olarak literatürde geniş kapsamlı bir meta-analizde bulunmadığından, yukarıda özetlenen tedavi yöntemlerinin hangisinin daha üstün olduğu da tam olarak bilinmemektedir.

Kıkırdak defektlerde otolog kondrosit transplantasyonu ilk olarak 1994 yılında Brittberg ve ark. tarafından tanımlanmıştır (53). Birçok gözlemsel kohort çalışmada iki yıl içinde %85-92'ye varan oranda iyi-mükemmel sonuç yayınlanmıştır (3, 53, 54). Otolog kondrosit implantasyonu ile diğer kıkırdak tamir yöntemlerini karşılatıran birçok çalışma vardır. Horas ve ark. otolog kondrosit implantasyonu ile otolog osteokondral greftlemeyi karşılatırdıkları çalışmalarında otolog kondrosit implantasyonunun iyileşme hızını daha düşük bulmuşlardır (6). Bentley ve ark. otolog kondrosit implantasyonu yapılan hastalarda %89, mozaikplasti yapılan hastalarda %69 iyi-mükemmel sonuç saptamışlardır (52). Otolog kondrosit implantasyonu ile mikrokırık yöntemini karşılatıran 2 çalışma vardır. Knutsen ve ark. her iki grupta klinik ve radyolojik olarak bir fark saptamamışlardır (55). Saris ve ark. çalışmalarında 1 yıllık takip sonunda histomorfometri açısından kondrosit implantasyonunun daha iyi sonuçlara sahip olduğunu; fakat fonksiyonel sonuçların her iki yöntem ile aynı olduğunu saptamışlardır (56). Literatürdeki çalışmalarda görüldüğü gibi kondrosit implantasyonunun diğer tedavi alternatifleri ile karşılatırıldığında daha etkili olduğu gösterilmiştir. Buna karşın, bu yönteminde bir takım kısıtlamaları mevcuttur. En başından oldukça pahalı ve teknik olarak uygulanması zor bir yöntemdir. Ek olarak, başarı oranı fokal kıkırdak defektinin yerine ve büyüklüğüne göre oldukça farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenlerden dolayı uygulanması zor ve başarı oranları da tartışmalıdır. Buna karşın diğer tedavi yöntemleri ile karşılatırıldığında iyi bir tedavi alternatifi olarak kabul edilebilir.

Yukarıda özetlenmeye çalışılan ve günümüzde oldukça sık kullanılan tedavi yöntemlerinin tartışmalı sonuçları neticesinde son on yıl içerisinde doku mühendisliği alanında farklı çalışmalar yapılarak fokal tam kat kıkırdak defektlerinin tedavisi

amaçlanmıştır. Doku mühendisliği, biyomateryaller, hücreler ve sinyal moleküllerinin rejenerasyon dokusu oluşturmak üzere kullanılmasına dayanır. Kondrositler matriks bir iskele üzerinde in-vitro olarak üretildikten sonra implante edilmektedir. Bu konuda umut verici birçok çalışma devam etmekte olup uzun dönem klinik sonuçlar henüz elde edilememiştir. Literatürdeki çoğu çalışma daha henüz emekleme aşamasında olan hayvan modelleri ile gerçekleştirilen çalışmalardır.

Kıkırdak defektlerinin tedavisinde farklı alternatifleri araştırmak için literatürde birçok farklı hayvan modeli oluşturulmuştur. Bu modeller içerisinde en yaygın olarak kullanılan ise tavşanlar ile oluşturulan modellerdir. Tavşanları temin etmek kolaydır, cerrahi sonrası takipleri ve bakımları kolaydır ve maliyetleri düşüktür. Bu güne kadar kıkırdak defekt tedavisi ile ilgili oluşturulan tavşan modellerinde yapay olarak gerçekleştirilen en yaygın defekt çapı 3 mm'dir (57-60). Buna karşın, çalışmalar arasında subkondral kemik defekt hacmi büyük oranda değişmektedir. Bu durum elde edilen sonuçların farklı olmasına sebep olmakta ve sonuçların karşılaştırılabilir olmasına engel olmaktadır. Yine aynı şekilde tavşan modelli çalışmalarda cerrahi işlem sonrası ortalama takip süresi 16 haftadır (2-76). Bu durum tedavinin uzun dönem sonuçlarının görülememesine sebep olmaktadır. Ortalama kullanılan hayvan sayısı ise farklılık göstermekle birlikte 33'tür (6-210). Bizim çalışmamızda kullanılan tavşan sayısı, oluşturulan defekt çapı ve cerrahi sonrası takip süreleri literatürdeki çalışmalar ile karşılaştırılabilir düzeydedir.

Son on yıl içerisinde doku mühendisliğine ek olarak mezenkimal kök hücrelerin de kıkırdak iyileşme üzerine etkili olabileceği ile ilgili literatürde farklı çalışmalar yayınlanmaya başlamıştır. Bugün bilindiği kadarı ile mezenkimal kök hücreler kondrositlere dönüşerek kıkırdak doku oluşumunda rol oynayabilmektedir. Mezenkimal kök hücre için periost, adipoz doku ve kemik iliği gibi pek çok farklı kaynak daha önceki çalışmalarda kullanılmıştır. Sinoviyal dokunun da aynı şekilde mezenkimal kök hücre kaynağı olarak kullanılabilmesi yine farklı çalışmalarda belirtilmiştir. Mezenkimal kök hücreler osteojenik, kondrojenik ve adipojenik differansiyasyon yeteneğine sahip hücrelerdir (61). Bu nedenle, kök hücrelerin migrasyonu ve differansiyasyonu ile kondrojenik özelliklerinden faydalanılarak kondrosit hücresi üretebilmek mümkündür. Sinoviyal dokudan elde edilen mezenkimal kök hücrelerde yüksek üridin difosfoglukoz dehidrogenaz (UDPDG) aktivitesi ve CD44 ekspresyonu bu hücrelerin kondrositlere daha fazla oranda dönüşebildiklerini göstermektedir (62). Sinoviyal hücreler kondrositlerle birçok ortak özelliğe sahiptir. Kıkırdak oligomerik matriks protein (63), GAG (64), link protein (65) bunlardan bazılarıdır. Yüksek kondrojenik kapasitesinin yanı sıra sinoviyum yüksek rejenerasyon kapasitesine de sahiptir (66, 67). Küçük miktarda

sinoviyal dokunun yeteri kadar kök hücre sağlayabildiği de yine literatürdeki çalışmalarda vurgulanmıştır.

Sinoviyal hücrelerin mezenkimal kök hücreler gibi kondrojenik potansiyellere sahip oldukları gösterilmiştir (68, 69). Nishimura ve ark. beyaz Yeni Zelanda tavşanlarının dizinden sinoviyum alıp agaroz süspansiyon içinde TGF- β ile kültür ortamına aldıklarında kondrogenezin oluştuğunu, yani in-vitro ortamda sinoviyal hücrelerin kondrositlere differansiyasyonunu saptamışlardır (69). Miyamoto ve ark. yaptıkları rat çalışmasında eklem kıkırdağı ve sinoviyal membran arasındaki geçiş bölgesinde bulunan sinoviyumun kıkırdak defektini doldurduğunu göstermişlerdir (2). 1996 yılında Hunziker ve ark. sinoviyal membrandan elde edilen mezenkimal hücrelerin kısmi kalınlıktaki kıkırdak defektinde kullanılabileceğini göstermişlerdir (4). Rothwell ve ark. koyun dizinde kıkırdak defektine sinoviyum transplantasyonunu yayınlamışlardır (70). Cosimo de Bari ve ark. sinoviyumun multipotent differansiyasyon gösterdiğini kanıtlamışlardır (68). Yan ve ark. 2007 yılında yaptıkları tavşan modeli çalışmalarında tam kat kıkırdak defekti oluşturmuşlardır. Daha sonra 4 ayrı grupta polilaktik asit (PLA) matriks çatı içine ektikleri kondrosit, fibroblast, mezenkimal kök hücre ve insan umbilikal kord kan kök hücrelerinin etkilerini karşılaştırmışlardır. Onarım dokuları değerlendirildiğinde mezenkimal kök hücre grubunun daha iyi hücresel iyileşme, subkondral kemik remodelizasyonu ve kıkırdak integrasyonu gösterdiğini saptamışlardır (71).

Biz de bu nedenle çalışmamızda, fokal tam kat kıkırdak defektinin tedavisinde sinoviyal dokuyu mezenkimal kök hücre kaynağı olarak kullanmayı amaçladık. Hipotezimizde, sinoviyumun kök hücre kaynağı olacağı ve kıkırdak defektinin sinoviya ile örtülmesinden sonra kıkırdak hasarına kök hücre göçü ve farklılaşması olacağını kurguladık. Kök hücrelerin kondrojenik farklılaşma özellikleri sayesinde kıkırdak defektinde kondrosit oluşmasını ve bu sayede de matür hiyalin kıkırdak dokusunun oluşmasını planladık. Hasarlanmış eklem kıkırdağı tedavisinde uygun hücre kaynağı kolay ulaşılabilir olmalı, yüksek miktarda üretilebilmeli ve kondrojenik potansiyele sahip olmalıdır. Bu açıdan sinoviyal membrandan üretilmiş mezenkimal kök hücreler diğer kök hücrelere göre daha üstündür (68, 72, 73). Lee ve ark. oluşturdukları deneysel tavşan modelinde osteokondral defekt yarattıktan sonra yalnızca PRP yapılan grupta tam olmayan kemik rejenerasyonu ve uyumsuz kıkırdak yüzey integrasyonu saptanırken PRP + SMKH yapılan grupta subkondral kemik rejenerasyonu ve defekt dolumunun daha başarılı olduğunu saptamışlardır (74).

Her ne kadar otolog kondrosit implantasyonunun kendine has bazı avantajları olmasına rağmen, yeni oluşan kıkırdağın kalitesi genel bir problemdir. Örnek olarak

hipertrofik differansiyasyon (75, 76) ve konak dokuya zayıf integrasyon otolog kondrosit implantasyonu sonrası görülen en önemli histopatolojik problemlerin başında gelir (9, 77). Oysa, mezenkimal kök hücreler çevre dokuya daha iyi integre olurlar ve daha uzun süre mekanik yüklere karşı koyabilirler (10, 78, 79). Mezenkimal kök hücreler aynı zamanda subkondral kemiğe de farklılaşma potansiyeline sahiptir (4). Mutipotentirler ve kendi kendini yenileyebilirler (61). SMKH'in kemik iliği veya periosttan elde edilen kök hücrelere göre kondrojenik potansiyelleri daha yüksek, osteojenik potansiyelleri daha düşüktür (8). Uygun koşullar altında eklem kıkırdak defektlerine göç edebilir ve kondrojenik farklılaşmaya uğrayabilirler (4, 80).

Yukarıda özetlenen nedenlerden dolayı bizde çalışmamızda sinoviya kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin bu kondrojenik özelliklerinden faydalanmak istedik. Her iki çalışma grubumuzda da sinoviyanın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha iyi bir kıkırdak iyileşmesi sağladığını gördük. Bu nedenle sinoviyanın iyi bir mezenkimal kök hücre kaynağı olduğunu düşünmekteyiz. Özellikle diz eklemi gibi büyük sinoviyal eklemlerde fokal kıkırdak hasarlarının tedavisinde kolay ulaşılabilir olması, flap hazırlama için özel donanım ve tekniğe ihtiyaç duyulmaması ve bol olarak bulunması ile geniş defektlere bile uygulanabilmesi ile sinoviyanın diğer mezenkimal kök hücre kaynakları ile karşılaştırıldığında daha avantajlı olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

- Eklem kıkırdak hasarı ve buna bağlı olarak gelişen osteoartrit giderek daha fazla sayıda insanı etkileyen önemli bir sağlık sorunudur.
- Kıkırdak lezyonların tedavisinde birçok yeni yöntem geliştirilmektedir. Bu yöntemlerden biri sinoviyal dokunun kullanılmasıdır. Tavşan modelinde oluşturulan travmatik kıkırdak defektlerinde sinoviyal dokunun iyileşme üzerindeki etkisi bu çalışma ile gösterilmeye çalışılmıştır.
- Toplam skorlar kontrol ve işlem yapılan dizlerde karşılaştırıldığında alt gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi. Bunun nedeninin alt gruplara inildikçe denek sayısının azalması olduğu düşünülmektedir.
- Kontrol dizlerle işlem yapılan dizler karşılaştırıldığı zaman, hem pediküllü hem de serbest sinoviya greftinin kıkırdak dokuyu anlamlı olarak iyileştirdiği gösterilmiştir; ancak pediküllü greft yapılan grupta bu ilişki istatistiksel olarak daha anlamlı bulunmuştur.
- Hem pediküllü hem serbest sinoviya grefti fokal kıkırdak defekti tedavisinde kullanılabilir. Her iki grupta 4. hafta sonuçları istatistiksel olarak anlamlı çıkarken, 8. hafta sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durumda 4. haftadan sonra süre açısından daha fazla beklemenin toplam skorlara etki etmediği söylenebilir.
- Histolojik olarak değerlendirildiğinde ise 8. haftaya kadar beklemek her iki grupta daha iyi bir kıkırdak hücre morfolojisi sağlamaktadır; fakat bu durum toplam skorlar üzerinde etkili değildir.
- Çalışmamızın kısıtlamaları olarak en başta takip süresinin kısalığı ve denek hayvan sayısının azlığı söylenebilir. Diğer kısıtlamalar; oluşan kıkırdak dokunun biyomekanik değerlendirmesinin yapılamaması, gross makroskopik değerlendirmenin yapılamaması, immünofloresan boyama ile ayrıntılı histolojik değerlendirme yapılamaması, farklı anatomik bölgelerde sinoviyal dokunun etkisinin gösterilememesidir. İleride sayılan durumlar göz önünde bulundurularak daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Ahern BJ, Parvizi J, Boston R, Schaer TP. Preclinical animal models in single site cartilage defect testing: A systematic review. *Osteoarthritis Cartilage* 17: 705-713, 2009.
2. Miyamoto A, Deie M, Yamasaki T, Nakamae A, Shinomiya R, Adachi N, Ochi M. The role of the synovium in repairing cartilage defects. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 15: 1083-1093, 2007.
3. Gillogly SD, Voight M, Blackburn T. Treatment of articular cartilage defects of the knee with autologous chondrocyte implantation. *J Orthop Sports Phys Ther* 28: 241-251, 1998.
4. Hunziker EB, Rosenberg LC. Repair of partial-thickness defects in articular cartilage: Cell recruitment from the synovial membrane. *J Bone Joint Surg Am* 78: 721-733, 1996.
5. Hubbard MJ. Articular debridement versus washout for degeneration of the medial femoral condyle. A five-year study. *J Bone Joint Surg Br* 78: 217-219, 1996.
6. Horas U, Pelinkovic D, Herr G, Aigner T, Schnettler R. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial. *J Bone Joint Surg Am* 85-A: 185-192, 2003.
7. Hangody L, Kish G, Karpati Z, Szerb I, Udvarhelyi I. Arthroscopic autogenous osteochondral mosaicplasty for the treatment of femoral condylar articular defects. A preliminary report. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 5: 262-267, 1997.
8. De Bari C, Dell'Accio F, Karystinou A, Guillot PV, Fisk NM, Jones EA, McGonagle D, Khan IM, Archer CW, Mitsiadis TA, Donaldson AN, Luyten FP, Pitzalis C. A biomarker-based mathematical model to predict bone-forming potency of human synovial and periosteal mesenchymal stem cells. *Arthritis Rheum* 58: 240-250, 2008.
9. Schaefer D, Martin I, Jundt G, Seidel J, Heberer M, Grodzinsky A, Bergin I, Vunjak-Novakovic G, Freed LE. Tissue-engineered composites for the repair of large osteochondral defects. *Arthritis Rheum* 46: 2524-2534, 2002.
10. Vunjak-Novakovic G. The fundamental of tissue engineering: Scaffold and bioreactors. *Tissue engineering of cartilage and bone*. (Bock G, Goode, J., ed), John Wiley & Sons Publication, 34-46, 2002.
11. Tuncay IC, Ozdemir BH, Demirors H, Karaeminogullari O, Tandogan NR. Pedunculated synovium grafts in articular cartilage defects in rabbits. *J Invest Surg* 18: 115-122, 2005.

12. Kim H, Yoon S, Jarrett C. Articular cartilage and intervertebral disk. Orthopaedic knowledge update 9. (Fischgrund J, ed). USA, AAOS, 23-33, 2008.
13. Netter F. Kıkırdağın bileşimi ve yapısı. The netter collection of medical illustrations musculoskeletal system. (Arasıl TAG, ed). Ankara. 8, 168, 2009.
14. Ulrich-Vinther M, Maloney MD, Schwarz EM, Rosier R, O'Keefe RJ. Articular cartilage biology. J Am Acad Orthop Surg 11: 421-430, 2003.
15. Buckwalter JA, Mankin, H. J. Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration and transplantation. J Bone Joint Surg 79: 612-632, 1997.
16. Darling EM, Hu JC, Athanasiou KA. Zonal and topographical differences in articular cartilage gene expression. J Orthop Res 22: 1182-1187, 2004.
17. Douthwaite GP, Bishop JC, Redman SN, Khan IM, Rooney P, Evans DJ, Haughton L, Bayram Z, Boyer S, Thomson B, Wolfe MS, Archer CW. The surface of articular cartilage contains a progenitor cell population. J Cell Sci 117: 889-897, 2004.
18. Ölmez Ü. Hareket sistemini oluşturan yapıların özellikleri ve fonksiyonları. Romatoloji. (G. T, ed). Ankara, 3-16, 2000.
19. Netter F. Sinoviyal membranın yapısı ve görevi. The netter collection of medical illustrations musculoskeletal system. (Arasıl TAG, ed). Ankara. 8, 176, 2009.
20. Iwanaga T, Shikichi M, Kitamura H, Yanase H, Nozawa-Inoue K. Morphology and functional roles of synoviocytes in the joint. Arch Histol Cytol 63: 17-31, 2000.
21. Frisbie DD, Oxford JT, Southwood L, Trotter GW, Rodkey WG, Steadman JR, Goodnight JL, McIlwraith CW. Early events in cartilage repair after subchondral bone microfracture. Clin Orthop Relat Res: 215-227, 2003.
22. Kock NB, Smolders JM, van Susante JL, Buma P, van Kampen A, Verdonchot N. A cadaveric analysis of contact stress restoration after osteochondral transplantation of a cylindrical cartilage defect. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 16: 461-468, 2008.
23. Prakash D, Learmonth D. Natural progression of osteo-chondral defect in the femoral condyle. Knee 9: 7-10, 2002.
24. Yılmaz C. Kıkırdak yaralanmalarının tedavisi. TOTBİD Dergisi 9: 115-121, 2010.

25. Magnussen RA, Dunn WR, Carey JL, Spindler KP. Treatment of focal articular cartilage defects in the knee: A systematic review. *Clin Orthop Relat Res* 466: 952-962, 2008.
26. Johnson LL. Arthroscopic abrasion arthroplasty: A review. *Clin Orthop Relat Res*: S306-317, 2001.
27. Pridie K. A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg [Br]* 41: 618-619, 1959.
28. Steadman JR, WG.; Briggs, KK. Microfracture chondroplasty: Indications, techniques and outcomes. *Sports Medicine and Arthroscopy Review* 11: 236-244, 2003.
29. Mithoefer K, Williams RJ, 3rd, Warren RF, Potter HG, Spock CR, Jones EC, Wickiewicz TL, Marx RG. Chondral resurfacing of articular cartilage defects in the knee with the microfracture technique. *Surgical technique. J Bone Joint Surg Am* 88 Suppl 1 Pt 2: 294-304, 2006.
30. Bobic V. Arthroscopic osteochondral autograft transplantation in anterior cruciate ligament reconstruction: A preliminary clinical study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 3: 262-264, 1996.
31. Matsusue Y, Yamamuro T, Hama H. Arthroscopic multiple osteochondral transplantation to the chondral defect in the knee associated with anterior cruciate ligament disruption. *Arthroscopy* 9: 318-321, 1993.
32. Ahmad CS, Guiney WB, Drinkwater CJ. Evaluation of donor site intrinsic healing response in autologous osteochondral grafting of the knee. *Arthroscopy* 18: 95-98, 2002.
33. Buckwalter JA. Articular cartilage injuries. *Clin Orthop Relat Res*: 21-37, 2002.
34. Dozin B, Malpeli M, Cancedda R, Bruzzi P, Calcagno S, Molfetta L, Priano F, Kon E, Marcacci M. Comparative evaluation of autologous chondrocyte implantation and mosaicplasty: A multicentered randomized clinical trial. *Clin J Sport Med* 15: 220-226, 2005.
35. Gillogly SD. Treatment of large full-thickness chondral defects of the knee with autologous chondrocyte implantation. *Arthroscopy* 19 Suppl 1: 147-153, 2003.
36. Korkusuz FD, M.; Bozkurt, M. Kıkırdak dokusu mühendisliği. *TOTBİD Dergisi* 9: 175-178, 2010.

37. Ural A. Hematopoetik kök hücre. 2. Ulusal kök hücre kongresi program ve özet kitabı. ed). Trabzon, 49-54, 2006.
38. Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: Biology and potential clinical uses. *Exp Hematol* 28: 875-884, 2000.
39. Yang K, Xiang P, Zhang C, Zou L, Wu X, Gao Y, Kang Z, He K, Liu J, Peng C. Magnetic resonance evaluation of transplanted mesenchymal stem cells after myocardial infarction in swine. *Can J Cardiol* 27: 818-825, 2011.
40. Uccelli A, Laroni A, Freedman MS. Mesenchymal stem cells for the treatment of multiple sclerosis and other neurological diseases. *Lancet Neurol* 10: 649-656, 2011.
41. Kömürçü MÖH. Mezenkimal kök hücre ve ortopedide kullanımı. *TOTBİD Dergisi* 5: 130-139, 2006.
42. Tatebe M, Nakamura R, Kagami H, Okada K, Ueda M. Differentiation of transplanted mesenchymal stem cells in a large osteochondral defect in rabbit. *Cytotherapy* 7: 520-530, 2005.
43. Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, Barry FP. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 48: 3464-3474, 2003.
44. Getgood A, Bhullar, T.P.S, Rushton, N. Current concepts in articular cartilage repair. *Orthopaedics and trauma* 23: 189-200, 2009.
45. Curl WW, Krome J, Gordon ES, Rushing J, Smith BP, Poehling GG. Cartilage injuries: A review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy* 13: 456-460, 1997.
46. Widuchowski W, Widuchowski J, Trzaska T. Articular cartilage defects: Study of 25,124 knee arthroscopies. *Knee* 14: 177-182, 2007.
47. Haasper C, Zeichen J, Meister R, Krettek C, Jagodzinski M. Tissue engineering of osteochondral constructs in vitro using bioreactors. *Injury* 39 Suppl 1: S66-76, 2008.
48. Moseley JB, O'Malley K, Petersen NJ, Menke TJ, Brody BA, Kuykendall DH, Hollingsworth JC, Ashton CM, Wray NP. A controlled trial of arthroscopic surgery for osteoarthritis of the knee. *N Engl J Med* 347: 81-88, 2002.
49. Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ. Microfracture: Surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. *Clin Orthop Relat Res*: S362-369, 2001.

50. Steadman JR, Briggs KK, Rodrigo JJ, Kocher MS, Gill TJ, Rodkey WG. Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: Average 11-year follow-up. *Arthroscopy* 19: 477-484, 2003.
51. 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* 26: 3617-3629, 2005.
52. Bentley G, Biant LC, Carrington RW, Akmal M, Goldberg A, Williams AM, Skinner JA, Pringle J. A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J Bone Joint Surg Br* 85: 223-230, 2003.
53. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 331: 889-895, 1994.
54. Peterson L, Brittberg M, Kiviranta I, Akerlund EL, Lindahl A. Autologous chondrocyte transplantation. Biomechanics and long-term durability. *Am J Sports Med* 30: 2-12, 2002.
55. Knutsen G, Drogset JO, Engebretsen L, Grontvedt T, Isaksen V, Ludvigsen TC, Roberts S, Solheim E, Strand T, Johansen O. A randomized trial comparing autologous chondrocyte implantation with microfracture. Findings at five years. *J Bone Joint Surg Am* 89: 2105-2112, 2007.
56. Saris DB, Vanlauwe J, Victor J, Haspl M, Bohnsack M, Fortems Y, Vandekerckhove B, Almqvist KF, Claes T, Handelberg F, Lagae K, van der Bauwhede J, Vandenneucker H, Yang KG, Jelic M, Verdonk R, Veulemans N, Bellemans J, Luyten FP. Characterized chondrocyte implantation results in better structural repair when treating symptomatic cartilage defects of the knee in a randomized controlled trial versus microfracture. *Am J Sports Med* 36: 235-246, 2008.
57. Buma P, Pieper JS, van Tienen T, van Susante JL, van der Kraan PM, Veerkamp JH, van den Berg WB, Veth RP, van Kuppevelt TH. Cross-linked type i and type ii collagenous matrices for the repair of full-thickness articular cartilage defects--a study in rabbits. *Biomaterials* 24: 3255-3263, 2003.
58. Han CW, Chu CR, Adachi N, Usas A, Fu FH, Huard J, Pan Y. Analysis of rabbit articular cartilage repair after chondrocyte implantation using optical coherence tomography. *Osteoarthritis Cartilage* 11: 111-121, 2003.

59. Rudert M, Wilms U, Hoberg M, Wirth CJ. Cell-based treatment of osteochondral defects in the rabbit knee with natural and synthetic matrices: Cellular seeding determines the outcome. *Arch Orthop Trauma Surg* 125: 598-608, 2005.
60. Wei X, Messner K. Maturation-dependent durability of spontaneous cartilage repair in rabbit knee joint. *J Biomed Mater Res* 46: 539-548, 1999.
61. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 284: 143-147, 1999.
62. Edwards JC. The nature and origins of synovium: Experimental approaches to the study of synoviocyte differentiation. *J Anat* 184 (Pt 3): 493-501, 1994.
63. Recklies AD, Baillargeon L, White C. Regulation of cartilage oligomeric matrix protein synthesis in human synovial cells and articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 41: 997-1006, 1998.
64. Hamerman D, Smith C, Keiser HD, Craig R. Glycosaminoglycans produced by human synovial cell cultures. *Coll Relat Res* 2: 313-329, 1982.
65. Fife RS, Caterson B, Myers SL. Identification of link proteins in canine synovial cell cultures and canine articular cartilage. *J Cell Biol* 100: 1050-1055, 1985.
66. Bentley G, Kreutner A, Ferguson AB. Synovial regeneration and articular cartilage changes after synovectomy in normal and steroid-treated rabbits. *J Bone Joint Surg Br* 57: 454-462, 1975.
67. Campbell WG, Jr., Callahan BC. Regeneration of synovium of rabbit knees after total chemical synovectomy by ingrowth of connective tissue-forming elements from adjacent bone. A light and electron microscopic study. *Lab Invest* 24: 404-422, 1971.
68. De Bari C, Dell'Accio F, Tylzanowski P, Luyten FP. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis Rheum* 44: 1928-1942, 2001.
69. Nishimura K, Solchaga LA, Caplan AI, Yoo JU, Goldberg VM, Johnstone B. Chondroprogenitor cells of synovial tissue. *Arthritis Rheum* 42: 2631-2637, 1999.
70. Rothwell AG. Synovium transplantation onto the cartilage denuded patellar groove of the sheep knee joint. *Orthopedics* 13: 433-442, 1990.

71. Yan H, Yu C. Repair of full-thickness cartilage defects with cells of different origin in a rabbit model. *Arthroscopy* 23: 178-187, 2007.
72. Sakaguchi Y, Sekiya I, Yagishita K, Muneta T. Comparison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues: Superiority of synovium as a cell source. *Arthritis Rheum* 52: 2521-2529, 2005.
73. Yoshimura H, Muneta T, Nimura A, Yokoyama A, Koga H, Sekiya I. Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle. *Cell Tissue Res* 327: 449-462, 2007.
74. Lee JC, Min HJ, Park HJ, Lee S, Seong SC, Lee MC. Synovial membrane-derived mesenchymal stem cells supported by platelet-rich plasma can repair osteochondral defects in a rabbit model. *Arthroscopy* 29: 1034-1046, 2013.
75. Gelse K, von der Mark K, Aigner T, Park J, Schneider H. Articular cartilage repair by gene therapy using growth factor-producing mesenchymal cells. *Arthritis Rheum* 48: 430-441, 2003.
76. Nehrer S, Spector M, Minas T. Histologic analysis of tissue after failed cartilage repair procedures. *Clin Orthop Relat Res*: 149-162, 1999.
77. Lee CR, Grodzinsky AJ, Hsu HP, Spector M. Effects of a cultured autologous chondrocyte-seeded type ii collagen scaffold on the healing of a chondral defect in a canine model. *J Orthop Res* 21: 272-281, 2003.
78. Hui JH, Chen F, Thambyah A, Lee EH. Treatment of chondral lesions in advanced osteochondritis dissecans: A comparative study of the efficacy of chondrocytes, mesenchymal stem cells, periosteal graft, and mosaicplasty (osteochondral autograft) in animal models. *J Pediatr Orthop* 24: 427-433, 2004.
79. Obradovic B, Martin I, Padera RF, Treppo S, Freed LE, Vunjak-Novakovic G. Integration of engineered cartilage. *J Orthop Res* 19: 1089-1097, 2001.
80. Hunziker EB. Growth-factor-induced healing of partial-thickness defects in adult articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 9: 22-32, 2001.