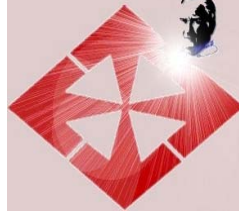


BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI



**TAVŞANLARDA OLUŞTURULAN EKLEM KIKIRDAK  
DEFEKTLERİNİN TEDAVİSİNDE PEDÜNKÜLLÜ SİNOVİYA  
GREFTİ İLE PERİOST GREFT NAKLİNİN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Aytekin KARAMAN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İsmail Cengiz TUNCAY

Ankara / 2006

## TEŞEKKÜR

Ortopedi ve Travmatoloji eğitimimi en iyi şekilde tamamlamamı sağlamak için yapmış oldukları çok değerli katkılarından dolayı başta Ortopedi ve Travmatoloji AD başkanı Sayın Prof Dr. Nevzat Reha Tandoğan olmak üzere, Sayın Doç. Dr. Hüseyin Demirörs, Doç. Dr. Oğuz Karaeminoğulları ve Uzm. Dr. Rahmi Can Akgün'e şükranlarımı sunarım.

Tezimin her aşamasında büyük emeği olan ve eğitime değerli katkıları olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İsmail Cengiz Tuncay'a, preparatlarımın boyanması ve incelenmesindeki özverili çalışmaları nedeniyle Sayın Doç. Dr. Handan Özdemir ve Dr. Aydan Kılıçarslan'a, tezimin istatistiksel analizlerinde değerli katkıları olan Sayın Doç Dr. Ersin Ögüş'e, resim ve çizimlerde göstermiş olduğu yardımlardan dolayı Sayın Başar Özgürbüz'e, her zaman destek ve yardımlarını gördüğüm başta Dr. Orçun Şahin ve Dr. Ulaş Onay olmak üzere bütün araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve her türlü fedakârlıkla çalışmalarımda desteğini esirgemeyen sevgili eşim Sedef Özbalıkcı Karaman'a teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Aytekin KARAMAN

## ÖZET

### TAVŞANLARDA OLUŞTURULAN EKLEM KIKIRDAK DEFEKTLERİNİN TEDAVİSİNDE PEDÜNKÜLLÜ SİNOVİYA GREFTİ İLE PERİOST GREFTİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Bu deneysel çalışmada amaç; geniş eklem kıkırdağı defektlerinin onarımında pedünküllü sinoviyal greft ile klinik uygulamalarda da yer bulan periostal greftin onarım kapasitelerinin histopatolojik olarak karşılaştırılması ve sonuçların güncel kıkırdak tedavi yöntemleri ışığında tartışılmasıdır. Çalışmamızda bir yaş üstü, 2500-3500 gram ağırlığında, beyaz Yeni Zelanda cinsi 33 adet tavşan kullanıldı. Deneysel çalışmada 3 grup oluşturuldu. I. grupta 12 adet tavşan olup, bu tavşanların her iki dizine periostal greft nakli yapıldı. II. grupta 12 adet tavşan olup, bu tavşanlarında her iki dizine pedünküllü sinoviya greft nakli yapıldı. III. grupta 9 adet tavşan olup kontrol grubunu meydana getirdi ve bunlarda sadece femur kondilinde kıkırdak defekti oluşturuldu. 6, 12 ve 24. haftalarda her seferinde I. ve II. gruptan 4'er adet tavşan, III. gruptan da 3 adet tavşana 150 mg/kg ketamin intravenöz verilerek ötanazi uygulandı. Ötanazi sonrası eski insizyonlardan girilerek femur distali suprakondiler bölgeden eksize edildi. 6, 12 ve 24. haftalarda alınan bu örnekler %10 formik asit içinde dekalsifiye edilerek parafine konuldu. Daha sonra 4 mm kalınlığında kesitlere ayrılarak, Hematoksilen eozin, safranin-o-fast green ve kollajen II boyamaları yapıldı. Boyanan preparatlar mikroskop altında incelenerek, standardize edilmiş evreleme sistemi ile kıkırdak iyileşmesinin skorlaması yapıldı. Elde edilen verilere faktöriyel düzen varyans analizi uygulandı. Pedünküllü sinoviya, periost ve kontrol grubunun, kıkırdak iyileşmesi açısından aralarındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü. Pedünküllü sinoviya nakli yapılan tavşanlarda hem 6. hafta hem de 12. ve 24. haftalarda, periost ve kontrol grubuna göre kıkırdak iyileşmesinin daha iyi olduğu görüldü. (P<0.05) Sonuçta bu çalışma ile pedünküllü sinoviya greftinin, kıkırdak iyileşmesindeki etkisinin, periost greft naklinden ve kontrol grubundan üstün olduğu (P<0.05) gösterildi.

**Anahtar sözcükler:** Kıkırdak tamiri, Pedünküllü sinoviya grefti, Periost grefti

## **ABSTRACT**

### **COMPARISON OF THE PEDUNCULATED SYNOVIAL GRAFT WITH PERIOSTEAL GRAFT IN ARTICULAR CARTILAGE DEFECTS IN RABBITS**

The purpose of this experimental study is to compare histopathologically the repair capacities of pedunculated synovial grafts with commonly used periosteal grafts and to discuss the results in light of current cartilage reconstruction techniques. In our study, we used 33 white, New-Zeland type rabbits, which were older than 1 year and weighting between 2500 to 3500 grams. We divided the rabbits into three groups. In group 1, there were 12 rabbits whose knees were bilaterally transplanted with periosteal grafts. In group II, there were 12 rabbits whose knees were bilaterally transplanted with pedunculated synovial grafts. In group III, 9 rabbits served as the control group with only surgically induced cartilage defects. At the 6<sup>th</sup>, 12<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> weeks, four rabbits from group 1, four rabbits from group 2 and three rabbits from group 3 were sacrificed by using 150 mg/kg ketamine intravenously. After sacrifice, all distal femurs were excised from the supracondylar region via the old incision scars. The samples taken at the 6<sup>th</sup>, 12<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> weeks were decalcified by 10% formic acid and embedded into the paraffin. The samples were then microtomed into the 4-mm thickness specimens and stained with hematoxyline-eosine, saphranine-o-fast green and collagen II stains. The stained specimens were analyzed histologically under microscope and scoring of the cartilage repair was performed using a standardized grading system. A factorial analysis of variance was used to compare the results. The results of three cartilage repair techniques were found to be significantly different. In the pedunculated synovial transplant group, the cartilage repairs at the 6<sup>th</sup>, 12<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> weeks were all found to be significantly better than the other two groups(P<0.05). In conclusion, the pedunculated synovial grafts had a superior effect on cartilage repair compared with periosteal grafts and controls (P<0.05).

**Key words:** Cartilage repair, Synovial graft, Periosteal graft

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa no

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET VE ANAHTAR SÖZCÜKLER.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT AND KEY WORDS) .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
GRAFİKLER DİZİNİ .....	viii
RESİMLER DİZİNİ .....	ix
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>2</b>
2.1. Kıkırdak anatomisi .....	2
2.1.1. Kıkırdağın yapısı .....	2
2.1.2. Eklem kıkırdağı bileşimi .....	3
2.2. Normal kıkırdak metabolizması .....	5
2.3. Eklem kıkırdağının yaralanmaya karşı yanıtı.....	6
2.3.1. Eklem kıkırdağının kendini yenileme kapasitesi ve çözüm yolları.....	8
<b>2.4. Neden pedüncüllü sinoviya grefti seçildi?.....</b>	<b>13</b>
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>15</b>
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>22</b>
4.1. Altıncı hafta histopatolojik inceleme sonuçları .....	22
4.2. On ikinci hafta histopatolojik inceleme sonuçları .....	23
4.3. Yirmi dördüncü hafta histopatolojik inceleme sonuçları .....	25
4.4. Histopatolojik skorlama sonuçları .....	26
4.5. Kollajen II boyaması sonuçları .....	30
<b>6. TARTIŞMA.....</b>	<b>32</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>44</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>45</b>

## KISALTMALAR DİZİNİ

**TGF-B:** Transforming büyüme faktörü beta

**IGF-1 :** İnsülin-benzeri büyüme faktörü-1

**BMP :** Kemik morfogenetik proteinler

**IL-1 :** İnterlökin-1

**TNF :** Tümör nekroz faktörü

**GAG :** Glikozaminglikan

**OKT :** Otolog Kondrosit Transplantasyonu

**PRH :** Prolaktin Hormonu

**ÖÇB :** Ön Çapraz Bağ

**USG :** Ultrasonografi

**MRG :** Magnetik Rezonans Görüntüleme

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1 :</b> Eklem kıkırdak defektlerinde iyileşme dokusunun histolojik evreleme sistemi .....	21
<b>Tablo2 :</b> Histolojik skora sonrası elde edilen puanların aritmetik ortalaması ve standart hata değerleri .....	27

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1 :</b> Kıkırdak anatomisi.....	2
<b>Şekil 2 :</b> Eklem kıkırdağının yaralanmaya karşı yanıtı .....	7
<b>Şekil 2a:</b> Eklem kıkırdağının travma sonrası yaralanma şekilleri .....	7
<b>Şekil 2b :</b> Tedavisiz ve uzun dönemde yaralanmaya karşı doku yanıtı .....	7

## GRAFİKLER DİZİNİ

<b>Grafik 1 :</b> Pedünlü sinoviya grubunun sakrifiye edildiği haftalara göre iyileşme yüzdeleri .....	28
<b>Grafik 2 :</b> Periost grubunun sakrifiye edildiği haftalara göre iyileşme yüzdeleri .....	28
<b>Grafik 3 :</b> Kontrol grubunun sakrifiye edildiği haftalara göre iyileşme yüzdeleri .....	29
<b>Grafik 4 :</b> Her üç grubun birlikte karşılaştırılması .....	29

## RESİMLER DİZİNİ

### Resim 1

1a : Cerrahi saha hazırlanması .....	16
1b : Steril örtünme .....	16
1c : Kıkırdak defektinin oluşturulması .....	16
1d : Oluşturulan kıkırdak defektinin görünümü .....	16

### Resim 2

2a : Periost greftinin alınması ..	17
2b : Periost greftinin defektli bölgeye nakledilmesi ..	17

### Resim 3

3a : Pedüncüllü sinoviya greftinin alınması .....	18
3b : Pedüncüllü sinoviya greftinin defektli bölgeye nakledilmesi .....	18

Resim 4 : Defekt etrafından dikiş geçirmek için tünel açılması ..	19
---	----

Resim 5 : Tüm katların kapatılmış hali .....	19
--	----

### Resim 6

6a : Sakrifikasyon sonrası alınan doku örnekleri .....	20
6b : Sakrifikasyon sonrası alınan doku örnekleri .....	20



### **Resim 7**

<b>7a</b> : Pedüncüllü sinoviya 6. hafta Safranin-O-Fast Green boyaması .....	22
<b>7b</b> : Periost grefti 6. hafta Safranin-O-Fast Green boyaması .....	22
<b>7c</b> : Kontrol grubu 6. hafta Safranin-O-Fast Green boyaması ..	23

### **Resim 8**

<b>8a</b> : Pedüncüllü sinoviya 12. hafta Hematoksilen Eozin boyaması .....	24
<b>8b</b> : Periost grefti 12. hafta Hematoksilen Eozin boyaması .....	24
<b>8c</b> : Kontrol grubu 12. hafta Hematoksilen Eozin boyaması ..	24

### **Resim 9**

<b>9a</b> : Pedüncüllü sinoviya 24. hafta Hematoksilen Eozin boyaması....	25
<b>9b</b> : Periost grefti 24. hafta Hematoksilen Eozin boyaması .....	25
<b>9c</b> : Kontrol grubu 24. hafta Hematoksilen Eozin boyaması ..	26

### **Resim 10**

<b>10a</b> : Pedüncüllü sinoviya 24. hafta kollajen II boyaması .....	30
<b>10b</b> : Periost grefti 24. hafta kollajen II boyaması .....	30
<b>10c</b> : Kontrol grubu 24. hafta kollajen II boyaması .....	31

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kıkırdak, kondrositler ve matriksten oluşan avasküler, anöral, alenfatik bir dokudur. Vücutta hiyalin ve fibröz kıkırdak şeklinde çeşitli bölgelerde bulunur ve önemli görevler üstlenir. Hiyalin eklem kıkırdağı kayıplarında dokunun kendi kendini onarma kapasitesi sınırlıdır. Onarım gerçekleştiğinde ise oluşan doku biyomekanik olarak orijinal eklem kıkırdağı ile aynı özellikleri taşımayan fibröz kıkırdak yapısındadır. Bu nedenle araştırmacılar uzun yıllardır orijinal eklem kıkırdağı ile aynı özellikleri taşıyan kıkırdak onarımını sağlamak için çeşitli tedaviler ve deneysel yaklaşımlar üzerinde çalışmaktadırlar. Yapılan tüm araştırmalara rağmen eklem kıkırdağının biyolojik ve biyomekanik özelliklerinin tam olarak anlaşıldığını söylemek mümkün değildir. Geniş eklem kıkırdağı lezyonlarının biyolojik onarımı amacıyla kondral ve osteo-kondral greftler, sinovyadan, kök hücrelerinden veya kıkırdaktan elde edilip kültürlenmiş kondrositler, serbest perikondrial ve periostal greftlerin kullanımı konusunda deneysel çalışmalar yoğunlaşmıştır.

Tavşanlarda eklem kıkırdak defektlerinin tedavisinde pedünküllü sinoviyal greft uygulamasının deneysel modeli ilk defa tarafımızdan oluşturulmuş ve defekli bölgeye pedünküllü sinoviyal greft uygulaması ile hiyalin benzeri kıkırdak olduğu histopatolojik inceleme ile gösterilmişti (1). Bu tezin konusu olan çalışmada ise, klinikte kullanım alanı bulan periostal greft nakli ile pedünküllü sinoviyal greft nakli karşılaştırılmıştır. Kıkırdak defektlerinin onarımında pedünküllü sinoviyal greft nakli henüz klinik olarak kullanılmamıştır. Bu deneysel modelin sonuçlarının, pedünküllü sinoviyal greft naklinin klinik uygulamalarda da kullanılabilirliği konusunda araştırmacılar ve uygulayıcıları cesaretlendireceği düşünülmüştür. Bunun yanında, sinoviyanın kondrojenik potansiyeli olduğunun objektif bir histopatolojik değerlendirme sistemi ile kanıtlanması, bu tez çalışmasının ikinci bir amacıdır.

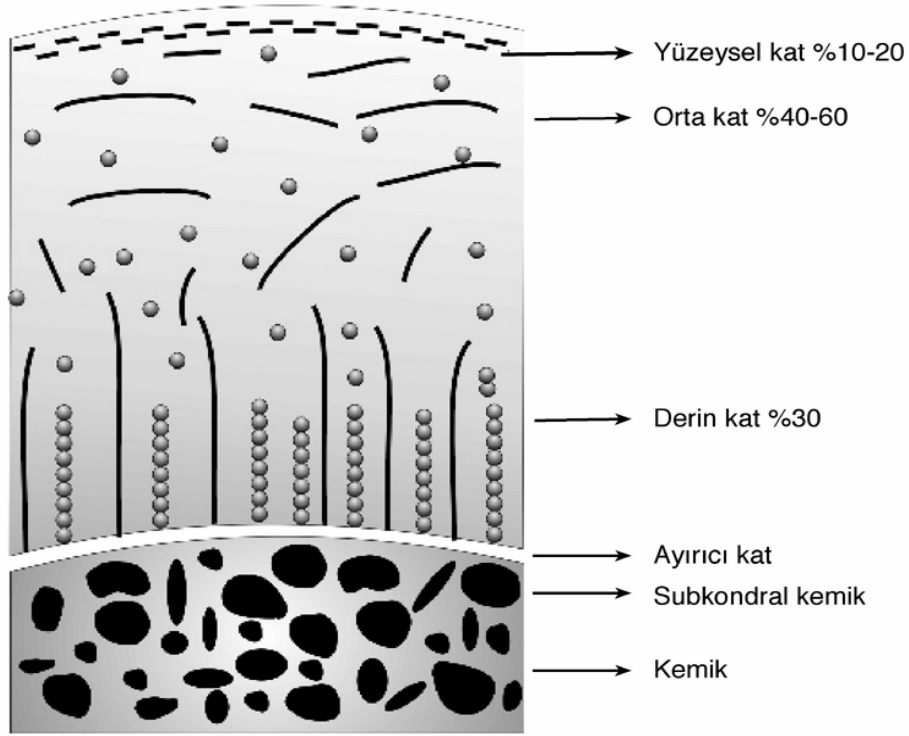
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. KIKIRDAK ANATOMİSİ

#### 2.1.1.Kıkırdağın yapısı

Eklem kıkırdağı aşınmaya dirençli bir yüzey oluşturan yoğun kollajen ve proteoglikan matrisi içeren, avasküler, anöral, alenfatik, hiposelüler bir dokudur.

Eklem kıkırdağı yapısal olarak üç tabakaya ayrılır.(Şekil 1) Bu tabakalar, kıkırdak derinliği boyunca kesin sınırlar ile ayrılamaz. Her tabakanın kendine özgü hücre morfolojisi, Tip II kollajen lif ve proteoglikan dağılımı bulunur. Ayrıca tabakalar mekanik yüklenmelere farklı yanıtlar verirler.



ŞEKİL 1: Kıkırdak anatomisi

### **1) Yüzeyel tabaka (tanjansiyel zon)**

Eklem kıkırdağının en ince ve elipsoid yapıda kondrositlerden oluşan tabakasıdır. Kollajen lifleri bu tabakada yüzeye paralel yerleşmiştir. (Şekil 1) Kondrositler diğer katlara göre yüksek konsantrasyonda kollajen, düşük konsantrasyonda proteoglikan içeren matriks sentezlerler. Fibronektin ve su konsantrasyonları bu katta daha yüksektir. Bu tabakanın zedelenmesiyle eklem kıkırdağının mekanik özellikleri değişir ve kıkırdak moleküllerinin salınmasıyla inflamatuvar yanıt oluşur.

### **2) Orta tabaka (transizyonel zon)**

En kalın tabakadır. Hücreler burada yuvarlak şekillidir, daha geniş çaplı kollajen ve yüksek konsantrasyonlu proteoglikan içeren bir matriks sentezlerler. Burada kollajen lifleri daha az organize olmakla beraber, tipik olarak yüzeye göre oblik konumda bulunurlar. (Şekil 1) Su ve kollajen içeriği yüzeyel kata göre daha azdır.

### **3) Derin tabaka (bazal zon )**

Kondrositler ve kollajen lifleri yüzeye dik olan sütunlar şeklinde dizilirler. (Şekil 1) En geniş çaplı kollajen lifleri, en yüksek konsantrasyonda proteoglikanları ve en düşük konsantrasyonda suyu içerir. Kollajen lifleri kalsifiye kıkırdağa doğru uzanır. Burada bazofilik nitelikte “tidemark” adı verilen bir sınır oluşur. Hücre içeriği yüzeye yakın tabakada en yoğun iken, orta ve derin tabakalara doğru inildikçe yaklaşık üçte bir oranında azalır.

#### **2.1.2. Eklem kıkırdağı bileşimi**

Eklem kıkırdağı; tendon, ligament ve menisküs gibi diğer bağ dokularına benzer şekilde hücreler, matriks sıvısı ve makromoleküler matriks iskeletinden oluşur.

Kondrositler tarafından düzenlenen matriks yapımı ve yıkımı arasındaki denge, normal doku metabolizmasını oluşturur. Bu denge mekanik yükler, yaşlanma, travma, hormonlar ve sitokinler gibi bir çok faktör tarafından etkilenmektedir.

Eklem kıkırdağı 2 ile 5 mm arasında değişen kalınlıklarda bulunur.(2) Vücuttaki en kalın kıkırdak patella'nın alt yüzündedir. Kondrositler, erişkin eklem kıkırdağının toplam hacminin %2'sini oluşturmaktadır.(3)

#### **a) Kondrositler**

Kondrositler, eklem kıkırdağının değişik katmanlarında kendilerine özgü hücresel morfolojileri olan ve tümü matriks sentezleyebilecek organellere sahip hücrelerdir. Kondrositlerin etrafı ekstra-selüler matriks ile çevrilidir. Eklem kıkırdağı mekanik özelliklerini matriksten alır. Kondrositler, uygun tipte ve miktarda makromolekül sentezlemeli ve bunları iskelet şeklinde düzenlemelidir. Kondrositlerle ekstraselüler matriks arasındaki karşılıklı dayanışma, dokunun yaşam boyu bütünlüğünü korumasını sağlar. Ayrıca ekstraselüler matriks, kondrositler için uyarı iletkeni görevini de görür ve eklem yüzeyinde mekanik yüklenme ile oluşan sinyalleri kondrositlere iletir.

#### **b) Ekstra-selüler matriks**

Eklem kıkırdağının yaklaşık %75'ini su oluşturur. Bu doku sıvısı, gazları, küçük proteinleri ve negatif yüklü proteoglikanları dengeleyen yüksek konsantrasyondaki katyonları içerir. Matriksin ana bileşenleri kollajen demetleri ve bunların arasında yer alan proteoglikan zincirleridir.

Eklem kıkırdağında bulunan kollajenin % 90-95'i Tip II kollajendir. Bunun yanında az miktarda Tip VI, IX ve XI kollajen bulunur.(2) Tip VI kollajen kondrositlerin çevresini saran matrikste yoğundur ve hücrelerin matrikse yapışmasını sağlar. Tip IX ise proteoglikan parça içeren kısa bir kollajen lifidir. Tip II ile çapraz bağlar oluşturur ve hücre dışı matrikste proteoglikan parçalar ile etkileşir. Tip XI kollajen ise, Tip II kollajen lif çapının düzenleyicisi gibi görünmektedir ve Tip II ile kopolimer oluşturur. Fizyolojik koşullarda kollajen liflerinin metabolizması yavaştır ve liflerin yarı ömrü yıllarla ölçülür.

Proteoglikanlar, bir protein çekirdeği ve buna bağlı bir ya da daha fazla glikozaminoglikan zincirden oluşurlar. Kollajen matriksi ile bir araya toplanan

proteoglikanların sergilediği ilişki, eklem kıkırdağının işlevinde önemli bir süreç oluşturur. Eklem kıkırdağı, majör ve minör proteoglikanlar olmak üzere iki ana proteoglikan sınıfını içerir. Agregan, hiyalin kıkırdağı belirleyen majör proteoglikandır. Agregan, 100 kondroitin sülfat, 60 kadar keratin sülfat zinciri içerir. Sülfat grupları nedeniyle agregan molekülleri güçlü negatif yük taşırlar. Agreganın N-terminal protein yapısı, hem hyalüronik asit hem de bağlantı proteini için yüksek afinite gösteren globüler yapıda bir protein parçası içerir ve bir araya toplanmadan sorumludur.(4) Her bir hyalüronik asit zinciri büyük miktarlarda agregan molekülü bağlayabilir ve birkaç yüz milyon Daltona varan yumaklar oluşturabilir. Minör proteoglikanlar grubunu oluşturan dekorin, biglikan ve fibromodulin, diğer moleküllere bağlanarak matriksin sağlamlığına katkıda bulunurlar.

Bu büyük ve yüksek elektrik yüklü proteoglikan yumaklarının kollajen matriks içinde bulunması, dokuya biyomekanik özellikler kazandırır. Matriks içinde bulunan negatif yük, katyonları çeker ve dokunun osmolalitesinde bir artışa yol açar. Buna bağlı olarak çekilen su ise osmolaliteyi düşürür. Bu yüzden eklem kıkırdağının doku basıncı yüksektir ve yoğun bağlantılı Tip II kollajen matriksin şişmesini engelleyerek, doku bütünlüğünü korur. Eklem kıkırdağı yüksek hidrostatik basıncı sayesinde aksiyal yüklere karşı koyabilir. Yükleme sırasında kıkırdaktan su açığa çıkar ve ince bir sıvı tabaka oluşturarak sürtünmeyi azaltır. Yük ortadan kalktığında, ortama salınan sıvı tekrar kıkırdak içine emilir. Böylece hem kıkırdağın visko-elastik özelliği sağlanmış, hem de hücrelerin beslenmesi ve atıkların uzaklaşması için gerekli sinovyal sıvı döngüsü sağlanmış olur.

## **2.2. Normal kıkırdak metabolizması**

Eklem kıkırdağının avasküler ve anöral olması nedeniyle kondrositler hem oksijeni hem de gıdaları sinoviyadan basit difüzyon yolu ile alır. Kondrositler, hücre dışı matrikste integrin adı verilen hücre yüzey bağlayıcı proteinler ile bağlantılıdır ve mekanik güçlere yanıt verirler. Normal kondrosit beslenmesi için aralıklı mekanik güç uygulaması gerekir. Yük altında hücre ve doku metabolitlerini içeren interstisyel sıvı, geçirgen yapıdaki kollajen- proteoglikan matriksten dışarı akar. Yük kalktığında besin içeren sıvı matriks içine geri çekilir.(2)

Eklem kondrositleri tarafından sayısız büyüme faktörü üretilip salınmaktadır. Transforming büyüme faktörü  $-\beta$  (TGF- $\beta$ ) eklem kıkırdağı için en önemli faktörlerden biridir. TGF- $\beta$  hücre yüzeylerinde bulunan reseptörlerine bağlanarak etki gösterir. Bu reseptörler hücre içi sinyal yollarını aktive ederek etki gösterir. TGF-  $\beta$ 'nın kollajen ve proteoglikan sentezini artırdığı ve matriks yıkımını ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.(5) İnsülin-benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) eklem kondrositleri tarafından üretilir ve mekanik uyarı altında hem kollajen hem de proteoglikan sentezini artırır (6) Benzer şekilde kemik morfogenetik proteinlerden (BMP), BMP2 ve BMP7'nin proteoglikan sentezini artırdıkları bildirilmiştir.(7)

Bunların dışında eklem kıkırdağında katabolik etkiye sahip birçok sitokin de vardır. Bunlardan en çok incelenen sitokinler; İnterlökin-1 (IL-1) ve Tümör Nekroz Faktördür (TNF). IL-1, proteoglikan sentezini inhibe eder. TNF'de eklemde yıkıcı enzimlerin artmasına yol açar. Bu iki mediatörün osteoartrit gelişiminde de rol aldığı düşünülmektedir. (2)

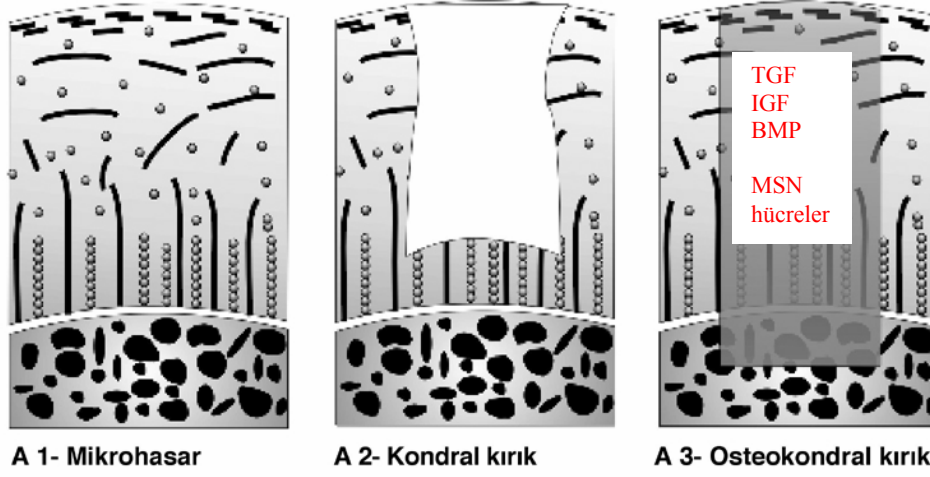
### **2.3. Eklem kıkırdağının yaralanmaya karşı yanıtı**

Eklem kıkırdağını yıkıma uğratan birçok faktör vardır. Bunlar arasında metabolik, genetik, vasküler, mekanik bozukluklar ve travma sayılabilir. Mekanik yaralanmalar, yaralanmanın derecesine bağlı olarak üç tipe ayrılır. Bunlar;

- a. Eklem kıkırdak yüzünde görülebilir ayrılma olmaksızın kondrosit ve matriksde oluşan künt travmaya bağlı mikro hasar. (Şekil 2a-1)
- b. Kalsifiye kıkırdak hattına kadar olan yırtılma ile seyreden kondral kırıklar. (Şekil 2a-2)
- c. Subkondral kemiği de içine alan eklem kıkırdağını kat eden delici osteokondral kırıklardır. (Şekil 2a-3)

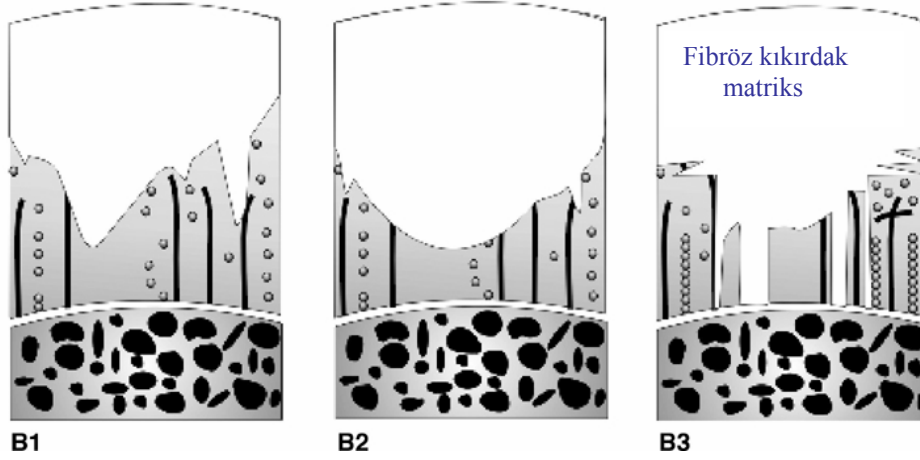
Her yaralanma tipinin iyileşme süreleri ve uzun dönem prognozları farklıdır. Lezyonların boyutu ve yeri prognozu belirlemede en önemli etkenlerdir. Ayrıca yaş, aktivite düzeyi, obezite ve eklem kullanımı gibi değişkenler de prognozu etkilemektedir.

## EKLEM KIKIRDAĞININ TRAVMA SONRASI YARALANMA ŞEKİLLERİ



**Şekil 2a**

## TEDAVİSİZ VE UZUN DÖNEMDE YARALANMAYA KARŞI DOKU YANITI



**Şekil 2b**

Mikrohasar sonucu oluşan stres, subkondral kemiği ve kalsifiye olmuş kıkırdağı etkileyip, eklem kıkırdağında incelmeye neden olur.(Şekil 2b-1) Kondral yaralanma oluşturulan bir tavşan modelinde bölgedeki kondrositlerin %34'ünde apoptozis olduğu



gösterilmiştir.(8) Kunt kırık yaranması, aynı zamanda matriks içinde kollajen yıkımı ve proteoglikan kaybına da neden olmaktadır.

Kondral kırık eklem kırıkdağını tam kat olarak etkileyen ancak subkondral kemiğe ulaşmayan bir kırıktır.(Şekil 2a-2) Hasar görmeyen kondrositlerde Tip II kollajen ve matriks sentezi artmasına rağmen, bu aktivite artışı kısa sürelidir ve zamanla üretim hızı yaranma öncesi düzeylere döner.(9) Kondral kayıplar iyileşmediği gibi, başlangıçta oluşan yaranma kademeli olarak artar ve eklem yüzeyinde kayıplar ortaya çıkar. (Şekil2b-2)

Osteokondral kırıklar ise kırıkdağ ayrım hattını geçen ve subkondral bölgeye ulaşan lezyonlardır. (Şekil 2a-3) Oluşan hematoma, fibrin pıhtısına organize olarak fibrovasküler tamir edici doku özelliği kazanır (10,11) Altta bulunan kemik iliğinden gelen mezenşimal kök hücreleri proliferer olur ve aynı mikro çevrede bulunan yerel büyüme faktörlerinin de etkisiyle kondrositlere dönüşürler. Bu kondrositler Tip II kollajen ve agregasyon gösteren proteoglikanlar içeren matriks üretebilir. Yaranmanın daha derin tabakalarında bulunan hücreler, endokondral ossifikasyona uğrayarak subkondral kemik kaybını telafi etmeye çalışırlar. Buna rağmen, kırıkdağ tamir dokusunun mimarisi, nadiren normal eklem kırıkdağının yapısına benzer.(2) Bu iyileşme cevabı, normal hiyalin kırıkdağdaki Tip I ile Tip II kollajen arasındaki orantının değiştiği, fibro-kırıkdağ yapısında bir dokudur ve uzun yıllar görev yapması beklenemez. (Şekil 2b -3)

### **2.3.1. Eklem kırıkdağının kendini yenileme kapasitesi ve çözüm yolları**

Eklem kırıkdağı kayıplarında dokunun kendi kendini onarma kapasitesi oldukça sınırlıdır. Kondral bir lezyonda öncelik lezyonun derinliği, bir başka ifade ile subkondral kemiğe kadar inip inmediğinin tespitidir. Hastanın kanıyla veya kemik iliğiyle bağlantısı olmayan izole kırıkdağ lezyonları, kondrositler tarafından kollajen ve proteoglikan gibi metabolik ürünlerin üretimi ile onarılmaya çalışılır. Bu iyileşme cevabı yetersizdir ve önemli bir onarım dokusu oluşturmaz. Kırıkdağ ve altındaki kemiğe ulaşan lezyonlarda ise kemik iliği ve kan onarım işlemine katılır. Mezenşimal hücreler kaynaklı bu onarım dokusu metaplazik değişim ile fibröz kırıkdağa dönüşür. Bu iyileşme sırasında ekleme sürekli pasif

hareket uygulaması, tam yük vermekten kaçınma ve izometrik egzersizler ile yeni oluşan dokunun kalitesinde belirgin bir düzelme sağlandığı da bilinmektedir.(12) Salter ve ark., oluşturdukları deneysel modelde sürekli pasif hareketin kıkırdak iyileşmesi üzerinde etkinliğini araştırmışlar ve immobilize edilen tavşanlarda defektin bağ dokusu ile dolduğunu, fiziksel aktivite ile parsiyel iyileşme olduğunu ve sürekli pasif hareket verilen tavşanların %90'ında defektin hiyalin benzeri kıkırdak ile dolduğunu göstermişlerdir. (13) Benzer bir şekilde Rodrigo ve ark., mikro-kırık ile tedavi edilen kıkırdak defektlerinde ameliyat sonrası dönemde dize sekiz hafta süreyle günde sekiz saat sürekli pasif hareket cihazı uygulanmasının, bu imkan yoksa hastaların günde en az üç defa çok sayıda fleksiyon-ekstansiyon egzersizleri yapmalarının önemini vurgulamışlardır.(14)

Kıkırdak defektlerinin tedavisi için kullanılan yöntemler arasında: artroskopik tıraşlama, abrazyon artroplastisi, subkondral kemiğe penetrasyon, mikrokırık, osteokondral otogreft transferi, osteotomi, eklem distraksiyonu, yumuşak doku greftleri, hücre transplantasyonu, büyüme faktörleri ve yapay matriks kullanımı gibi birçok teknik tanımlanmıştır.(15, 16, 17, 18, 19) Günümüzde hiçbir tedavi yöntemi ile normal mimarı yapıda hiyalin eklem kıkırdağı elde etmek mümkün olmadığı için araştırmalar devam etmektedir. Güncel kıkırdak onarımı yöntemleri, kabaca fibröz kıkırdak oluşturma yöntemleri (subkondral penetrasyon, mikro-kırık, abrazyon artroplastisi) ve hiyalin-benzeri kıkırdak oluşturma yöntemleri (otolog osteo-kondral transfer, otolog kondrosit transplantasyonu, matriks temelli kondrosit transplantasyonu) olarak iki ana grupta incelenebilir.

### **1) Subkondral kemiğe penetrasyon**

Lezyon sahasındaki subkondral kemiğin bir matkap ile 2-3 mm aralıklar ile delinmesidir. Subkondral delme yöntemi ile vasküler alana ulaşarak, oluşan fibrin pıhtısı üzerinden tamir süreci başlar. Mezenşimal hücreler pıhtıya göç eder ve burada proliferasyon olarak fibröz kıkırdağa farklılaşırlar. Oluşan bu doku eklem kıkırdağı ile aynı özelliklere sahip değildir ve uzun dönem takip sonuçları başarılı bulunmamıştır.(20,21)

Abrazyon artroplastisi ilk defa 25 yıl önce Insall (22) ve Pridie (23) tarafından açık cerrahi teknikle tanımlanmıştır. Yöntem, kıkırdak defekti sahasındaki subkondral kemiğe çoklu matkap delikleri açılarak, kemik iliği kaynaklı fibrin pıhtısı üzerinden tamir dokusu iskeletin oluşması esasına dayanır. Abrazyon artroplastisi sonrası oluşan bu doku, fibröz kıkırdak yapısında olup Tip I ve Tip III kollajen içerir.(24) Günümüzde artroskopik teknikle yapılan abrazyon artroplastisinde, debride edilen hasarlı kıkırdak bölgesinde ilk olarak fibrin pıhtı oluşuyor ve bu pıhtı sekiz hafta sonra fibröz dokuya, dört ay sonra ise fibrokıkırdak yapıya dönüşüyor.(24) Dizilim bozukluğu, instabilitesi ve morbid obesitesi olmayan ileri yaş gurubu hastalarda tercih edilen bir yöntemdir. Johnson ve arkadaşlarının artroskopik abrazyon artroplastisi yaptıkları 105 hastalık serilerinde, ilk iki yıl %74 klinik başarılı sonuç elde edilirken bu oran 5. yılda %24'e kadar düşmüştür.(24)

## **2) Mikrokırık oluşturma**

Mikro-kırık yöntemi, sub-kondral penetrasyon için kullanılan matkap ucunun oluşturduğu termal hasarı önleyerek daha iyi bir onarım ortaya çıkacağı savı ile Steadman tarafından tanımlanmıştır.(25) Yük binme alanında lokalize, sınırları belirli, subkondral kemiğin açığa çıktığı tam kat lezyonlarda endikedir.(26) Lezyonun sınırları keskin ve subkondral kemiğe dik olacak şekilde hazırlanır. Kalsifiye kıkırdak tabakası kürete edildikten sonra, özel sivri uçlu bizler yardımı ile subkondral kemiğe 3-4 mm derinliğinde yaklaşık 4-5 mm aralıklarla delikler açılır. Onarım yine fibröz kıkırdak şeklinde olmasına rağmen, artroskopik olarak uygulanabilmesi ve düşük morbiditesi nedeniyle yaygın kullanım alanı bulmuş ve 2 cm'den küçük defektlerde ilk tercih edilecek yöntem (first line treatment) olarak kabul görmüştür. (18, 25)

## **3) Osteokondral otogreft transferi (mozaikplasti)**

Diz ekleminde yük taşımayan bölge olarak kabul edilen interkondiler çentik ve trokleanın lateral kenarından alınan silindirik osteokondral greftlerin, yük taşıyan bölgedeki tam kat kıkırdak defektlerine sıkıştırılarak nakledilmesi prensibine dayanır. (15) Ameliyat sonrası erken dönemde greftin çökmesine engel olmak için yük vermeme ve beslenmeyi artırmak için erken hareket prensiplerine uyulmalıdır. Enfeksiyon veya immünojenite

sorunlarının olmaması, ucuz ve tek evreli cerrahi yöntemin avantajlarıdır. Donör alanın kısıtlı olması nedeniyle en fazla 3 cm<sup>2</sup>'lik bir alana nakil yapılabilmesi, az yük taşıyan bölgelerde iyatrojenik kırıkta defekti oluşturulması, implante edilen kırıktağın kalınlığının ve kollajen oryantasyonunun farklı olması tekniğin dezavantajlarıdır.(27) Tekniğin özelliğinden dolayı, ne kadar yakın yerleştirilirse yerleştirilsin, defektin ancak % 70'i hiyalin kırıkta ile örtülebilir. Nakledilen greftler arasında kalan bölgeler fibröz kırıkta ile iyileşir. Donör alan sorununu en aza indirmek için 6 mm çaplı greftler tercih edilir. Özellikle büyük defektlerde eklem konturunun oluşturulması zor olabilir. Normalden mütebariz greftlerin dejenere olduğu, tam tersine alçak yerleştirilen greftlerin ise fonksiyon görmediği bilinmektedir.(27)

### **3) Osteokondral allogreftler**

Eklem yüzeyindeki büyük defektlerin onarılmasında ve genç hastalarda uygulanabilir. Genellikle tümör rezeksiyonu veya travma sonrası gelişen ve otojen dokularla onarılamayacak kadar büyük defektlerde kullanılır. Normal kırıkta ile çevrelenmiş ileri defekti olan, başka eklem patolojileri olmayan genç hastalar ideal endikasyondur.(28) Taze kabuk şeklinde allogreftler veya kriyo-prezervasyon ile kırıkta hücrelerinin bir kısmının korunabildiği taze dondurulmuş allogreftler kullanılarak yapılır. (29) Taze allogreftler, immünojenisite, uygun boyutta elde edilememe, hastalık taşınması riski ve lojistik sorunlar nedeniyle tercih edilmezler. (30) Avasküler ve alenfatik olan eklem kırıktağı, rejeksiyon oluşmaması yönünden avantajlıdır. Ancak yine de bu greftlerde kondral ve osseöz dokunun integrasyonu, immünojenitesi ve uzun dönem biyomekanik dayanıklılığı konusundaki sorunlar çözülmemiştir. (31)

### **4) Osteotomiler**

Genellikle diğer kırıkta onarımı yöntemlerine ek olarak, defekt bölgesini yükten kurtararak iyileşme için uygun bir ortam sağlamak ve sıklıkla bozuk olan ekstremité dizilimini düzeltmek amacıyla yapılır. Koshino ve ark., yüksek tibial osteotomi ve abrazyon artroplastisi sonrası diz ekleminde medial kompartmanda fibröz kırıkta rejenerasyonu olduğunu göstermişlerdir. (32)

## **5) Kıkırdak doku mühendisliği**

Kondral ve osteokondral kayıplarda dokunun kendi kendini yenileme kapasitesinin sınırlı olması, araştırıcıları hücreleri hasarlı ve kayıp bölgeye uygulama ve barındırma yollarını aramaya itmiştir. Kıkırdak doku mühendisliği bu sorunu çözmek için ortaya çıkmış biyoteknolojik bir alandır. Brittberg ve ark. (19) tarafından tanımlanmış olan otolog kondrosit transplantasyonu, iki aşamalı bir metoddur. Önce kültürde üretilmek üzere sağlam eklem kıkırdağından artroskopi ile örnek alınır. Bu aşamada varsa kemik defektleri greftlenir. Kıkırdak örneğinden elde edilen kondrositler laboratuvar ortamında, doku kültürü içinde çoğaltılır ve bir süspansiyon haline getirilir. Bu kez açık bir cerrahi işlemle defekt bölgesi hazırlanır, üzerine periost kapağı dikilir ve çevresi fibrin yapıştırmacı ile su geçirmez hale getirilir. Daha sonra bu kapağın altına süspansiyon halindeki kondrositler enjekte edilir. Yapılan çalışmalar, bu teknikle elde olunan kıkırdak onarım dokusunun sadece periost greftinden daha üstün olduğunu ve “hiyalin benzeri” kıkırdak yapısında geliştiğini göstermiştir. (33,34) En iyi sonuçlar unipolar femoral defektlerde elde edilmektedir. Patellar ve tibial defektlerin sonuçları daha kötüdür. Buna karşın pahalı olması, iki aşamalı cerrahi gerektirmesi, teknik olarak zor olması, hipertrofi ve delaminasyon sorunları yöntemin dezavantajlarıdır. (35,36) Periost grefti altına yerleştirilen kıkırdak süspansiyonu uygulamasının teknik olarak zor olması ve çevresinde sınırlayıcı bir kenar olmayan defektlerde kullanılamaması, araştırmacıları çeşitli taşıyıcı matriksler geliştirmeye yöneltmiştir. Bu matriksler üzerine ekilen kondrositler kolayca taşınabilir, şekil verilerek kesilebilir ve hücre kaybı söz konusu değildir. Son yıllarda birçok heyecan verici gelişmelerin yaşandığı bu alanda matriks olarak kollajen çatı implantları, sentetik polimerler, hyaluronat gibi birçok maddeler denenmiştir ve halen denenmektedir. (37)

## **7) Periost ve perikondrium greftleri**

Kondrojenik potansiyeli olan periost grefti, kıkırdak defektlerinin onarımında hem deneysel hem de klinik uygulamalarda kullanım alanı bulmuştur. Periostun kondrojenik potansiyeli kambiyum tabakasındaki prekürsör hücrelerden ileri gelmektedir. Periost hem hücre kaynağı hem de hücreleri koruyan ve saklayan bir yapı ve lokal büyüme faktörlerinin kaynağı olarak işlev görür. Periostun konnektif dokunun tüm çeşitlerini oluşturma

kapasitesine sahip olduğu, fakat sinovyal ortamda kıkırdak dokuya farklılaşabildiği belirtilmektedir.(38). Periost nakli sonrası hiyalin kıkırdak oluşmadığını bildiren çalışmalar (39) yanında, tek başına periostun ya da periostla birlikte kültüre edilmiş kondrosit enjeksiyonunun makroskopik ve biyokimyasal olarak hiyalin kıkırdak görünümünde kıkırdak oluşumuna neden olduğunu gösteren çalışmalar da vardır.(40,12). Deneysel çalışmalar dışında klinik uygulamalarda da yer bulan periost naklinin kısa dönem klinik sonuçları başarılı bulunmuş fakat uzun dönem takiplerde ossifikasyon sorunları görülmeye başlanınca kullanımı konusunda tekrar endişeler doğmuştur. (41,42)

#### **2.4. Neden pedüncüllü sinoviya greftini seçtik ?**

Sinoviya, diartrodial eklemlerin artiküler olmayan yüzeylerini kaplayan, kimi zamanlar kıvrımlar gösteren ince bir dokudur. Sinoviyal intima hücrelerinin kemik iliğinden gelen makrofajların ve fibroblastların bir karışımı olduğu düşünülür.

Sinoviyanın kondrojenik potansiyele sahip hücreler içerdiği bilinmektedir. Klinik olarak etyolojisi bilinmeyen sinoviyal kondromatosizde oluşan çok sayıdaki kıkırdak nodüllerinin, sinoviya hücrelerinin reaktif metaplazisi sonucu oluştuğu düşünülmektedir.(43) Bunun yanında, romatoid pannus içinde de kondrosit benzeri hücreler tespit edilmiştir. (44,45) Sinoviyumdan elde edilmiş hücrelerin, kemik morfogenetik protein bağlı plakların üzerine ekilmesiyle kondrojenik farklılaşmaya uğradıkları bildirilmiştir.(46) Yine oluşturulan bir deneysel modelde, eklemlerin değişik bölgelerinden alınan sinoviya, hazırlanan agar içine gömülmüş ve TGF- $\beta$  ile kültüre edilmiştir. Daha sonra eksplantın immünohistokimyasal incelemeleri sonucu kıkırdak doku geliştiği gösterilmiştir.(47). Sinoviyal sıvıda Prolaktin Hormonu (PRH) ve Prolaktin Hormon reseptörlerinin tespiti de, sinoviyal dokunun kıkırdak doku metabolizmasını etkilediğinin bir göstergesidir. PRH hücre proliferasyonunu ve Tip II kollajen üretimini artırarak kıkırdak doku iyileşmesini etkilemektedir.(48)

Bütün bu gözlemler sinoviya greftini, kıkırdak onarımında kullanılabilecek bir doku olarak seçmemize zemin hazırlamıştır. Periost greftinin üzerinde sık çalışılan bir doku olması, klinik uygulamalarda yer bulması ve kondrojenik potansiyelinin bilinmesi nedeniyle sinoviya grefti ile karşılaştırılmasına karar verilmiştir. Çalışmamızda sinoviyal greft, periost greftinde olduğu gibi serbest flep şeklinde değil, pedüncüllü greft olarak hazırlanmıştır. Böylece damarsal yapıların korunup beslenmesi devam eden sinoviyanın kıkırdak iyileşmesinde daha etkin olacağı düşünülmüştür.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

DA05/39 no'lu ve “ Tavşanlarda eklem kıkırdak defekti sonrası pedünküllü sinoviya grefti ile periost greftinin karşılaştırılması ” başlıklı araştırma projemiz 21 Aralık 2005 tarihinde Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi araştırma kurulunca bilimsel ve etik açıdan uygun görülüp onaylanmıştır. Deneyler Başkent Üniversitesi deney hayvanları üretim ve araştırma merkezi araştırma ünitesi ve ameliyathanelerinde yapılmıştır.

Çalışmamızda bir yaş üstü, 2500 - 3500 gram ağırlığında, beyaz Yeni Zelanda cinsi 33 adet tavşan kullanıldı. Deneysel çalışmada 3 grup oluşturuldu. I. grupta 12 adet tavşan olup, bu tavşanların her iki dizine de periostal greft nakli yapıldı. II. grupta 12 adet tavşan olup, bu tavşanlarında her iki dizine pedünküllü sinoviya greft nakli yapıldı. III. grupta ise 9 adet tavşan olup, kontrol grubunu oluşturdu ve bunlarda sadece kıkırdak defekti oluşturularak herhangi bir tedavi uygulanmadı. Bütün tavşanların her iki dizi de çalışmada kullanıldı.

Tavşanlara intramüsküler 35mg/kg Ketamin Hidroklorid (Ketalar<sup>®</sup>, Eczacıbaşı, İstanbul) ve 6mg/kg Xylazine<sup>®</sup> (Rhompun, Bayer, İstanbul) verilerek anestezi uygulandı. Batticon<sup>®</sup> solüsyon ile steril yıkama ve örtünmeyi takiben her iki dize medial parapatellar artrotomi ile girilerek patella laterale devrildi ve femoral kondiller açığa çıkarıldı. Medial femoral kondilin yük taşıyan kısmında 3x2 mm'lik kıkırdak defekti oluşturuldu.(Resim 1a-d)

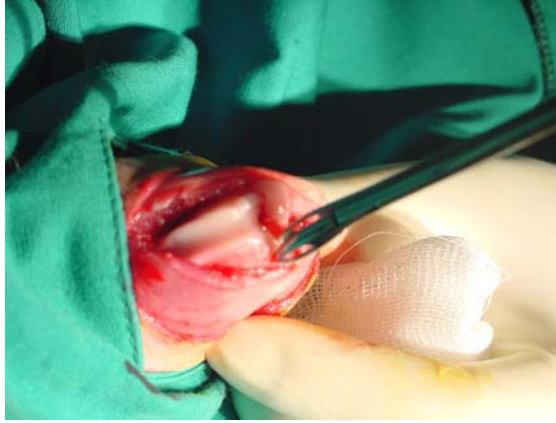




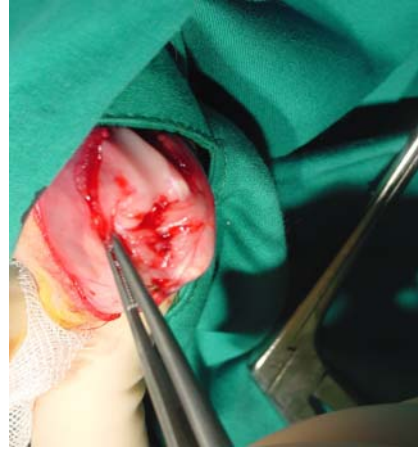
**Resim 1a:** Cerrahi öncesi hazırlık.



**Resim 1b:** Cerrahi öncesi hazırlık.



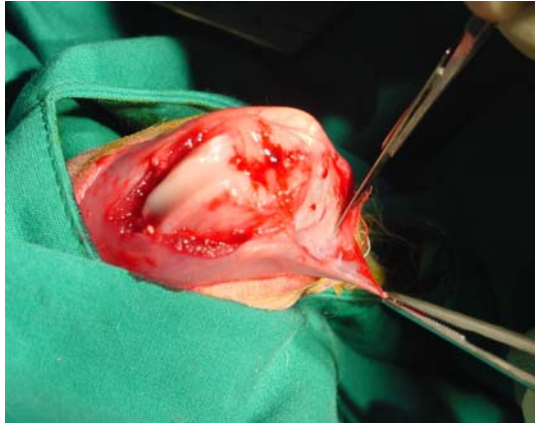
**Resim 1c:** Medial femoral kondilde defekt oluşturulması.



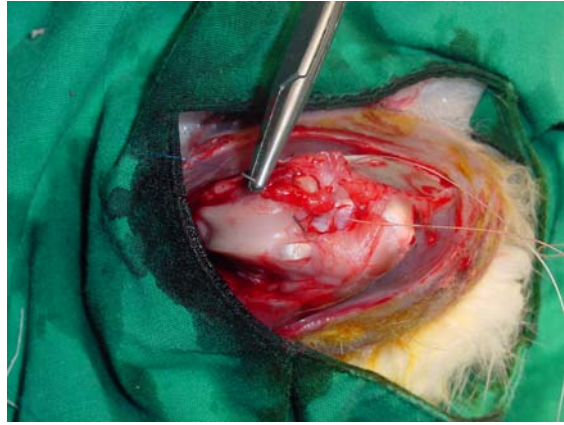
**Resim 1d:** Defektin görünümü.

## Grup I

I. gruptaki 12 adet tavşanın kıkırdak defektine daha önce tecrübe edilmiş teknik (41) modifiye edilerek, periost greft nakli yapıldı. Aynı kesi uzatılarak tibia medial proksimal metafizinden alınan periostal greft, 6/0 polipropilen (Prolene<sup>®</sup>, Ethicon, Johnson&Johnson, Belçika) ile defekt bölgesine dikildi.(Resim2a,2b) Periostal greft defekt bölgesine subkondral kemikten açılan tünellerden geçirilen 6/0 polipropilen ile dikilerek nakledildi. (Resim 4). Periostal greft nakledildikten sonra tavşanların dizlerine art arda tam fleksiyon ve tam ekstansiyon yaptırılarak greftlerin yerinden ayrılmadığı görüldükten sonra katlar 3/0 poliglaktin (Vicryl<sup>®</sup> Ethicon, Johnson-Johnson, Belçika) ile kapatıldı. (Resim 5)



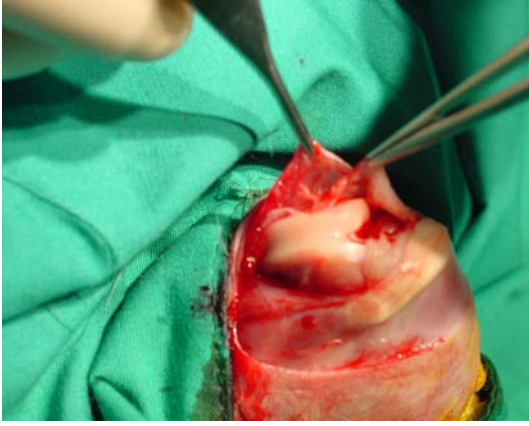
**Resim 2a:** Periost greftinin alınması.



**Resim 2b:** Periost greftinin defektli bölgeye nakli.

## Grup II

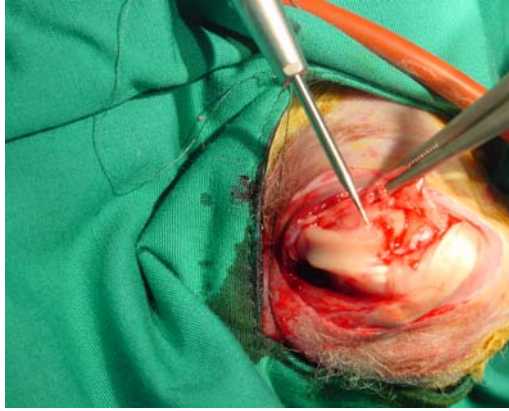
II. gruptaki 12 adet tavşana medial femoral kondilin yük taşıyan kısmına 3x2 mm'lik defekt oluşturulduktan sonra, tarafımızdan tecrübe edilen teknikle pedüncüllü sinoviya greft nakli yapıldı.(1) Aynı kesi kullanılarak, parapatellar artrotominin medial parçasının iç yüzünden pedüncüllü sinoviyal greft serbestleştirildi. Damarsal yapıların korunduğu bu greftin distal ucu 6/0 polipropilen (Prolene<sup>®</sup>, Ethicon, Johnson&Johnson, Belçika) dikiş ile defekt bölgesine dikilerek nakledildi.(Resim 3a,3b) Pedüncüllü sinoviya grefti defekt bölgesine subkondral kemikten açılan tünellerden geçirilen 6/0 polipropilen dikişle dikilerek nakledildi.(Resim 4). Graft nakledildikten sonra tavşanların dizlerine art arda tam fleksiyon ve tam ekstansiyon yaptırılarak greftlerin yerinden ayrılmadığı görüldükten sonra katlar 3/0 poliglaktin (Vicryl<sup>®</sup> Ethicon, Johnson-Johnson, Belçika) ile kapatıldı.(Resim 5)



**Resim 3a:** Pedüncüllü sinoviya greftinin alınması.



**Resim 3b:** Pedüncüllü sinoviya greftinin defektli bölgeye nakli.



**Resim 4:** Defekt etrafından tünel açılması.

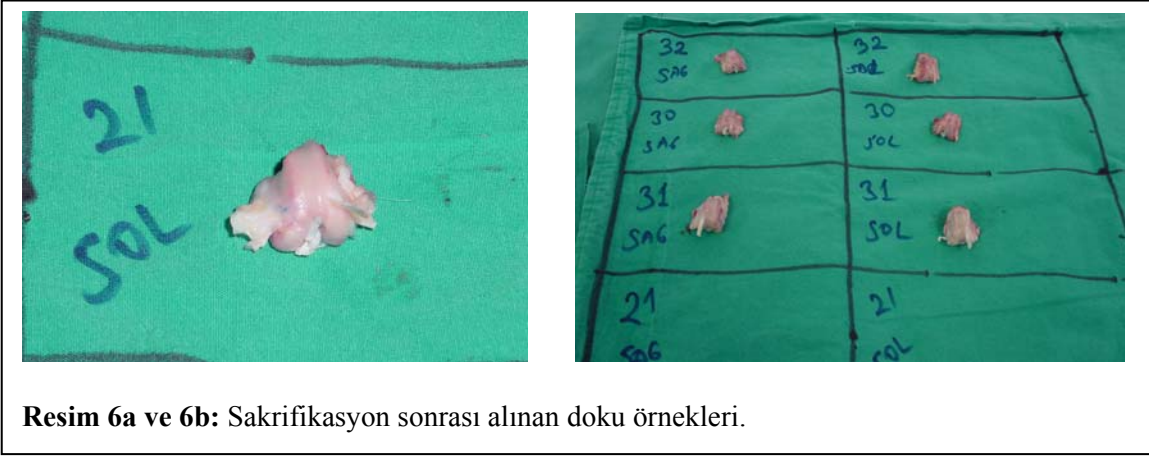


**Resim 5:** Tüm katların kapatılmış hali.

### **Grup III**

III. gruptaki (kontrol grubu) 9 adet tavşana medial femoral kondilin yük taşıyan kısmına 3x2 mm'lik defekt oluşturulduktan sonra, ek bir tedavi yapılmadı ve katlar 3/0 poliglaktin (Vicryl® Ethicon, Johnson-Johnson, Belçika) ile kapatıldı.

Tavşanlar anestezi etkisinden kurtulup uyanana dek diğer tavşanlardan izole edildi. Daha sonra normal günlük aktivitelerini yapacak şekilde önceki kafeslerine alındı. Tavşanlara herhangi bir hareket kısıtlaması uygulanmadı. Ameliyat sonrası ilk üç gün, günde iki doz olacak şekilde 75mg/kg sefazolin (Sefazol® , Mustafa Nevzat, İstanbul) profilaksi amaçlı intramüsküler olarak uygulandı. Altı adet tavşan ameliyat sonrası dönemde exitus oldu. Bu tavşanların yerine aynı özelliklere sahip 6 adet tavşan temin edilerek, aynı aşamalardan geçerek ve aynı kurallara uyarak ameliyat edildi. Böylece tavşan sayısı değişmeyip, istatistiksel analizlerin doğru ve sağlıklı bilgi vermesi sağlandı.



**Resim 6a ve 6b:** Sakrifikasyon sonrası alınan doku örnekleri.

Sonuçta; 6. 12. ve 24. haftalarda her seferinde I. ve II. gruptan 4'er adet tavşan, III. gruptan da 3 adet tavşana 150 mg/kg ketamin intravenöz verilerek ötanazi uygulandı. Ötanazi sonrası eski kesilerden girilerek femur distali suprakondiler bölgeden eksize edildi.(Resim 6a,6b). Bu örnekler %10 formik asit içinde dekalsifiye edilerek parafine konuldu. Daha sonra 4 mm kalınlığında kesitlere ayrılarak, Hematoksilen eozin, safranin-o-fast green ve kollajen II boyamaları yapıldı. Ardından mikroskop altında incelenerek, standardize edilmiş evreleme sistemi kullanılarak kıkırdak iyileşmesinin skorlaması yapıldı. (TABLO 1).(1,49) Her grubun hem kendi içinde hem de gruplar arasındaki 6, 12 ve 24. haftalardaki kıkırdak iyileşmesini karşılaştırmak için, ki-kare testi ile istatistiksel analizi yapıldı.

Defekt bölgesinde oluşan yeni kıkırdak dokusunun Kollajen II miktarını anlamak için ayrıca, Kollajen II boyamasından elde edilen histolojik skorlamanın da istatistiksel analizi yapıldı. Bu analiz, Kruskall Wallis ve Dunn testleri kullanılarak yapıldı. Böylece periost grefti ile pedünküllü sinoviya greft nakli karşılaştırılarak, hangi yöntemle hiyalin kıkırdağa benzer kıkırdak elde edildiği saptandı.

**TABLO 1****EKLEM KIKIRDAK DEFEKTLERİNDE HİSTOLOJİK SKORLAMA SİSTEMİ**

<b>Kategori</b>	<b>Skor</b>
<b>1. Orijinal eklem kıkırdak yüzeyine göre defekt dolum oranı</b>	
% 111-125 .....	1
% 91-110 .....	0
%76-90 .....	1
%51-75 .....	2
%26-50 .....	3
< %25 .....	4
<b>2. Çevre eklem kıkırdağı ile tamir dokusunun integrasyonu</b>	
Normal devamlılık ve integrasyon ..	0
Azalmış hücre sayısı .....	1
Bir tarafta boşluk .....	2
İki tarafta boşluk .....	3
<b>3. Tidemark üzerindeki kıkırdağın Safranin-O-Fast Green ile boyanması</b>	
Normal .....	0
Hafif azalmış .....	1
Orta derecede azalmış .....	2
Belirgin azalmış .....	3
Boyanma yok .....	4
<b>4. Tidemark üzerindeki kıkırdağın hücre morfolojisi</b>	
Normal .....	0
Kondrositlerin büyük kısmı yuvarlak ise .....	1
Kondrositlerin % 50'si yuvarlak ise ..	2
Çoğunluğu orak şeklinde ise (fibroblast benzeri hücreler) .....	3
<b>5. Tüm defektin yapısı (sınırlar hariç)</b>	
Normal .....	0
1-3 küçük defekt .....	1
1-3 geniş defekt .....	2
>3 geniş defekt .....	3
Defekt içinde yarıklar .....	4
<b>6. Yüzeyin yapısı</b>	
Normal .....	0
Hafif düzeyde fibrilasyon ve düzensizlik ..	1
Orta düzeyde fibrilasyon ve düzensizlik ..	2
Belirgin fibrilasyon ve bozulma .....	3
<b>7. Tidemark'ın yeniden oluşturulması</b>	
Tam .....	0
%75-99 ..	1
%50-74 ..	2
%25-49 ..	3
< %25 ..	4

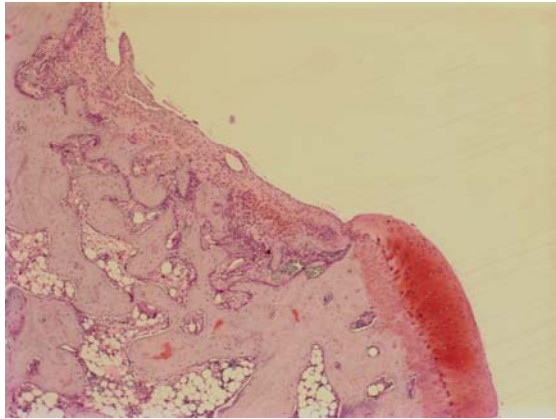
**Not:** Bütün kategorilerde alınan puan ne kadar yüksekse kıkırdak iyileşmesi o kadar kötüdür.



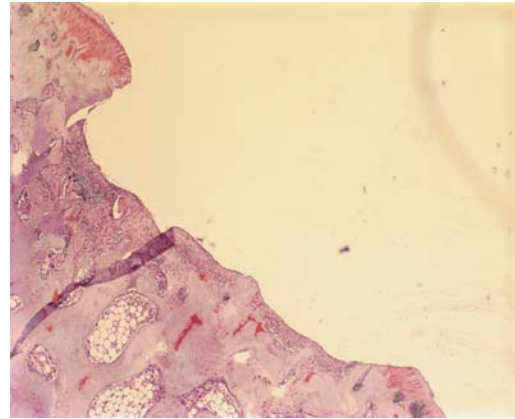
## 4. BULGULAR

### 4.1 Altıncı Hafta Sonuçları

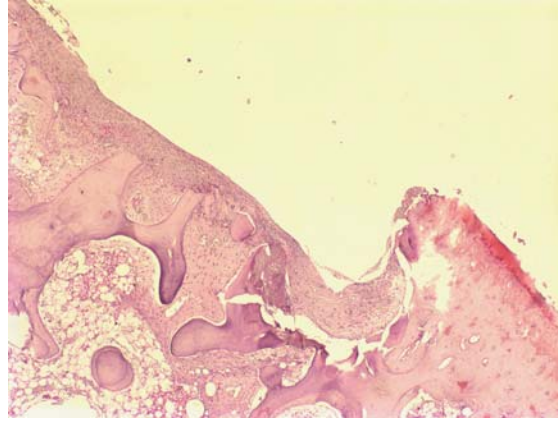
Cerrahi işlemden 6 hafta sonra sakrifiye edilen pedünküllü sinoviya grubu Tablo 1'de yer alan histolojik skorlama parametrelerine göre değerlendirildiğinde, tamir dokusundaki kondrositlerin %50'sinin yuvarlak hücre yapısında olduğu görüldü. Periost grubunda ise hücrelerin büyük bir kısmı, kontrol grubunda ise tamamı fibroblastlardan oluşmaktaydı. Pedünküllü sinoviya grubunda defektin kısmen ve düzensiz bir eklem yüzü oluşturacak şekilde immatür kıkırdak dokusu ile dolduğu görüldü.(Resim 7a) Periost grubunda ise 6. haftada defektin kısmen immatür kıkırdak ve karışık fibröz doku ile dolduğu izlendi. (Resim 7b) Kontrol grubunda ise defekt kısmen fibröz doku ile dolmuştu, ancak kıkırdak doku oluşumu yoktu.(Resim 7c) Tamir dokusunun orijinal eklem kıkırdağına integrasyonu ve subkondral kemiğin tamir yüzdesi açısından gruplar arasında bir fark yoktu.



**Resim 7a:** Pedünküllü sinoviya 6.hafta Safranin-O Fast Green boyaması; defekt kısmen immatür kıkırdak doku ile dolmaya başlamış.



**Resim 7b:** Periost 6. hafta Safranin O- Fast Green boyaması; defekt kısmen immatür kıkırdak ve fibröz doku ile dolmaya başlamış.

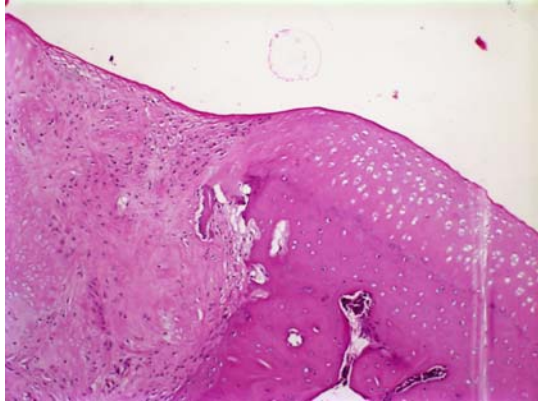


**Resim 7c:** Kontrol 6.hafta Safranin-O-Fast Green boyaması; defekt kısmen fibröz doku ile dolmaya başlamış.

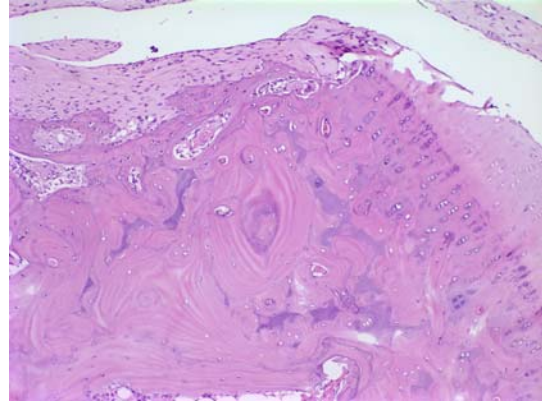
#### 4.2 On İkinci Hafta Sonuçları

Cerrahi işlemden 12 hafta sonra sakrifiye edilen ve pedüncüllü sinoviya grefti yapılan grupta, tamir dokusundaki hücrelerin morfolojik olarak büyük bir kısmının yuvarlak hücre şeklinde olduğu görüldü. Periost nakli yapılan grupta ise hücrelerin %50'si yuvarlak hücre şeklindeydi. Kontrol grubunda ise hücrelerin tamamı fibroblast şeklinde görüldü. Tamir dokusunun orijinal eklem kıkırdığına integrasyonuna bakıldığında ise, hem pedüncüllü sinoviya hem de periost grubunda zayıf bir integrasyon olduğu, kontrol grubunda ise arada boşlukların olduğu görüldü. Pedüncüllü sinoviya grubunda defektin tam olarak düzgün bir yüzey oluşturmadığı, ancak kıkırdak doku ile dolduğu görüldü. (Resim 8a) Aynı haftada periost grefti yapılan grupta ise defektin kısmen ve düzensiz kıkırdak doku ile dolduğu görüldü. (Resim 8b) Kontrol grubunda ise defekt fibröz doku ile dolmuştu. (Resim 8c) Her üç grupta da tidemark'ın yeniden oluştuğu ve tidemark altında yeni kemik oluşumu açısından da bir fark olmadığı görüldü.

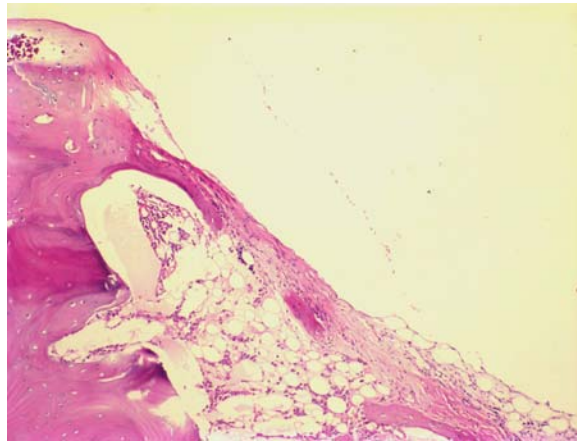




**Resim 8a:** Pedüncüllü sinoviya 12. hafta Hematoksilen Eozin boyaması; defekt tam olarak düzgün bir yüzey oluşturmamış ama kıkırdak doku ile dolmuş.



**Resim 8b:** Periost 12. hafta Hematoksilen Eozin boyaması; defekt kısmen ve düzensiz olarak kıkırdak doku ile dolmuş.



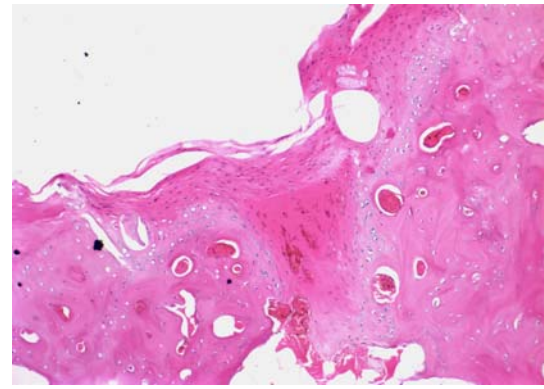
**Resim 8c:** Kontrol 12. hafta Hematoksilen Eozin boyaması; defekt fibröz doku ile dolmuş.

### 4.3 Yirmi Dördüncü Hafta Sonuçları

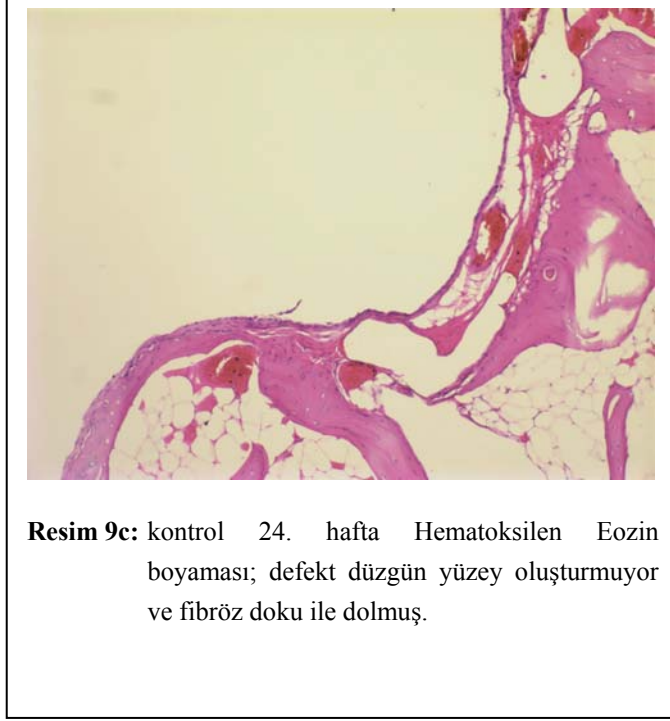
Cerrahi işlemden 24 hafta sonra sakrifiye edilen tavşanlarda, pedüncüllü sinoviya ve periostal greft nakli yapılan iki grupta da, hücrelerin büyük çoğunluğunun yuvarlak şekilli olduğu görüldü. Kontrol grubunda ise hücrelerin büyük bir kısmının fibroblastlardan oluşmaktaydı. Pedüncüllü sinoviya grefti yapılan grupta tamir dokusunun orijinal eklem kıkırdağına integrasyonunun zayıf olduğu, ancak boşluk olmadığı saptandı. Periostal greft nakli yapılan grupta ise hem zayıf integrasyon hem de boşluklara rastlandı. Kontrol grubunda ise boşlukların daha fazla olduğu görüldü. Pedüncüllü sinoviya grubunda defektin düzgün bir yüzey oluşturacak şekilde kıkırdak doku ile dolduğu görüldü. (Resim 9a) Periost grubunda ise defektin düzensiz bir eklem yüzü oluşturarak kıkırdak doku ile dolduğu görüldü. (Resim 9b) Kontrol grubunda ise defektin kısmen fibröz doku ile dolduğu, ancak kıkırdak doku oluşmadığı izlendi. (Resim 9c) Tidemarkın yeniden oluşması açısından pedüncüllü sinoviya ile periost grubu arasında bir fark olmadığı, kontrol grubunda ise zayıf olduğu görüldü. Subkondral kemiğin tamir yüzdesi açısından ise gruplar arasında bir fark olmadığı saptandı.



**Resim 9a:** Pedüncüllü sinoviya 24. hafta Hematoksilen Eozin boyaması; defekt kısmen düzgün yüzey oluşturacak şekilde tam olarak kıkırdak doku ile dolmuş



**Resim 9b:** Periost 24. hafta Hematoksilen Eozin boyaması; defekt düzgün yüzey oluşturmuyor ama kıkırdak doku ile dolmuş.



#### 4.4 Histolojik Skorumlar

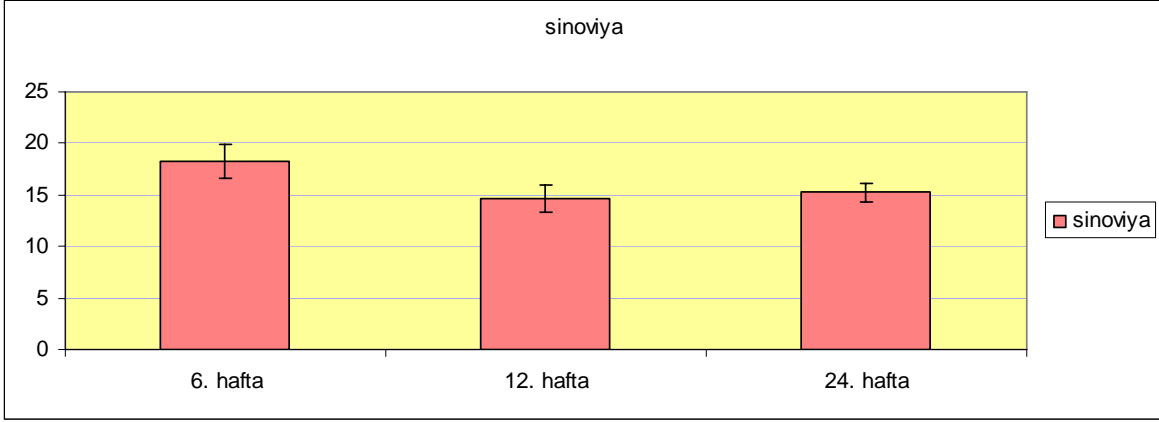
Elde edilen verilere faktöriyel düzen varyans analizi uygulandı. Pedüncüllü sinoviya, periost ve kontrol grubunun, kırıldak iyileşmesi açısından aralarındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü. ( $P < 0.05$ ) Tablo 2’de pedüncüllü sinoviya, periost greft nakli ve kontrol grubundaki tavşanların, kurban edildikleri haftalara göre histolojik skorlamadan aldığı puanların aritmetik ortalamaları ve standart hata değerleri görülmektedir. (TABLO 2). Tablo 1’deki histolojik skorlamayı hatırlarsak, bütün parametrelerde alınan puan ne kadar düşük ise iyileşme o kadar iyidir. Bu nedenle Tablo 2’deki aritmetik ortalamalar ne kadar düşük ise iyileşmenin o kadar iyi olduğu kabul edilmektedir.

**Tablo 2 :**

	<b>Pedüncüllü sinoviya</b>	<b>Periost</b>	<b>Kontrol</b>
<b>6. hafta</b>	18,25 ± 1,633	24.80 ± 1,461	27.25 ± 1,633
<b>12. hafta</b>	14.66 ± 1,334	19.20 ± 1,461	24.50 ± 1,334
<b>24. hafta</b>	14.23 ± 1,460	16.50 ± 1,033	24.86 ± 1,235

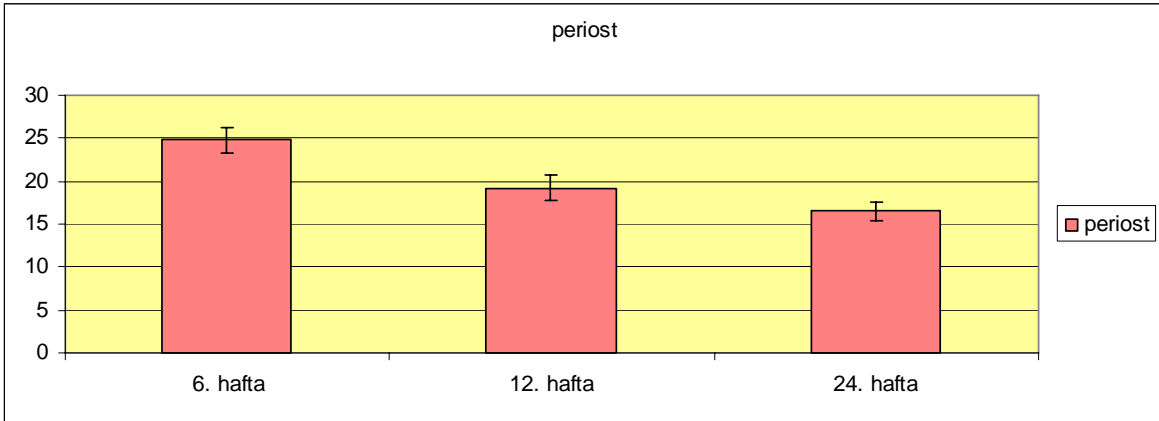
Grupların histolojik skorlamadan aldığı puanların aritmetik ortalamaları ve standart hata değerleri görülmektedir. ( Değerler aritmetik ortalama ve ± standart hata olarak verilmiştir.)

Pedüncüllü sinoviyal greft nakli yapılan tavşanlarda, Tablo 2'deki aritmetik ortalamalar ve standart hata değerleri incelendiğinde 12. ve 24. haftalarda kıkırdak iyileşmesi açısından bir fark olmadığı görülmektedir. 6. haftada sakrifiye edilen tavşanların kıkırdak iyileşmesi ile karşılaştırıldığında ise hem 12. hafta hemde 24. haftadaki kıkırdak iyileşmesinin daha üstün olduğu görülmektedir. (P<0.05) (Grafik 1).



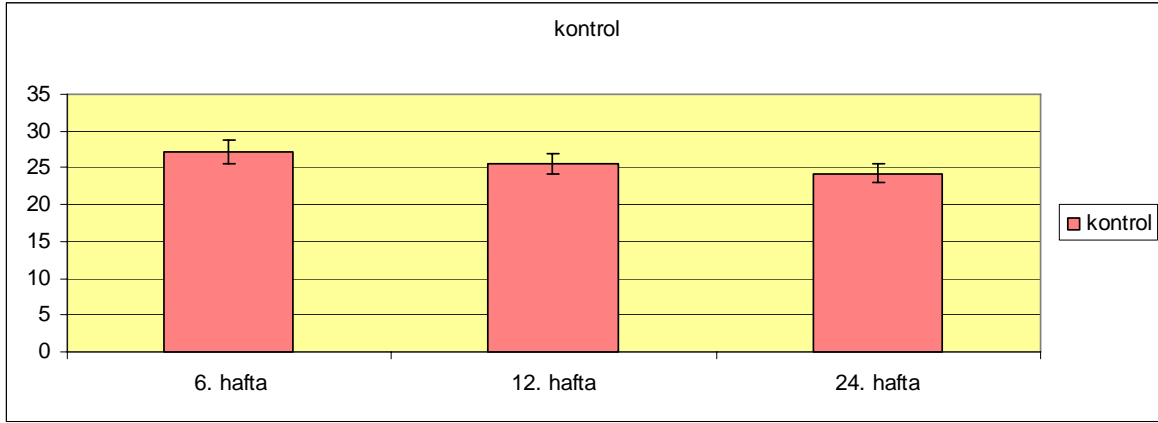
**Grafik 1:** Pedüncüllü sinoviya greft nakli; 12. ve 24. haftalarda iyileşme açısından belirgin bir fark yoktur, ancak her ikisi de 6. haftadaki iyileşmeden üstündür. ( Aritmetik ortalamadan puanları azaldıkça iyileşme o kadar artmaktadır.)

Periost greft nakli yapılan tavşanlardaki kıkırdak iyileşmesi de aynı şekilde değerlendirildi. 12. ve 24. haftalardaki kıkırdak iyileşmeleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı, ancak 6. haftaya göre kıkırdak iyileşmesinin daha iyi olduğu bulundu. ( $P < 0.05$ ) (Grafik 2)



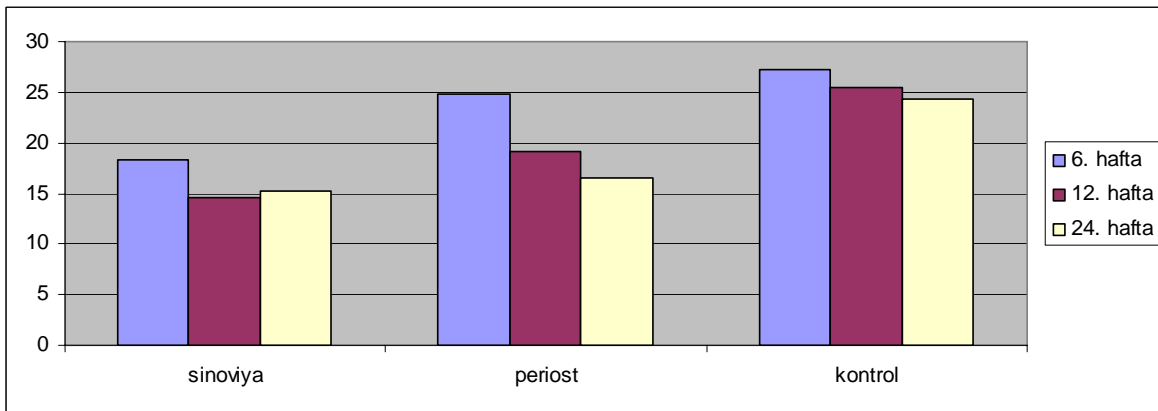
**Grafik 2 :** Periost greft nakli; 12. ve 24. hafatalarda kıkırdak iyileşmesi açısından bir fark yoktur, ancak 6. haftaya göre iyileşme daha iyidir.

Kontrol grubunda ise haftalara göre kıkırdak iyileşmeleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz olacaktır. (Grafik 3)



**Grafik 3 :** Kontrol grubu; 6. 12. ve 24. haftalar arasında kıkırdak iyileşmesi açısından bir fark yoktur.

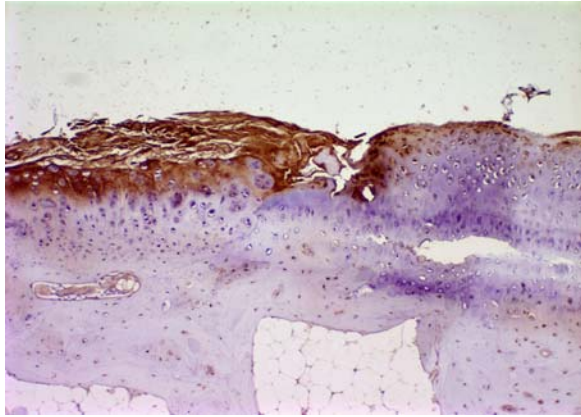
Her 3 grup birlikte değerlendirildiğinde, pedüncüllü sinoviya nakli yapılan tavşanlarda hem 6. hafta, hem de 12. ve 24. haftalarda, periost ve kontrol grubuna göre kıkırdak iyileşmesinin daha iyi olduğu görülmektedir. ( $P < 0.05$ ). Periost grefti nakli yapılan tavşanların ise sadece kontrol grubuna göre kıkırdak iyileşmesi daha iyidir. ( $P < 0.05$ ) (Grafik 4)



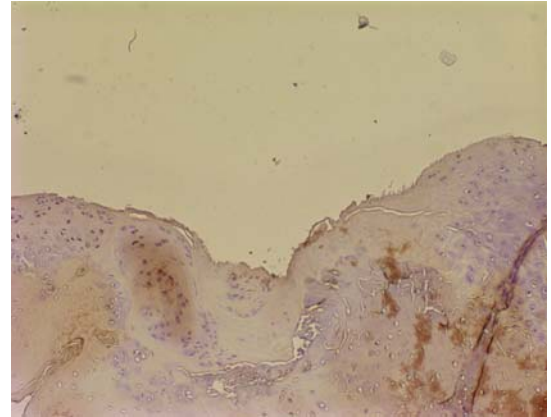
**Grafik 4:** Toplu sonuçlar; pedüncüllü sinoviya greft nakli yapılan tavşanlarda, hem 6. hafta, hem de 12. ve 24. haftalardaki kıkırdak iyileşmesi, periost greftinden ve kontrol grubundan üstündür.

#### 4.5 Kollajen II Boyaması Sonuçları

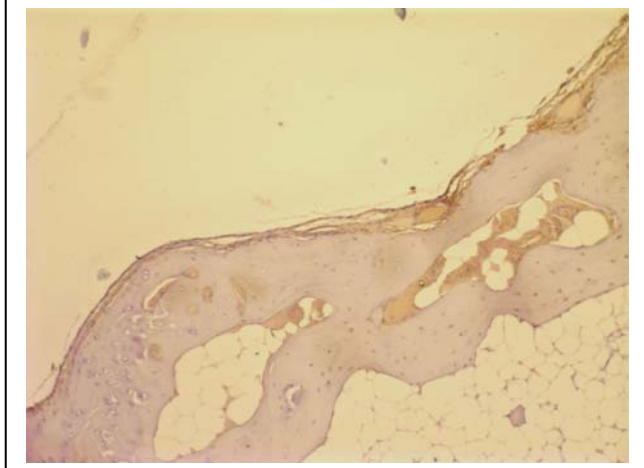
Resim 10'da her üç grubun 24. haftadaki immünohistokimyasal kollajen II boyanması sonrası preparatları görülmektedir. Pedüncüllü sinoviya greft nakli yapılan tavşanlarda, defekti dolduran tamir dokusunun, kollajen II boyası ile kuvvetli boyanma özelliği gösterdiği görülmektedir. (Resim 10a) Periost grubunda ise defekti dolduran kıkırdak dokunun orta düzeyde boyanma özelliği vardır. (Resim 10b) Kontrol grubunda ise defekti dolduran kıkırdak doku kollajen II boyası ile çok zayıf bir boyanma özelliği göstermektedir. (Resim 10c)



**Resim 10a:** Pedüncüllü sinoviya 24.hafta kollajen II boyaması; yeni oluşan kıkırdak doku kollajen II boyası ile kuvvetli boyanma özelliği gösteriyor.



**Resim 10b:** Periost grubu 24.hafta kollajen II boyaması; yeni oluşan kıkırdak doku kollajen II boyaması ile orta düzeyde boyanma özelliği



**Resim10c:** Kontrol grubu 24.hafta kollajen II boyaması; yeni oluşan kıkırdak doku kollajen II boyasını çok zayıf tutmuş.

Pedüncüllü sinoviya, periost ve kontrol gruplarının sakrifiye edildiği haftalara göre kollajen II boyanma özelliklerinin histolojik skorlaması ve histolojik skorlamadan aldıkları puanların istatistiksel analizi yapıldı. Grupların birbirlerinden farklarının önemli olup olmadığını anlamak için Kruskal Wallis testi, farklı ise hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için ise Dunn testi yapıldı. Sonuçta, her 3 grubun 12. ve 24. haftalarda onarım dokusundaki kollajen II miktarı, 6. haftaya göre daha fazla bulundu. ( $P<0.01$ ). Her 3 grup birbirleri ile karşılaştırıldığında ise, 6.haftada oluşan yeni kıkırdak dokusunda kollajen II miktarı açısından fark olmadığı görüldü. 12. ve 24. haftalarda ise pedüncüllü sinoviya grefti yapılan tavşanların kıkırdak iyileşmesindeki kollajen II miktarının, hem periost hem de kontrol grubundan fazla olduğu görüldü. ( $P<0.01$ )



## 5. TARTIŞMA

Günümüzde artan sportif uğraşlar ve uzayan insan yaşamı eklem kıkırdağının yaralanma riskini sürekli artırmaktadır. Ancak kıkırdak defektlerinin onarımı, gelişen tekniklere ve ortaya çıkan yeni olanaklara rağmen halen çözümlenmemiş bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Her yıl sadece diz eklemine kıkırdak lezyonlarına yönelik bir milyondan fazla cerrahi işlem yapılmaktadır. (50) Büyük defektlerde ve ileri osteoartrit gelişmiş olgularda total diz artroplastisi (TDA) endike iken, genç hastaların travmatik defektlerinde kıkırdak onarım teknikleri öne çıkmaktadır.(17)

Eklem kıkırdağının kendini tamir etme konusundaki kısıtlı kapasitesi nedeniyle, ağrıyı gidermek, fonksiyonları yeniden kazanmak ve hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak için bir takım teknikler denenmiş ve halen denenmektedir. Uygun tedavi yönteminin seçilmesinde lezyonun boyutu, derinliği, yerleşim yeri ve etiyolojik faktörler önemlidir. Üç mm'den küçük kıkırdak hasarlarının ise kendiliğinden kısmi veya tam olarak iyileşebildiği veya sessiz kaldığı bilinmektedir. (51) 6mm'lik tam kat osteokondral defektler medial femoral kondilin yük taşıyan kısmında ise spontan iyileşme olmaz ve progresif olarak defekt duvarlarında resorbsiyon, geniş kaviter lezyon oluşumu, çevre kıkırdak doku ve subkondral dokuda çökme ile seyrederek.(53) Aynı büyüklükteki bir lezyon yük taşımayan bir bölgede oluşmuş ise fibrokartilaj doku ile iyileşebildiği gösterilmiştir.(52)

Subkondral kemiğin delinerek yeni kıkırdak oluşumunun tetiklenmesi günümüzde halen en çok kullanılan yöntemdir.(3). İyileşme cevabının ortaya çıkması için, lezyon bölgesinde fibrin pıhtısı oluşması ve subkondral kemikte bulunan pluripotent mezenşimal hücrelerin tamir bölgesine ulaşması gereklidir. Bu nedenle tam kat olmayan ve subkondral kemiğe ulaşmayan kıkırdak yaralanmalarının pratik olarak iyileşme yeteneğinin olmadığı kabul edilir. Subkondral kemiğe ulaşarak iyileşme cevabının uyarılması için tarihsel sırası ile subkondral perforasyon, abrazyon artroplastisi ve son olarak mikro-kırık yöntemleri tariflenmiştir. (3, 24, 18) Ancak bu yöntemler ile oluşan fibröz kıkırdak, hyalin kıkırdağın

mikro-mimarisine sahip değildir ve kompresyon kuvvetlerine karşı direnci düşüktür. (20,21)

Mikro-kırık yöntemi için ideal lezyonlar, yük binme alanında lokalize, sınırları belirli, subkondral kemiğin açığa çıktığı tam kat kırıldak defektleridir.(26) Matkapla uygulanan subkondral perforasyon tekniğinin aksine termal nekroz olmaması, derinliğin kontrol edilebilmesi ve artroskopik uygulanabilmesi yönetemin önemli avantajlarıdır. Onarım yine fibröz kırıldak şeklinde olmasına rağmen, artroskopik olarak uygulanabilmesi ve düşük morbiditesi nedeniyle yaygın kullanım alanı bulmuş ve 2 cm'den küçük defektlerde ilk tercih edilecek yöntem (first line treatment) olarak kabul görmüştür. (25) Steadman ve ark., 72 hastadan oluşan serilerinde, 11,3 yıllık izlemde %80 başarılı klinik sonuç rapor etmişler ve 45 yaş altındaki hastaların sonuçlarının anlamlı şekilde daha iyi olduğunu saptamışlardır. (18) Knutsen ve ark., 80 hastalık serilerinde, 40 hastayı mikro-kırık yöntemi ile 40 hastayı da otolog kondrosit implantasyonu ile tedavi etmişler ve aynı rehabilitasyon programı sonrasında bir yıllık sonuçları karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada, mikro-kırık yöntemi ile tedavi edilen hastaların klinik sonuçları daha iyi bulunmuş, ancak histolojik değerlendirmede otolog kondrosit transplantasyonu yapılan hastalarda tamirin daha fazla hiyalin kırıldak benzeri olduğu gözlenmiştir.(54) Steadman da mikro-kırık sonrası kırıldak iyileşmesinin hibrid olduğunu, yani hem ağırlıklı olarak Tip I kollajenden oluşan fibrökartilaj doku, hem de Tip II kollajen içeren hiyalin kırıldaktan meydana geldiğini bildirmektedir.(18) Ancak iyileşme ağırlıklı olarak fibrökartilaj dokudan oluşur. Yıllar içinde yüklenmelere dayanamayarak dejenere olan bu doku yerine, daha dayanıklı hiyalin benzeri kırıldak oluşturma çabaları, bu sorunu ortadan kaldırmak amacıyla ortaya çıkmıştır.

Osteokondral otogreft kullanımı (mozaikplasti) hem güvenilir bir greft kaynağıdır hem de doku uyumsuzluğu problemi yoktur. Donör alanın kısıtlı olması nedeniyle en fazla 3 cm<sup>2</sup>'lik bir alana nakil yapılabilir ve 50 yaş üst sınır olarak kabul edilir.(55,56) Tekniğin özelliğinden dolayı, ne kadar yakın yerleştirilirse yerleştirilsin, defektin ancak % 70'i hiyalin kırıldak ile örtülebilir. Nakledilen greftler arasında kalan bölgeler fibröz kırıldak ile

iyileşir.(90,91) Yaygın olarak diz ekleminde uygulanan yöntem son zamanlarda ayak bileği ve diğer eklemlerde de başarı ile uygulanmaktadır. Literatürdeki en geniş seriyeye sahip olan Hangody ve ark., mozaikplasti yaptıkları 831 hastalık serilerinde, klinik, radyografik ve bazı olgularda ikincil artroskopi ile yaptıkları değerlendirmeler ile femoral kondilde %92, tibial eklem yüzünde %87, patellar eklem yüzünde %79, talusta ise %94 iyi sonuç elde etmişlerdir.(55) Yine Hangody'nin bir başka çalışmasında artroskopik perforasyon, mikrokirik ve mozaikplasti karşılaştırılmış ve en iyi sonuçlar mozaikplasti yönteminde elde edilmiştir. (56) Mozaikplasti yönteminin en önemli avantajı, normal mikro-mimaride hiyalin kıkırdağın tek evreli bir cerrahi ile defekt bölgesine taşınmasıdır. Artroskopik ya da açık tekniklerle yapılabilir. Tekniğin en önemli sorunu verici saha morbiditesidir. Göreceli olarak daha az yük taşıdığı düşünülen bölgeden greft alınarak orada başka bir kıkırdak defekti yaratılmaktadır. Bu verici saha ya fibröz doku ya da fibröz kıkırdak ile iyileşmektedir. Böyle bir dokunun, yük taşıyor olsa bile eklem uzun dönem homeostazisini ne şekilde etkilediği bilinmemektedir. Karşı dizden greft alınmadığı ve greftler seyrek olarak yerleştirilmediği takdirde, onarım yapılabilecek defekt boyutu 3 cm<sup>2</sup> ile sınırlıdır. Oysa, pedünküllü sinovya greftlerinde böyle bir sorun yoktur.

Eklem yüzeyindeki büyük defektlerin(>3cm) kapatılmasında osteokondral allogreftler kullanılmıştır. Allogreftler, istenilen boyut ve şekilde elde edilebilir. Dimetil sülfoksit veya gliserol kullanılarak kıkırdak canlılığı korunmaya çalışılan osteokondral allogreftler dondurularak bir süre saklanabilir. Dondurma işlemi greftin immünojenitesini azaltırken hastalık taşınmasını önlemek için gerekli testler ve uygun boyutta alıcının bulunması için de zaman kazandırır.(29) İmplantasyon için çözüldüklerinde, bu greftlerdeki kondrositlerin %33'ünün canlı kalabildiği gösterilmiştir. (29,30) Mahomed ve ark., osteokondritis dissekans veya travmatik kondral lezyonu olan 123 hastayı osteokondral allogreft ile tedavi etmişler ve 5. yılda %95, 10. yılda %75, 20. yılda %66 başarılı sonuçlar rapor etmişlerdir. Uzun süreli izlemde başarı oranlarının düşmesini ekstremitte dizilim bozukluğu, ileri yaş ve allogreftlerin uzun dönemde biyomekanik dayanıklılığının azalmasına bağlamışlardır.(28) Avasküler ve alenfatik olan eklem kıkırdağı, rejeksiyon oluşmaması yönünden avantajlıdır. Ancak yine de bu greftlerde

kondral ve osseöz dokunun integrasyonu, immünojenitesi, ekonomik boyutu ve uzun dönem biyomekanik dayanıklılığı konusundaki sorunlar çözülmemiştir.(31) Dolayısıyla osteokondral allogreftler ile eksiklik giderilmeye çalışılsa da istenilen başarı elde edilememiştir. (16)

Kondrojenik potansiyeli olan periost grefti, kıkırdak defektlerinin onarımında hem deneysel hem de klinik uygulamalarda kullanım alanı bulmuştur. Klinik ve deneysel çalışmalar, kıkırdak defektlerine yerleştirilen periostal ve perikondral greftlerdeki pluripotent mezenşimal hücrelerin sinovyal ortamda kıkırdak hücrelerine farklılaşabildiğini göstermiştir. Oluşan bu dokunun makroskopik, mikroskopik ve biyokimyasal olarak hiyalin kıkırdak görüntüsünde olduğu bildirilmiştir.(57). O'Driscoll ve ark., matür tavşanlarda yapılan periost greft naklinin, genç tavşanlarda yapılan periost greft nakline göre kalitesinin daha kötü olduğunu bildirmişlerdir. Bu deneysel modelde periostun kondrojenik potansiyelinin yaşla birlikte azaldığını; hücre çoğalmasının, matriks sentezinin ve kollajen II sentezinin azaldığını göstererek ortaya koymuşlardır. (58) Aynı araştırmacı daha sonra oluşturduğu deneysel çalışma ile ilerlemiş yaşla birlikte periostun kondrojenik etkisinin azaldığını, bu yüzden genç hastalara tek başına periost greft nakli yapılabileceğini, ileri yaşlarda ise periost naklinin kondrosit nakli ile kombine edilmesi gerektiğini vurgulamıştır.(36,59) Tavşanlarda ortalama yaşam süresi 5-6 yıldır. Bizim çalışmamızda 1 ile 4 yaş arasında tavşanlar kullanılmıştır. Dolayısıyla periostun kondrojenik potansiyeli daha yaşlı tavşanlarda azalmış ve bu nedenle kıkırdağa dönüşme potansiyeli azalmış olabilir. Aynı varsayım pedünküllü sinoviya içinde geçerli olabilir, ancak sinoviyal dokunun yaşla birlikte kondrojenik potansiyelinin azalacağına dair bir çalışma henüz yoktur.

Hoikka ve ark., patellar kondral lezyonu olan 13 hastayı periostal greft nakli ile tedavi etmişler ve 4 yıllık takip sonunda 8 hastada iyi , 4 hastada orta ve 1 hastada kötü klinik sonuç elde etmişlerdir.(60) Alfredson ve ark., travmatik ÖÇB rüptürü ve kondral lezyonu olan hasta serilerinde, ÖÇB rekonstrüksiyonu ile birlikte periostal artroplasti uygulamışlar ve 36 aylık gözlem sonunda klinik olarak bir hastada mükemmel, 5 hastada

iyi ve bir hastada da kötü sonuç rapor etmişlerdir.(41) Periostal transplant konusunda en uzun süreli takip sonuçları Madsen ve arkadaşlarına aittir. (42) Yazarlar, yaş ortalaması 19 olan 18 osteokondritis dissekanslı hastaya periostal greft uygulamışlar ve bunlardan 14 tanesini 8 yıl sonunda tekrar değerlendirmişlerdir. Sonuçta 5 hastada tamir bölgesinde ekzositoz ve hipertrofi, 2 hastada sinovit, 1 hastada serbest cisim ve 1 hastada da patellar kondromalazi saptanmış ve ikincil cerrahiler gerekli olmuştur. (42)

Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar, periost greftinin bir miktar kondrojenik potansiyelinin olduğunu göstermektedir. Periost greft nakli yapılan tavşanlarda, defekt alanı hiyalin benzeri kıkırdak doku ile iyileşmişti. Ancak defekt alanını dolduran bu kıkırdak dokunun hücre morfolojisi incelendiğinde, yuvarlak şekilli kondrosit hücreleri ile birlikte fibroblastların da var olduğu ve orijinal eklem kıkırdağına integrasyonunun zayıf olduğu saptandı. Defekt alanı tamir dokusu ile tam olarak dolmamıştı ve yüzey yapısı düzensizdi. Kollajen II boyaması ile orta düzeyde boya tuttuğu, dolayısıyla da kollajen II miktarının az olduğu görüldü. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kıkırdak tamiri daha üstündü ancak tamir dokusunun içeriği ve kalitesinin iyi olmadığı görüldü. Pedünküllü sinoviya greft nakli yapılan tavşanlarda, defekt alanını dolduran tamir dokusundaki hücrelerin büyük kısmının yuvarlak şekilli kondrositler olduğu, defektin tamir dokusuyla tam olarak dolduğu ve yüzey yapısında düzgün olduğu görüldü.

Eklem kıkırdağının %90-95'i Tip II kollajenden oluşmaktadır. Bu kollajen ağı proteoglikanları sararak dokunun bütünlüğünü sağlar ve tensil gücünü verir.(2) Dolayısıyla iyileşen yeni kıkırdak dokuda kollajen II miktarı ne kadar fazla ise biyomekanik gücü o kadar fazladır ve orijinal eklem kıkırdağına o kadar yakın oranda iyileşme sağlanmıştır. Yine bizim çalışmamızda pedünküllü sinoviya greft nakli yapılarak oluşturulan yeni kıkırdak dokuda, Tip II kollajen miktarı daha fazla bulunmuştur. Sinoviyal doku greftinin bir diğer üstünlüğü ise pedünküllü olması yani damarlanmasının korunarak nakledilme şansının olmasıdır. Periost grefti ise sadece serbest flep olarak nakledilebilir.

1980 ve 90'lı yıllarda İskandinav ülkelerinde kullanılan periost greftlerinin erken dönem sonuçları umut verici olmasına rağmen, yüksek morbiditesi, komplikasyonları, zaman içinde ossifiye olması ve sık ikincil cerrahi gerektirmesi nedeniyle bu greftlerin kullanılması konusunda endişeler vardır. Günümüzde periostal greft nakli, mikro kırık veya mozaikplasti gibi tedavi yöntemlerinin başarısız olduğu veya yetersiz kaldığı olgularda, otolog kondrosit transplantasyonu imkanı yok ise kullanılabilen bir yöntem olarak düşünülmelidir. (61,33)

Büyük kırıkta defektlerinin onarımında 90'lı yıllardan beri uygulanan başka bir teknik otolog kondrosit transplantasyonudur (OKT). Yöntemin en önemli avantajı, defekt boyutu sınırlaması olmadan, immün yanıtı açmayacak şekilde hastanın kendi kondrositlerinin nakledilmesidir. Ekleme nakledilen süspansiyon halindeki kırıkta hücrelerinin defekt içinde kalmasını sağlamak için, bir periost kapağı defektin üzerine dikilir ve çevresi fibrin yapıştırıcı ile su geçirmez hale getirilir. (34) Bu da osteokondritis dissekans gibi bir kenarı iyi sınırlı olmayan defektlerde sorun yaratabilir. Yöntemin diğer dezavantajları ise teknik olarak zor olması, biri açık iki cerrahi işlem gerektirmesi, pahalı olması ve dünyada çoğu sosyal güvenlik kuruluşunun bedelini ödememesidir. Kimyasal ve enzimatik yöntemlerle bölünmesi önündeki engeller kaldırılan kondrositler, bazı olgularda ekleme yerleştirildikten sonra da bölünmeye devam etmekte ve hipertrofi ve delminasyon gibi sorunlar ortaya çıkabilmektedir.(34) Uzun takiplerde malign transformasyon şimdiye kadar bildirilmemiştir olsa, bu risk akıldan çıkartılmamalıdır. Peterson ve ark., kondral lezyonu olan ve OKT sonrası 2-9 yıl takip edilen 101 olguyu klinik skorlar, ikincil artroskopide defekt doluluk oranlarına ve yüzey sertliğine bakarak değerlendirmişlerdir. İzole femoral kondil lezyonu olan hastalarda %92, çoklu lezyonları olanlarda %66, osteokondritis dissekanslı olgularda %89, ÖÇB rekonstrüksiyonu ile birlikte otolog kondrosit implantasyonu yapılanlarda ise %75 başarılı klinik sonuç rapor etmişlerdir. İkincil artroskopide ise 53 hastada defekt doluluğu ve integrasyonunun iyi ve sertlik düzeyinin yeterli olduğunu saptamışlardır.(62) Peterson ve ark. Başka bir çalışmada ortalama defekt boyu 5,7 cm olan 58 olgulu bir osteokondritis dissekans serisinde 2-10 yıl izlemde % 90'ın üzerinde başarılı sonuç bildirmişlerdir. (63)

Deneysel modellerde tek başına periostal greft nakli ile defektin sadece %31'i dolarken, periostal greft ile kondrosit enjeksiyonu kombine edildiğinde defekt alanının %87'sinin dolduğu görülmüştür.(64) Bunu destekleyen klinik araştırmalarda da sadece periost grefti uygulanan hastalara göre, otolog kondrosit transplantasyonu uygulanan hastalarda daha iyi sonuçlar bulunmuştur. (33). Tam aksine Breinan ve ark., ise köpek modelinde periostal greft ile otolog kondrosit enjeksiyonunun kombine edildiği grup ile tek başına periostal greft nakli yapılan grup arasında 12-18 ay sonra yapılan incelemede bir fark olmadığı göstermişlerdir.(65) Bu da diğer araştırmacılar tarafından defektler oluşturulurken kondrositlerin subkondral kemiğe penetre olduğu şeklinde yorumlanmıştır. (34) . Teknik zorluklar ve maliyet, otolog kondrosit transplantasyonunda en önemli sorunlar olarak görülmektedir. Pedünküllü sinovyal flep uygulamasının en önemli avantajları, herhangi bir ek maliyetinin olmaması ve teknik olarak kolay olmasıdır.

Literatürde OKT ve mozaikplasti'nin karşılaştırıldığı çalışmalar farklı sonuçlar vermiştir. Bentley ve ark., semptomatik kıkırdak lezyonu olan 100 hastanın 58'ine OKT, 42'sine ise mozaikplasti yaparak 19 aylık klinik sonuçları karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada, otolog kondrosit transplantasyonunun sonuçları daha üstün bulunmuş, OKT yapılan hastaların %88'inde, mozaikplasti yapılan hastaların ise %69'unda klinik başarılı sonuç elde edilmiştir.(66) Tam tersine, 20 OKT ve 20 mozaikplasti hastasını prospektif randomize bir çalışmada karşılaştıran Horas ve ark., mozaikplasti yapılan olguların klinik iyileşmelerinin daha iyi olduğunu bulmuşlardır. Bu konuda son sözün henüz söylenmediği açıktır.(67)

Otolog kondrosit transplantasyonunda ikinci jenerasyon teknoloji matriks temelli kondrosit transplantasyonudur. Burada kondrositler şekil verilebilen bir matriks üzerinde üretilir ve nakledilirler. Böylece, birinci jenerasyon kıkırdak naklinde görülen teknik sorunların önüne geçilmiştir. Kollajen, hyaluronan, barsak mukozası gibi birçok teknik halen araştırılmaktadır. Klinik sonuçları yayınlanmış olan tekniklerden birisi MACİ (matrix-induced autologous chondrocyte transplantation)dir. Bu teknikte, kondrositler iki

tabakalı, yarı geçirgen bir kollajen matiks üzerine ekilir. Bartlett ve ark., kondral lezyonu olan 91 hastalık serilerinde, OKT ve MACİ tekniklerini karşılaştırmışlar ve bir yıllık takip sonrası, hastaların artroskopik ve klinik skorlamalarını değerlendirmişlerdir. OKT yapılan hastaların %79'unda ve MACİ yapılan hastalarında %66'sında klinik başarılı sonuç elde eden yazarlar; artroskopik biyopsi sonucunda ise OKT yapılan hastaların %43.9'unda MACİ yapılan hastaların %36.4'ünde hiyalin benzeri kıkırdak doku ile iyileşme olduğunu görmüşlerdir. Sonuçta MACİ'nin daha cazip bir teknik olmasına rağmen, daha uzun dönem sonuçlarının görülmesi gerektiğini sonucuna varmışlardır.(68)

Kondral ve osteokondral kayıplarda, dokunun kendini yenileme yeteneğinin sınırlı olması araştırmacıları hücreleri hasarlı veya kayıp bölgeye uygulama ve barındırma yollarını aramaya itmiştir. Kıkırdak doku mühendisliği bu sorunu çözmek için ortaya çıkmış bir alandır. Eklem kıkırdağı mekanik özelliklerini ekstraselüler ağdan almaktadır. Bu nedenle oluşturulan sentetik ve yapay ağların orijinal eklem kıkırdak ağını taklit etmesi gerekir. Geleneksel olarak doku mühendisliğinde hem yüzeysel hem de osteokondral defektlerin tamirinde içerik olarak homojen çatı implantları (scaffold) kullanılmaktadır. Bu çatıların sağlıklı ve rejenere kıkırdak oluşturmaması nedeniyle, biyoabsorbsiyon özelliği olan, düşük immünojeniteye sahip, toksik olmayan, defekt alanına iyi tutunabilen ve yeterli mekanik dayanıklılığa sahip çatılar araştırılmaya başlanmıştır. (69,70) Bu çalışmalar içinde en dikkat çekici olanları ayrı olarak osseöz ve kıkırdak yapı içeren multifaz kompartmantal çatı implantlarıdır. (71-74) Bu skafoldlar hem kemik hem de kıkırdak rejenerasyonunun gerekliliğini göstermiş ve iki prosesin birlikte çalışması ile sağlıklı kıkırdak oluşabileceğini göstermiştir. Taşıyıcı matiks olarak kollajen çatı implantları, sentetik polimerler, hyaluronat gibi birçok maddeler denenmiştir ve halen denenmektedir. (37) En son yapılan çalışmalarda yeni materyal geliştirmek yerine mevcut materyallerin kombinasyonu ile en iyiyi bulmayı amaçlayan çalışmalardır. (37) Doku mühendisliği çatısı altında toplanan bu deneysel çalışmaların da yüksek maliyet, birden fazla cerrahi, özel merkezlerin gerekliliği gibi birçok dezavantajı bulunmaktadır. (64,75)



Sinoviyal hücreler ile kıkırdak doku hücrelerinin aynı öncülden geldiği düşüncesi ve hem fetal hem de erişkin yaşamda aynı mikro çevrede benzer görevleri yerine getiren hücreler olmaları nedeniyle sinoviyanın kondrojenik potansiyeli olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca klinik olarak etiyojisi bilinmeyen sinoviyal kondromatoziste oluşan çoklu nodüllerin, sinoviyal hücrelerin reaktif metaplazisi sonucu oluştuğunun düşünülmüştür(43), yine romatoid pannus içinde kondrosit benzeri hücreler tespit edilmesi (44,45) sinoviyanın bu potansiyelini doğrulamaktadır. Sinoviyal sıvıda Prolaktin Hormonu (PRH) ve Prolaktin Hormon reseptörlerinin tespiti de, sinoviyal dokunun kıkırdak doku metabolizması üzerine etkinliğini gösteren güçlü kanıtlardan biridir. (48) PRH'nun hücre proliferasyonunu ve Tip II kollajen üretimini artırdığı gösterilmiştir. Histomorfolojik analizlerde PRH'nın proteoglikan ve glukokortikoid kombinasyonunu artırdığı ve bunun da kıkırdak doku yapısının uzunlamasına kolonlar şeklinde dizilimini sağladığı bildirilmektedir. (48) Bütün bu araştırmalar sinoviyal dokunun kıkırdak metabolizmasında önemli görevler üstlendiğinin bir göstergesidir. Bizim çalışmamız, kondrojenik potansiyeli olan sinoviyal dokunun, kıkırdak iyileşmesi üzerine direkt etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmadır. Elde ettiğimiz histolojik sonuçlar, sinovyal dokunun kondrojenik potansiyelinin periost grefti ve kontrol grubundan daha üstün olduğunu göstermektedir.

Kondrositler tarafından üretilen sayısız büyüme faktörü ve sinoviyadan kaynaklanan parakrin faktörlerin kıkırdak metabolizması üzerine önemli etkileri bulunmaktadır. TGF- $\beta$  eklem kıkırdağı için önemli faktörlerden bir tanesidir. TGF- $\beta$ 'nin kollajen ve proteoglikan sentezini artırdığı, matriks yıkımını ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. (5) IGF-1'de eklem kondrositleri tarafından üretilmekte ve hem kollajen hem de proteoglikan sentezini artırdığı bilinmektedir. (6) Longobardi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, TGF- $\beta$  reseptörleri kademeli olarak bloke edilerek IGF-1'in kondroindüktif etkisi değerlendirilmiş ve IGF-1'in kök hücre kondrogenesisinde proliferasyonu artırdığı, apoptozisi regüle ettiği ve hücre içi kıkırdak marker oluşumlarını artırdığı gösterilmiştir. (76) TGF- $\beta$  ve IGF-1'in çalışma mekanizmalarının bağımsız olduğu ancak birlikte kullanıldıklarında da birbirinin etkinliğini artırdığı gözlemlenmiştir.(76) Benzer şekilde BMP2 ve BMP7'nin de proteoglikan sentezini artırdıkları ve eklem kıkırdağı fenotipinin

devamını sağladıkları bildirilmiştir.(7) Eklem kıkırdağında önemli anabolik etkilere sahip bu faktörlerin, eklem kıkırdağı defektlerinde diğer tedavi yöntemleri ile birlikte kullanımı güncelliğini korumaktadır ve bu lokal faktörlerin etki mekanizması, nasıl sentezlendiği ve mikro çevredeki davranış şekilleri moleküler düzeyde araştırılmış ve hala üzerinde en çok çalışılan konulardan biridir. (77, 78, 6, 79, 5, 7) . Ancak bu rekombinan proteinlerin elde edilmelerindeki zorluklar ve maliyetlerinin yüksek olması en önemli dezavantajlarıdır.

Nishumura ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada eklemlerin değişik bölgelerinden alınan sinoviyal doku agenez içine gömülmüş ve TGF- $\beta$  ile kültüre edilerek kıkırdak doku oluştuğu gösterilmiştir.(47). Bu çalışma, sinoviyal dokudaki kondroprogenitör hücrelerin farklılaşma potansiyelinin tespit edildiği kaynak bir çalışmadır. Bizim çalışmamız ise kıkırdak doku defektlerinde, sinoviyal dokunun onarım potansiyelini gösteren kaynak bir çalışmadır. Kıkırdak defektini dolduran onarım dokusu orijinal eklem kıkırdağı ile tamamen aynı özellikleri göstermiyor olsa da, bu doku fibröz yapıda olmayıp, içerdiği hücreler ve dizilimi, ağ özellikleri ve kollajen II miktarı ile hiyalin eklem kıkırdağına benzemektedir.

Kıkırdak onarımının nasıl değerlendirileceği başka bir araştırma alanıdır. Bu değerlendirme histopatolojik olarak, mekanik gücü ölçen problemler ile veya manyetik rezonans görüntüleme ile yapılabilir. Sübjektif histopatolojik değerlendirmeyi daha objektif ve tekrarlanabilir hale getirmek için çeşitli skorlama sistemleri geliştirilmiştir. Pineda (80), ve Wakitani (81), bu konuda öncülük yaparak, yarı kantitatif birer skorlama sistemi sunmuşlardır. Çalışmamızda kullanılan skorlama sistemi ise Sellers ve ark.'nın (49) Wakitani'nin histolojik skorlama sistemine (81) iki kategori daha ekleyerek modifiye ettikleri skorlama sistemidir. (Tablo 1). Bu iki kategori, defektin yapısı ve eklem yüzeyine göre defektin tamir dokusu ile doluluk oranlarıdır. Ayrıca diğer kategorileri de daha ayrıntılı irdeleyip puanlamışlar, böylelikle birbirine yakın iyileşme skorları olan tedavi yöntemleri arasındaki küçük farkları da anlayabilme şansı ortaya çıkmıştır. Sonuçta bir histolojik skorlamada amaç; gözlemciler arasında değişkenliği azaltan, tamir dokusundaki küçük değişiklikleri ayırd edebilen ve standardize çalışmalar arasındaki karşılaştırmayı yapabilen

bir sistem olmasıdır. İşte bu sorulara cevap verebilen bir sistem olması nedeniyle bizim çalışmamızda Sellers ve ark.'nın yapmış olduğu histopatolojik skorlama sistemi tercih edilmiştir.

Pedüncüllü sinoviyal greft naklinin ilk deneysel modelini oluşturduğumuz (1) daha önceki çalışmamızda, pedüncüllü sinoviya histopatolojik olarak kontrol grubu ile karşılaştırılmıştı. Bu çalışmada; 6. haftada pedüncüllü sinoviya grubunda defektin kısmen ve immatür kıkırdak doku ile dolduğu, kontrol grubunda ise kısmen fibröz doku ile dolduğu görülmüştü. 12. haftada ise pedüncüllü sinoviya grubunda defektin kıkırdak doku ile dolduğu ancak düzgün bir yüzey oluşturmadığını, kontrol grubunda ise defektin büyük kısmının fibröz doku ile dolduğu görülmüştü. 24. haftada ise pedüncüllü sinoviya grubunda defektin tamamının hiyalin benzeri kıkırdak doku ile dolduğu, kontrol grubunda ise defektin fibröz doku ile dolduğu saptanmıştı. Benzer histopatolojik sonuçlar bu tezi oluşturan çalışmada da elde edilerek doğrulanmış ve tekrarlanabilirliği gösterilmiştir.

MRG kıkırdak lezyonlarının tanısında, kıkırdak dejenerasyonunun değerlendirilmesinde ve tedaviye karar vermede yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak tam kat olmayan kıkırdak lezyonlarının tanısında MRG'nin güvenilirliği, dizdeki diğer yapılar kadar yüksek değildir. Kıkırdak onarımı yapılan olgularda, tamir kalitesi ve miktarının da değerlendirilmesi açısından non-invaziv bir yöntem olarak MRG kullanılabilir. MRG'de onarım dokusunun sinyal intensitesi, kalınlığı, konturu, çevredeki sağlam kıkırdak ile ilişkisi ve subkondral kemikteki ödeme bakılarak iyileşme hakkında bir fikir elde edilebilir. Normal kıkırdak dokusunda kollajen lifleri yüzeysel bölgede tanjansiyel oryantasyonda, derin bölgede ise dik kolonlar şeklinde seyreder. Bu dizilim MRG'de T2 sekanslarda görülebilir. (82) Fakat T2 sekansların kollajen dışında GAG miktarından, diğer moleküler yapılardan etkilenmesi ve yaşla birlikte fokal defektlerin oluşması daha ileri moleküler tekniklerin gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu çalışmalardan bir tanesi de Bashir ve ark. tarafından tarif edilen dGEMRİC (Delayed Gadolinium Enhanced MRI of Cartilage) tekniğidir. (83). dGEMRİC tekniği kıkırdak dokudaki Glikozaminglikanların (GAG) biyokimyasal ve histolojik olarak değerlendirilebildiği bir yöntemdir. (83,84) GAG'ların

miktarı ve doku içindeki dağılımını göstererek, tamir dokusunun kalitesi ve uzun dönemdeki değişimleri konusun da bilgi verir. Bu yöntemin kullanılabilirliği konusunda pilot çalışmalar yapılmıştır. Gillis ve ark., OKT yapılan hastaların erken ve geç dönemde dGEMRİC indekslerine bakarak tamir kalitesini değerlendirmişlerdir. İlk yılda çekilen MRG'de defektin tamir dokusu ile dolduğu ama dGEMRİC indeksinin düşük olduğu yani GAG miktarının az olduğu görülmüş, 18. ayda ise dGEMRİC indeksinin çevre kıkırdak dokuya yakın bir seviyeye geldiği saptanmıştır. (85)

Günümüzde kıkırdak onarımını değerlendirerek için kullanılan non invaziv yöntemler, oluşan yeni dokunun biyomekanik özellikleri hakkında fikir vermez. Mekanik sağlamlığı objektif olarak ölçmek amacıyla çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Lyrra ve ark., kıkırdak dokunun sertliğini (stiffness) objektif olarak ölçen bir prob geliştirmiştir.(86) Daha sonraki yıllarda, bu konuda gerek in vitro, gerek in vivo çalışmalar yapılmıştır ve halen tekniğin geliştirilmesi devam etmektedir. (87,88)

Laasenve ve ark., mekano-akustik prob ile kıkırdak iyileşmesinin sayısal değerlendirmesini rapor etmişlerdir.(89) Bunun için B-mode bir ultrasonografi (USG) cihazı ve bu cihaza uygun 20 mHz artroskopik USG probu olması gereklidir. Bu yöntemle normal kıkırdak doku ile tamir bölgesindeki kıkırdak doku karşılaştırılarak dinamik bir modülüs elde edilir. Elde edilen bu sayısal objektif değerler ile tamir dokusunun, etrafını çevreleyen normal kıkırdak dokuya ne kadar benzediği bulunabilir. Ayrıca bu yöntemle kıkırdak dokunun hem yüzeysel hemde derin kısımları değerlendirilebilir. Yakın bir zamanda tarif edilen tekniğin kullanılabilirliği ve avantajlarının ortaya çıkması için hem deneysel hem de klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tavşan modelinde oluşturulan travmatik kıkırdak defektlerinde, sinovyal dokunun kondrojenik potansiyeli olduğu bu çalışmada gösterilmiştir. Oluşan onarım dokusu hiyalin benzeri bir kıkırdaktır ve histopatolojik olarak periost grefti ve kontrol grubundan üstündür. Sinovyal greftin pedünküllü olarak nakledilmesi, damarlanma ve hücre canlılığının korunması açısından önemlidir. Bu çalışma, yöntemin insanlarda uygulanabilirliği konusunda bilimsel bir zemin hazırlamaktadır. Bundan sonraki süreçte, pedünküllü sinoviya grefti ile birlikte kıkırdak iyileşmesini artırıcı faktör ve sitokinlerin kullanılması, oluşan kıkırdak dokusunun dayanıklılığının ölçülmesi, biyoteknolojik olarak elde edilmiş ve kültüre edilmiş kondrositlerin kombine edilmesi gibi farklı seçenekler ile orijinal kıkırdağa daha yakın iyileşme elde etme potansiyeli araştırılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

- 1- Tuncay IC, Ozdemir BH, Demirors H, Karaeminogullari O, Tandogan NR. Pedunculated synovium grafts in articular cartilage defects in rabbits. *J Invest Surg* 18(3):115-22, 2005.
- 2- Ulrich-Vinther M, Maloney MD, Schwarz EM, Rosier R, O'Keefe RJ. Articular cartilage biology. *J Am Acad Orthop Surg* 11(6):421-30, 2003.
- 3- Bucwalter JA, Mankin HJ, Articular Cartilage Part I: Degeneration and osteoarthrosis, repair, regeneration and transplantation. *J Bone J Surg*, 79-A:612-632, 1997
- 4- Kiani C, Chen L, Wu YJ, Yee AJ, Yang BB. Structure and function of aggrecan. *Cell Res.* 12(1):19-32, 2002.
- 5- Trippel SB. Growth factor actions on articular cartilage. *J Rheumatol Suppl.* 43:129-32, 1995
- 6- Bonassar LJ, Grodzinsky AJ, Frank EH, Davila SG, Bhaktav NR, Trippel SB. The effect of dynamic compression on the response of articular cartilage to insulin-like growth factor-I. *J Orthop Res.* 19(1):11-7, 2001.
- 7- Sailor LZ, Hewick RM, Morris EA. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 maintains the articular chondrocyte phenotype in long-term culture. *J Orthop Res.* 14(6):937-45, 1996.
- 8- D'Lima DD, Hashimoto S, Chen PC, Colwell CW Jr, Lotz MK. Impact of mechanical trauma on matrix and cells. *Clin Orthop Relat Res.* (391 Suppl):S90-9. 2001
- 9- Lotz M. Cytokines in cartilage injury and repair. *Clin Orthop Relat Res.* Oct;(391 Suppl):S108-15. 2001.
- 10- Nehrer S, Spector M, Minas T. Histologic analysis of tissue after failed cartilage repair procedures. *Clin Orthop Relat Res.* (365):149-62, 1999.
- 11- Johnstone B, Yoo J. Bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells. *Methods Mol Biol.* 137:313-5, 2000.
- 12- Rodrigo JJ: New techniques of cartilage healing and cartilage grafting. *Sports Medicine and Arthroscopy Review.* 6:131,1998.

- 13- Salter RB, Simmonds DF, Malcolm BW, Rumble EJ, MacMichael D, Clements ND. The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg Am.* 1980 Dec;62(8):1232-51.
- 14- Rodrigo JJ, Steadman JR, Silliman JE, Fulstone AH: Improvement of full thickness chondral defect healing in the human knee after debridement and microfracture using continuous passive motion. *Am J Knee Surg* 4:109, 1994.
- 15- Hangody L, Kish G, Karpati Z, Udvarhelyi I, Szigeti I, Bely M. Mosaicplasty for the treatment of articular cartilage defects: application in clinical practice. *Orthopedics.* 21(7):751-6, 1998.
- 16- Garrett JC : Osteochondral allografts for reconstruction of articular defects. Operative Arthroscopy , 2<sup>nd</sup> ed, Ed . McGinty JB, Caspari RB , Jackson RW , Poehling GG, Lippincott Raven, Philadelphia 1996 , s.395
- 17- Chen FS, Frenkel SR, Di Cesare PE. Repair of articular cartilage defects: part II. Treatment options. *Am J Orthop.* 28(2):88-96, 1999.
- 18- 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(5):477-84, 2003.
- 19- 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.* 6;331(14):889-95, 1994
- 20- Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am.* 75(4):532-53, 1993.
- 21- Altman RD, Kates J, Chun LE, Dean DD, Eyre D. Preliminary observations of chondral abrasion in a canine model. *Ann Rheum Dis.* 51(9):1056-62, 1992.
- 22- Insall JN. Intra-articular surgery for degenerative arthritis of the knee. A report of the work of the late K. H. Pridie. *J Bone Joint Surg Br.* 1967 May;49(2):211-28.
- 23- Pridie KW. A method of resurfacing osteoarthritic knee joint. *J Bone Joint Surg.* 41B 618-619, 1959

- 24- Johnson LL. Arthroscopic abrasion arthroplasty: a review. *Clin Orthop Relat Res.* Oct;(391 Suppl):S306-17, 2001.
- 25- Steadman JR, Rodkey WG, Briggs KK. Microfracture chondroplasty: indications, techniques and outcomes. *Sports Medicine and Arthroscopy Review* 11(4):236-244, 2003.
- 26- Blevins FT, Steadman JR, Rodrigo JJ, Silliman J. Treatment of articular cartilage defects in athletes: an analysis of functional outcome and lesion appearance. *Orthopedics.* 1998 21(7):761-7, 1998.
- 27- Hand JC, Lobo JJA, White LM, Miniaci A. Osteochondral Autograft Resurfacing. *Sports Medicine and Arthroscopy Review* 11(4):245-263, 2003.
- 28- Mahomed MN, Beaver RJ, Gross AE. The long-term success of fresh, small fragment osteochondral allografts used for intraarticular post-traumatic defects in the knee joint. *Orthopedics.* 15(10):1191-9, 1992.
- 29- Pennock AT, Robertson CM, Wagner F, Harwood FL, Bugbee WD, Amiel D. Does subchondral bone affect the fate of osteochondral allografts during storage? *Am J Sports Med.* 34(4):586-91. 2006.
- 30- Jamali AA, Emmerson BC, Chung C, Convery FR, Bugbee WD. Fresh osteochondral allografts. *Clin Orthop Relat Res.* (437):176-85, 2005.
- 31- Buckwalter JA. Evaluating methods of restoring cartilaginous articular surfaces. *Clin Orthop Relat Res.* Oct;(367 Suppl):S224-38, 1999.
- 32- Koshino T, Wada S, Ara Y, Saito T. Regeneration of degenerated articular cartilage after high tibial valgus osteotomy for medial compartmental osteoarthritis of the knee. *Knee.* 10(3):229-36, 2003.
- 33- Brittberg M, Sjogren-Jansson E, Thornemo M, Faber B, Tarkowski A, Peterson L, Lindahl A. Clonal growth of human articular cartilage and the functional role of the periosteum in chondrogenesis. *Osteoarthritis Cartilage.* 13(2):146-53, 2005.
- 34- Brittberg M, Peterson L, Sjogren-Jansson E, Tallheden T, Lindahl A. Articular cartilage engineering with autologous chondrocyte transplantation. A review of recent developments. *J Bone Joint Surg Am.* ;85-A Suppl 3:109-15, 2003.



- 35- Brittberg M, Nilsson A, Lindahl A, Ohlsson C, Peterson L. Rabbit articular cartilage defects treated with autologous cultured chondrocytes. *Clin Orthop Relat Res.* (326):270-83, 1996.
- 36- O'Driscoll SW, Saris DB, Ito Y, Fitzimmons JS. The chondrogenic potential of periosteum decreases with age. *J Orthop Res.* 19(1):95-103, 2001.
- 37- Lynn AK, Brooks RA, Bonfield W, Rushton N. Repair of defects in articular joints. Prospects for material-based solutions in tissue engineering. *J Bone Joint Surg Br.* 86(8):1093-9, 2004.
- 38- Ritsila VA, Santavirta S, Alhopuro S, Poussa M, Jaroma H, Rubak JM, Eskola A, Hoikka V, Snellman O, Osterman K. Periosteal and perichondral grafting in reconstructive surgery. *Clin Orthop Relat Res.* (302):259-65, 1994.
- 39- Mow VC, Ratcliffe A, Rosenwasser MP, Buckwalter JA. Experimental studies on repair of large osteochondral defects at a high weight bearing area of the knee joint: a tissue engineering study. *J Biomech Eng.* 113(2):198-207, 1991.
- 40- Breinan HA, Minas T, Hsu HP, Nehrer S, Sledge CB, Spector M. Effect of cultured autologous chondrocytes on repair of chondral defects in canine model. *J Bone Joint Surg Am.* 79(10):1439-51, 1997.
- 41- Alfredson H, Thorsen K, Lorentzon R. Treatment of tear of the anterior cruciate ligament combined with localised deep cartilage defects in the knee with ligament reconstruction and autologous periosteum transplantation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 7(2):69-74, 1999.
- 42- Madsen BL, Noer HH, Carstensen JP, Normark F. Long-term results of periosteal transplantation in osteochondritis dissecans of the knee. *Orthopedics.* 23(3):223-6, 2000.
- 43- Crone MH, Watt I. Synovial chondromatosis. *J Bone Surg Br* ;70-B:807-11, 1988.
- 44- Allard SA, Maini RN, Muirden KD. Cells and matrix expressing cartilage components in fibroblastic tissue in rheumatoid pannus. *Scand J Rheumatol Suppl.* 1988;76:125-9.
- 45- Xue C, Takahashi M, Hasunuma T, Aono H, Yamamoto K, Yoshino S, Sumida T, Nishioka K. Characterisation of fibroblast-like cells in pannus lesions of patients with rheumatoid arthritis sharing properties of fibroblasts and chondrocytes. *Ann Rheum Dis.* 56(4):262-7, 1997.

- 46- Iwata H, Ono S, Sato K, Sato T, Kawamura M. Bone morphogenetic protein-induced muscle- and synovium-derived cartilage differentiation in vitro. *Clin Orthop Relat Res.* (296):295-300, 1993.
- 47- Nishimura K, Solchaga LA, Caplan AI, Yoo JU, Goldberg VM, Johnstone B. Chondroprogenitor cells of synovial tissue. *Arthritis Rheum.* 42(12):2631-7, 1999.
- 48- Ogueta S, Munoz J, Obregon E, Delgado-Baeza E, Garcia-Ruiz JP. Prolactin is a component of the human synovial liquid and modulates the growth and chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Mol Cell Endocrinol.* 25;190(1-2):51-63, 2002.
- 49- Sellers RS, Peluso D, Morris EA. The effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) on the healing of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am.* 79(10):1452-63, 1997.
- 50- Jackson DW, Simon TM, Aberman HM. Symptomatic articular cartilage degeneration: the impact in the new millennium. *Clin Orthop Relat Res.* (391 Suppl):S14-25, 2001.
- 51- Fuller JA, Ghadially FN. Ultrastructural observations on surgically produced partial-thickness defects in articular cartilage. *Clin Orthop Relat Res.* 86:193-205, 1972.
- 52- Convery FR, Akeson WH, Keown GH. The repair of large osteochondral defects. An experimental study in horses. *Clin Orthop Relat Res.* 1972 Jan-Feb;82:253-62.
- 53- Jackson DW, Lalor PA, Aberman HM, Simon TM. Spontaneous repair of full-thickness defects of articular cartilage in a goat model. A preliminary study. *J Bone Joint Surg Am.* 83-A(1):53-64. 2001.
- 54- Knutsen G, Engebretsen L, Ludvigsen TC, Drogset JO, Grontvedt T, Solheim E, Strand T, Roberts S, Isaksen V, Johansen O. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomized trial. *J Bone Joint Surg Am.* 86-A(3):455-64, 2004.
- 55- Hangody L, Fules P. Autologous osteochondral mosaicplasty for the treatment of full-thickness defects of weight-bearing joints: ten years of experimental and clinical experience. *J Bone Joint Surg Am.* 85-A Suppl 2:25-32, 2003.
- 56- Hangody L, Kish G, Karpati Z, Udvarhelyi I, Szigeti I, Bely M. Mosaicplasty for the treatment of articular cartilage defects: application in clinical practice. *Orthopedics.* 21(7):751-6, 1998.

- 57- Mov VC, Ratcliffe A, Rosenwasser MP, Buckwalter JA: Experimental studies on repair of large osteochondral defects at a high weight-bearing area of the knee joint: a tissue engineering study. *J Biomech Eng* 113:198, 1991.
- 58- O'Driscoll SW, Keeley FW, Salter RB: The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion: An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg* 68A:1017-1035, 1986.
- 59- O'Driscoll SW, Fitzsimmons JS. The role of periosteum in cartilage repair. *Clin Orthop Relat Res.* Oct;(391 Suppl):S190-207, 2001.
- 60- Hoikka VE, Jaroma HJ, Ritsila VA. Reconstruction of the patellar articulation with periosteal grafts. 4-year follow-up of 13 cases. *Acta Orthop Scand.* 61(1):36-9, 1990.
- 61- Lorentzon R, Alfredson H. Periosteum Transplantation. *Sports Medicine and Arthroscopy Review* 6:60-67, 1998.
- 62- Peterson L, Minas T, Brittberg M, Nilsson A, Sjogren-Jansson E, Lindahl A. Two- to 9-year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clin Orthop Relat Res.* (374):212-34, 2000.
- 63- Peterson L, Minas T, Brittberg M, Lindahl A. Treatment of osteochondritis dissecans of the knee with autologous chondrocyte transplantation: results at two to ten years. *J Bone Joint Surg Am.* ;85-A Suppl 2:17-24, 2003.
- 64- Brittberg M, Nilsson A, Lindahl A, Ohlsson C, Peterson L. Rabbit articular cartilage defects treated with autologous cultured chondrocytes. *Clin Orthop Relat Res.* (326):270-83, 1996.
- 65- Breinan HA, Minas T, Hsu HP, Nehrer S, Sledge CB, Spector M. Effect of cultured autologous chondrocytes on repair of chondral defects in a canine model. *J Bone Joint Surg Am.* 79(10):1439-51, 1997.
- 66- 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(2):223-30, 2003.

- 67- 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(2):185-92, 2003.
- 68- Bartlett W, Skinner JA, Gooding CR, Carrington RW, Flanagan AM, Briggs TW, Bentley G. Autologous chondrocyte implantation versus matrix-induced autologous chondrocyte implantation for osteochondral defects of the knee: a prospective, randomised study. *J Bone Joint Surg Br.* 87(5):640-5, 2005.
- 69- Capito RM, Spector M. Scaffold-based articular cartilage repair. *IEEE Eng Med Biol Mag.* 22(5):42-50, 2003.
- 70- Coutts RD, Healey RM, Ostrander R, Sah RL, Goomer R, Amiel D. Matrices for cartilage repair. *Clin Orthop Relat Res.* Oct;(391 Suppl):S271-9, 2001.
- 71- Hunziker EB, Driesang IM. Functional barrier principle for growth-factor-based articular cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage.* 11(5):320-7, 2003.
- 72- Hung CT, Lima EG, Mauck RL, Takai E, LeRoux MA, Lu HH, Stark RG, Guo XE, Ateshian GA. Anatomically shaped osteochondral constructs for articular cartilage repair. *J Biomech.* 36(12):1853-64, 2003.
- 73- Hunziker EB, Driesang IM, Morris EA. Chondrogenesis in cartilage repair is induced by members of the transforming growth factor-beta superfamily. *Clin Orthop Relat Res.* Oct;(391 Suppl):S171-81, 2001.
- 74- Sherwood JK, Riley SL, Palazzolo R, Brown SC, Monkhouse DC, Coates M, Griffith LG, Landeen LK, Ratcliffe A. A three-dimensional osteochondral composite scaffold for articular cartilage repair. *Biomaterials.* 23(24):4739-51, 2002.
- 75- Haeuselmann HJ: Healing enhancement with chondrocyte transplantation and other means. *Sports Medicine and Arthroscopy Review* 6:50, 1998
- 76- Longobardi L, O'Rear L, Aakula S, Johnstone B, Shimer K, Chytil A, Horton WA, Moses HL, Spagnoli A. Effect of IGF-I in the chondrogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells in the presence or absence of TGF-beta signaling. *J Bone Miner Res.* 21(4):626-36, 2006.

- 77- Miura Y, Fitzsimmons JS, Commisso CN, Gally SH, O'Driscoll SW. Enhancement of periosteal chondrogenesis in vitro. Dose-response for transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1). *Clin Orthop Relat Res.* (301):271-80, 1994.
- 78- Miura Y, O'Driscoll SW: Brief exposure to high dose TGF-B1 enhances periosteal chondrogenesis in vitro. *Orthop Trans* 17:713, 1993.
- 79- Mizuta H, Matsui N, Sanyal A : Expression of TGF-B type I and type II receptors during periosteal chondrogenesis in vitro. *Trans Orthop Res. Soc.* 23:511, 1998.
- 80- Pineda S, Pollack A, Stevenson S, Goldberg V, Caplan A. A semiquantitative scale for histologic grading of articular cartilage repair. *Acta Anat* 143:335-340, 1992.
- 81- Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, Young RG, Mansour JM, Caplan AI, Goldberg VM. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am.* 76(4):579-92, 1994.
- 82- Goodwin DW, Dunn JF. High-resolution magnetic resonance imaging of articular cartilage: correlation with histology and pathology. *Top Magn Reson Imaging.* 9(6):337-47, 1998.
- 83- Bashir A, Gray ML, Hartke J, Burstein D. Nondestructive imaging of human cartilage glycosaminoglycan concentration by MRI. *Magn Reson Med.* 41(5):857-65, 1999.
- 84- Trattnig S, Mlynarik V, Breitenseher M, Huber M, Zembsch A, Rand T, Imhof H. MRI visualization of proteoglycan depletion in articular cartilage via intravenous administration of Gd-DTPA. *Magn Reson Imaging.* 17(4):577-83, 1999.
- 85- Gillis A, Bashir A, McKeon B, Scheller A, Gray ML, Burstein D. Magnetic resonance imaging of relative glycosaminoglycan distribution in patients with autologous chondrocyte transplants. *Invest Radiol.* 36(12):743-8, 2001.
- 86- Lyyra T, Jurvelin J, Pitkanen P, Vaatainen U, Kiviranta I. Indentation instrument for the measurement of cartilage stiffness under arthroscopic control. *Med Eng Phys.* 1995 Jul;17(5):395-9.
- 87- Bae WC, Schumacher BL, Sah RL. Indentation probing of human articular cartilage: Effect on chondrocyte viability. *Osteoarthritis Cartilage.* Jul 24; 2006.

- 88- Li LP, Herzog W. Arthroscopic evaluation of cartilage degeneration using indentation testing--influence of indenter geometry. *Clin Biomech.* 21(4):420-6, 2006.
- 89- Laasanen MS, Toyras J, Vasara AI, Hyttinen MM, Saarakkala S, Hirvonen J, Jurvelin JS, Kiviranta I. Mechano-acoustic diagnosis of cartilage degeneration and repair. *J Bone Joint Surg Am.* 85-A Suppl 2:78-84, 2003.
- 90- Hangody L, Kish G, Karpati Z, Udvarhelyi I, Szigeti I, Bely M. Mosaicplasty for the treatment of articular cartilage defects: application in clinical practice. *Orthopedics.* 21(7):751-6, 1998.
- 91- Hangody L, Feczko P, Bartha L, Bodo G, Kish G. Mosaicplasty for the treatment of articular defects of the knee and ankle. *Clin Orthop Relat Res.* Oct;(391 Suppl):S328-36, 2001.