



**T.C.  
AFYON  
KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**TİP 2 KOLLAJEN EMDİRİLMİŞ ENJEKTE  
EDİLEBİLEN HYALURONİK BAZLI İMPLANT  
KIKIRDAK ONARIMINI NASIL ETKİLER? RATLARDA  
OLUŞTURULAN DENEYSEL ÇALIŞMA**

**Arş. Gör. Dr. SADIK EMRE ERGİNOĞLU**

**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doktor Öğretim Üyesi MEHMET NURİ KONYA**

**AFYONKARAHİSAR 2018**

**T.C  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TİP 2 KOLLAJEN EMDİRİLMİŞ ENJEKTE  
EDİLEBİLEN HYALURONİK BAZLI İMPLANT  
KIKIRDAK ONARIMINI NASIL ETKİLER?  
RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL ÇALIŞMA**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ARŞ. GRV. DR. SADIK EMRE ERGİNOĞLU**

**DANIŞMAN**

**DOKTOR ÖĞRETİM ÜYESİ MEHMET NURİ KONYA**

**Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından  
17.TUS.01 Proje Numarası ile Desteklenmiştir.**

**AFYONKARAHİSAR 2018**

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

**Tez başlığı** :Tip 2 kollajen emdirilmiş enjekte edilebilen hyaluronik bazlı implant kırıkta onarımını nasıl etkiler? ratlarda oluşturulan deneysel çalışma

**Tezi hazırlayan** : Arş. Grv. Dr. Sadık Emre Erginoğlu

**Tez Savunma Tarihi:** 25.04.2018

**Tez Kabul Tarihi** : 25.04.2018

**Tez Danışmanı** : Doktor Öğretim Üyesi Mehmet Nuri Konya

İş bu çalışma jürimiz tarafından ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Doç. Dr. Gökhan Maralcan

Üye

Üye

Doktor Öğretim Üyesi Mehmet Nuri  
Konya

Prof.Dr.Ulukan İnan

ONAY

DEKAN

Prof. Dr. ADEM ASLAN

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince hem mesleki hem sosyal olarak desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Özal Özcan, Doç. Dr. Gökhan Maralacan, Doç. Dr. Ali Fuat Karataş, Doktor Öğretim Üyesi Mehmet Nuri Konya, Doktor Öğretim. Üyesi Murat Yeşil'e ;

Tez çalışmam sırasında her aşamada desteğini esirgemeyen Doktor Öğretim Üyesi Mehmet Nuri Konya'ya;

Yoğun ve stresli çalışma temposunda bana her konuda destek olan şu anda uzmanlık görevine devam eden Dr.Yılmaz Kaya, Dr.Fırat Doğruöz, Dr.Mehmet Yücehan, Dr.Kutay Yılmaz, Dr. Recep Abdullah Erten ve Dr. Ömer Ali Kaya'ya;

Çalışma hayatımda her zaman yanımda olan ve bana destek veren değerli arkadaşlarım Dr.Recep Altın, Dr.Uğur Yüzügüldü, Dr.Mohamed Salah, Dr.Bilge Kağan Yılmaz, Dr.Çağlar Tuna Issı, Dr.Turan Najafov ve Dr.İbrahim Ethem Bütüner'e ;

Zorlu çalışma saatlerinde her daim yanımda olan ve üzüntülerimi mutluluklarımı paylaşan Çekirdek Aile'm;

Tez çalışmamın histoloji ve istatistiksel analizinde desteğini esirgemeyen Dr.Murat Tosun'a ;

Hayatta ayakta durmamı sağlayan ve bana her zaman destek olan, yön gösteren anneme ve babama; sevgisini ve arkadaşlığını hiç esirgemeyen kardeşime;

Yaşantımıza yepyeni bir anlam katan, mutluluk kaynağım güzel oğlum Ediz'e, yeterli zamanı ayıramadığım için üzgünlüğümü;

Yol arkadaşım ve hayat dostum, her zaman yanımda olup bütün yaşadığımız zorluklarda bana destek olan biricik eşim Aslı Erginoğlu'na ;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım....

## İÇİNDEKİLER

|                                                         |     |
|---------------------------------------------------------|-----|
| TEŞEKKÜR.....                                           | I   |
| İÇİNDEKİLER .....                                       | II  |
| TABLolar ÇİZELGESİ.....                                 | IV  |
| ŞEKİLLER ÇİZELGESİ.....                                 | V   |
| KISALTMALAR .....                                       | VII |
| I. GİRİŞ VE AMAÇ.....                                   | 1   |
| II. TARİHÇE.....                                        | 3   |
| III. GENEL BİLGİLER .....                               | 4   |
| 3.1 Embriyoloji.....                                    | 4   |
| 3.2 Kıkırdak Dokusunun Yapısı:.....                     | 5   |
| 3.3.Hyalin Kıkırdak .....                               | 6   |
| 3.4.Elastik Kıkırdak.....                               | 7   |
| 3.5.Fibröz Kıkırdak .....                               | 8   |
| 3.6.Kıkırdak İyileşmesi .....                           | 9   |
| 3.7. Hyaluronik Asit .....                              | 10  |
| 3.7.1.Hyaluronik Asit Metabolizması.....                | 11  |
| 3.7.2. Hyaluronik Asitin Görevleri .....                | 12  |
| 3.8.Tip 2 Kollajen.....                                 | 13  |
| 3.8.1 Tip 2 Kollajen Metabolizması .....                | 14  |
| 3.8.2 Tip 2 Kollajen Görevleri.....                     | 16  |
| 3.9 Kıkırdak Lezyonları .....                           | 16  |
| 3.9.1 Kıkırdak Lezyonlarının Görüntülenmesi .....       | 17  |
| 3.9.2 Kıkırdak Lezyonlarında Sınıflama .....            | 18  |
| 3.9.3 Kıkırdak Lezyonlarında Tedavi Endikasyonları..... | 19  |
| 3.9.4 Kıkırdak Lezyon Tedavi Seçenekleri .....          | 20  |
| 3.9.4.1 Eklem İçi Yıkama ve Traşlama .....              | 20  |
| 3.9.4.2 Subkondral delme – Mikrokırık.....              | 21  |
| 3.9.4.3 Osteokondral otogreft - Mozaikplasti .....      | 24  |
| 3.9.4.4 Osteokondral Allogreftler .....                 | 26  |
| 3.9.4.5. Otolog Kondrosit İmplantasyonu .....           | 27  |
| 3.9.4.6 Doku Mühendisliği .....                         | 28  |

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 3.9.4.7 Gen Tedavisi .....        | 31 |
| IV. GEREÇ VE YÖNTEM .....         | 32 |
| 4.1 Anestezi ve Analjezi .....    | 33 |
| 4.2 Cerrahi Teknik .....          | 34 |
| 4.2.1 Mikrokırık Grubu .....      | 40 |
| 4.2.2 Hyaluronik Asit Grubu ..... | 41 |
| 4.2.3 Tip 2 Kollajen Grubu .....  | 42 |
| 4.2.4 Kombine Grup .....          | 45 |
| 4.3 Histopatolojik İnceleme ..... | 45 |
| V. BULGULAR .....                 | 50 |
| VI. TARTIŞMA .....                | 64 |
| VII. SONUÇ .....                  | 70 |
| VIII. ÖZET .....                  | 72 |
| IX. SUMMARY .....                 | 74 |
| X. KAYNAKLAR .....                | 76 |

## **TABLÖLAR ÇİZELGESİ**

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo I:International Cartilage Repair Society 2018 .....         | 19 |
| Tablo II:Mankin ve O'Driscoll kriterleri .....                    | 46 |
| Tablo III:Mankin ve O'Driscoll sınıflama karşılaştırması .....    | 50 |
| Tablo IV:O'Driscoll gruplara göre alınan puanları.....            | 51 |
| Tablo V: Mankin sınıflamasına göre grupların aldığı puanlar ..... | 51 |
| Tablo VI:O'Driscoll sınıflama kriterlerinin puanları .....        | 52 |
| Tablo VII:O'Driscoll sınıflama toplam puanlar .....               | 52 |
| Tablo VIII:Mankin sınıflaması toplam puanları .....               | 53 |

## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1: Kondrosit differansiyasyonu .....                                                     | 4  |
| Şekil 2: Diz eklem yapısı .....                                                                | 6  |
| Şekil 3: Kıkırdak doku histolojisi .....                                                       | 7  |
| Şekil 4: Elastik Kıkırdak .....                                                                | 8  |
| Şekil 5: Fibrokartilaj fibröz kıkırdak doku histolojisi.....                                   | 8  |
| Şekil 6: Hyaluronik Asit .....                                                                 | 10 |
| Şekil 7: Hyaluronik Asit Biyokimyasal şematik.....                                             | 12 |
| Şekil 8: Kollajenin üçlü heliks yapısı .....                                                   | 13 |
| Şekil 9: Kollajen sentez basamakları .....                                                     | 14 |
| Şekil 10:Tip 2 kollajen yapısı .....                                                           | 15 |
| Şekil 11: Diz MRI görüntüsü, kıkırdak lezyonu .....                                            | 18 |
| Şekil 12: Femur medial kondilde 1*1cm kıkırdak lezyonu tıraşlanması.....                       | 21 |
| Şekil 13: Mikrokırık uygulamasında kullanılan 40-65-90 derece eğimli kıkırdak<br>bizleri ..... | 22 |
| Şekil 14: Mikro kırık uygulanmış kıkırdak lezyonu femur medial kondil .....                    | 23 |
| Şekil 15: Mozaikplasti uygulanmış femur kondil kıkırdak lezyonu .....                          | 25 |
| Şekil 16:Osteochondral Allograft Studies .....                                                 | 26 |
| Şekil 17: Xylazin Bio %2 ksilazin etken madde, Alfamine %10 ketamin etken<br>madde .....       | 33 |
| Şekil 18: Batticon , Povidin-iyon %10.....                                                     | 34 |
| Şekil 19: Ortopedik cerrahi küçük set aletleri.....                                            | 34 |
| Şekil 20: Anestezi altında dizi traşlanmış rat.....                                            | 35 |
| Şekil 21: Anestezi altında cerrahiye hazırlanan rat.....                                       | 35 |
| Şekil 22: Steril örtme işlemi .....                                                            | 36 |
| Şekil 23: Paramedian insizyon .....                                                            | 37 |
| Şekil 24: Cilt cilt altı insizyonu.....                                                        | 37 |
| Şekil 25: Ratın distal femuru, diz eklemi.....                                                 | 38 |
| Şekil 26: Sağ diz femoral kondiller.....                                                       | 38 |
| Şekil 27: Sağ diz rat mikro kırık işlemi yapılırken .....                                      | 39 |
| Şekil 28: Mikro kırık sonrasında oluşturulan kıkırdak lezyonu.....                             | 39 |
| Şekil 29: Sakrifiye edilmiş ratın femur kondil eksizyon materyali.....                         | 40 |



|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 30: İnsülin enjektörü içerisinde %10 dilüe edilmiş 0,4ml hyaluronik asit ..           | 41 |
| Şekil 31:Tip 2 Kollajen su, asit ve yağ içinde santrifüj yardımı ile çözünme işlemleri..... | 42 |
| Şekil 32: Hassas farmakolojik terazi yardımı ile Tip 2 Kollajen ölçümü .....                | 43 |
| Şekil 33: Tip 2 kollajen uygulama dozu 30 mikrogram.....                                    | 44 |
| Şekil 34: Kombine grup 1.ay sonunda femur distal total eksizyon materyali .....             | 45 |
| Şekil 35: Hyaluronik Asit enjekte edilen femur distal mikroskopisi 1.ay .....               | 47 |
| Şekil 36: Mikrokırık grubu femur distal mikroskopisi 1.ay.....                              | 48 |
| Şekil 37: Tip 2 kollajen uygulanan femur distal mikroskopisi 1.ay .....                     | 48 |
| Şekil 38: Kombine uygulanan femur distal mikroskopisi 1.ay .....                            | 49 |
| Şekil 39: Mikrokırık grubu 2.ay mikroskopisi, femur distal.....                             | 54 |
| Şekil 40: Hyaluronik asit grubu 2.ay mikroskopisi, femur distal .....                       | 54 |
| Şekil 41: Tip 2 kollajen grubu 2.ay mikroskopisi, femur distal.....                         | 55 |
| Şekil 42: Kombine grup 2.ay mikroskopisi, femur distal .....                                | 55 |
| Şekil 43: Elektron mikroskopisi mikrokırık grubu 1.ay eklem yüzey görüntüsü                 | 56 |
| Şekil 44: SEM mikrokırık grubu 1.ay subkondral alan ve tidemark görüntüsü ..                | 56 |
| Şekil 45: SEM HA grubu 1.ay eklem yüzey görüntüsü.....                                      | 57 |
| Şekil 46: SEM HA grubu 1.ay subkondral alan ve tidemark görüntüsü.....                      | 57 |
| Şekil 47: SEM T2C grubu 1.ay eklem yüzeyi.....                                              | 58 |
| Şekil 48: SEM T2C 1.ay subkondral bölge görüntüsü.....                                      | 58 |
| Şekil 49 SEM kombine grup 1.ay eklem yüzeyi.....                                            | 59 |
| Şekil 50:SEM kombine grup 1.ay subkondral alan ve tidemark.....                             | 59 |
| Şekil 51:SEM mikrokırık grubu 2.ay eklem yüzeyi .....                                       | 60 |
| Şekil 52 :SEM mikrokırık grubu 2.ay subkondral alan .....                                   | 60 |
| Şekil 53: SEM HA grubu 2.ay eklem yüzeyi.....                                               | 61 |
| Şekil 54: SEM HA grubu 2.ay subkondral alan.....                                            | 61 |
| Şekil 55: SEM T2C grubu 2.ay eklem yüzeyi.....                                              | 62 |
| Şekil 56: SEM T2C grubu 2.ay subkondral alan.....                                           | 62 |
| Şekil 57: SEM kombine grup 2.ay eklem yüzeyi.....                                           | 63 |
| Şekil 58: SEM kombine grup 2.ay subkondral alan.....                                        | 63 |
| Şekil 59: Hasarlı kartilajın fibrokartilaj ile iyileşmesi .....                             | 64 |
| Şekil 60: Kondrosit Metabolizması .....                                                     | 66 |
| Şekil 61: Eklem yüzeyinde hyaluronik asit.....                                              | 67 |

## KISALTMALAR

|             |                                            |
|-------------|--------------------------------------------|
| BT          | : Bilgisayarlı Tomografi                   |
| CDGF        | : Chondrocytes Derivatized Growth Factor   |
| CM          | : Santimetre                               |
| COLL 2.1    | : Kollajen tip 2.1                         |
| COMP        | : Kartilaj oligometrik matriks proteini    |
| CPII Tip II | : Prokollajen Karboksi Propeptidi          |
| CTX-2       | : Collagen Type II Telopeptide X           |
| FDA U.S.    | : Food and Drug Administration             |
| HA          | : Hyaluronik Asit                          |
| ICRS        | : International Cartilage Research Society |
| MRI         | : Magnetik Rezonans Imaging                |
| OCD         | : Osteokondiritis Dissekans                |
| OKI         | : Otolog Kondrosit İmplantasyonu           |
| SEM         | : Spektrometrik Elektron Mikroskopu        |
| T2K         | : Tip 2 Kollajen                           |

## I. GİRİŞ VE AMAÇ

Kıkırdak, özelleşmiş bir bağ doku tipidir. Üç tip kıkırdak dokusu mevcuttur; hiyalin, elastik ve fibröz kıkırdak. Kıkırdağın ana görevi yumuşak dokuyu desteklemektir. Yapısının düzgün yüzeyli ve esnek olması eklem yüzeylerinin, darbe emici ve kaygan olmasını sağlar. Bu sayede eklemlerin hareket yeteneğini kolaylaştırır. Kıkırdak prenatal-postnatal dönemde osteogenezis basamaklarında ana rol oynamaktadır.

Travma, enfeksiyon, romatolojik hastalıklar ve çeşitli dejeneratif hastalıklar nedeniyle kıkırdak dokuda hasarlanma sık olarak görülmektedir. Kıkırdak lezyonu bir kez başlamışsa durdurulamamaktadır, fakat yavaşlatacak seçenekler mevcuttur(1).

Ortopedik cerrahide kıkırdak lezyonlarında artroskopik traşlama sonrasında enjektabl biyomolekül uygulanması küçük hasarlarda tercih edilen bir yöntemdir. Daha büyük lezyonlarda mikrokırık ve drilleme uygulanabilir(2). Bu iki seçeneğin yetersiz kaldığı olgularda transplantasyon, son seçeneklerden biri olarak da artroplasti seçeneği uygulanmaktadır(2).

Kıkırdak doku hasarlarında ortopedik cerrahi teknikler, hücre kültürleri ve transplantasyonlar çoğu zaman yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle son yıllarda doku mühendisliği yaklaşımıyla üç-boyutlu biyobozunur ve biyouyumlu polimerik yapıların ve dokulardan izole edilen hücrelerin kullanımıyla laboratuvar ortamında kıkırdak dokusunun üretilmesine çalışılmaktadır. Bir çok yeni geliştirilen ortopedik cerrahi teknik ve eklem içi ajan uygulamaları kıkırdak doku iyileşmesinde umut verici olmaktadır(2).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada ratların diz ekleminde oluşturulan kıkırdak hasarı sonrasında Tip-2 Kollajen ve Hyaluronik asidin kıkırdak doku iyileşmesindeki etkileri araştırılmaktadır.

Eklem yüzeylerini oluşturuan kıkırdak doku insan hayatı boyunca sürekli yük altında kalmaktadır. İyileşme sürecinin izleminde inflamatuvar süreçler, kemokinler , kimyasal ajanlar , temel yapı proteinleri ve neogenesiz çok önemli rol almaktadır(3). Çalışmamızda kullandığımız hyaluronik asit son yıllarda özellikle deneme aşamasında kullanılıyor olup, Tip 2 kollajen henüz yaygın olarak tek veya kombine olarak kullanılmamıştır.



## II. TARİHÇE

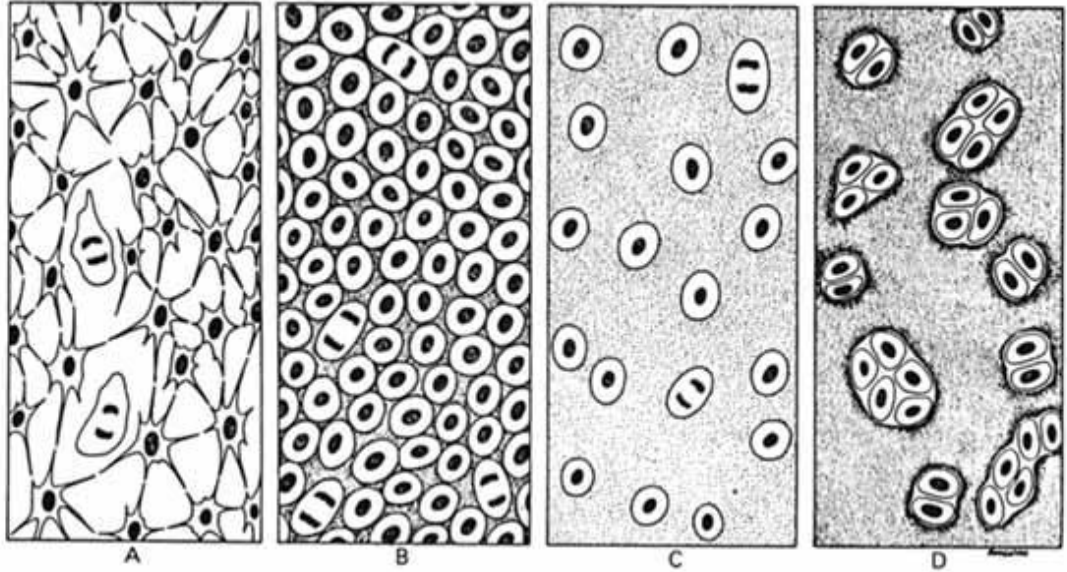
Kıkırdak lezyonları yaklaşık 200 yıldır tıp tarihini ilgilendirmektedir. 1743 yılında Hunter(4) eklemlerdeki kıkırdak lezyonlarını tanımlamıştır. Kıkırdak dokunun iyileşme yeteneğinin kısıtlı olması nedeniyle uzun yıllar yapılan çalışmalar tam tedaviyi sağlayamamıştır(5). 20.yüzyılın ikinci yarısında ağırlık kazanan konu Insall'un artroskopik girişimleri ve kıkırdak lezyonlarına müdahale edebilmeleri ile hız kazanmıştır(6).



### III. GENEL BİLGİLER

#### 3.1 Embriyoloji

Kıkırdak dokuda iki tip hücre bulunmaktadır. Kondroblastlar , kıkırdak hücrelerinin öncüleri ve matriks sentezleyen hücrelerdir. Kondrositler ise olgun kıkırdak hücrelerini ifade eder. Aslında iki hücre gelişimsel süreçte farklılaşarak oluşan aynı kökene sahiptir. Kıkırdak doku embriyonik dönemde mezenkimal yapıdan köken alarak gelişir. Embriyonik dönemde oksijen konsantrasyonu fazla olduğu zaman mezenkimden kemik doku, az olduğu zaman kıkırdak doku gelişir(7). Kıkırdak doku fetüsün iskelet yapısını oluştururken, zamanla embriyogenez basamakları sayesinde kemikleşerek olgun iskelet yapısını meydana getirir(8).



**Şekil 1:** Kondrosit differansiyasyonu

- Mezenkim,
- Mezenkimal yapıların differansiyasyonu ile meydana gelen kondroblastlar,
- Kondroblastlar kendi matrikslerini sentezlemeye başlayarak birbirlerinden ayrılmaya başlar , olgunlaşarak kondrositleri meydana getirir,
- Kondrositler çoğalarak kıkırdak dokuyu oluşturur. (Junqueira *et al.* 1993).

### 3.2 Kıkırdak Dokusunun Yapısı:

Kıkırdak, bol miktardaki hücre dışı matriks içine gömülü olan kıkırdak hücreleri tarafından oluşturulmuştur. Kıkırdak dokusunun oluşum aşamalarına ve gelişim mekanizmasına kondrojeniz denilmektedir(7).

Kıkırdak doku avasküler yapıda olup kan ve lenf kapillerleri ile sinir hücrelerini bulunmamaktadır(10). Kıkırdak dokunun beslenmesi, çevre bağ dokularındaki kapillerlerden, eklem kıkırdaklarının ise sinoviyal sıvısından difüzyonla gerçekleşmektedir(11).

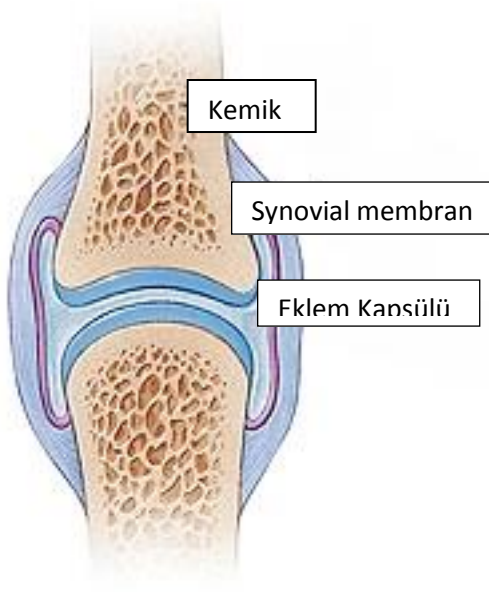
Kondrositler avasküler yapıda olduğu için düşük metabolik aktivite göstermektedir. Kapiller dolaşımın olmayışı sebebiyle kondrositler, düşük oksijen konsantrasyonlarında solunum yapmak zorundadırlar. Dolayısıyla kıkırdak dokunun kendini yenileme ve tamir etme yeteneği çok düşüktür(12).

Kıkırdak dokunun matriksi yüksek oranında su (H<sub>2</sub>O) içermektedir. Matriksin organik içeriklerinin büyük çoğunluğu ise proteoglikanlardan ve kollajenden oluşmaktadır(11). Yapısında bulunan kollajenlerin tipi ve miktarına göre üç alt tip kıkırdak doku vardır ;

1-Hyalin Kıkırdak

2-Elastik Kıkırdak

3-Fibröz kıkırdak



**Şekil 2:**Diz eklem yapısı (Barewalls , 2007)

### 3.3.Hyalin Kıkırdak

En sık bulunan kıkırdak doku alt tipidir. Çoğunluğunu Tip-2-Kollajen oluşturur. İskelet sisteminde epifizyel plaklarda, solunum yollarında, kostaların sternumla bileşkesinde ve eklem yüzlerinde bulunmaktadır. Hyalin kıkırdak matriksinin %70'ini su, %15'ini Tip-2-Kollajen, %10'unu proteoglikan ve kalan kısmını diğer kollajenler meydana getirir. Hyalin kıkırdağın matriks dışında kalan kısmının büyük kısmını da Tip-2-Kollajen oluşturur(12).

Eklem kıkırdağı 4 katmandan oluşur;

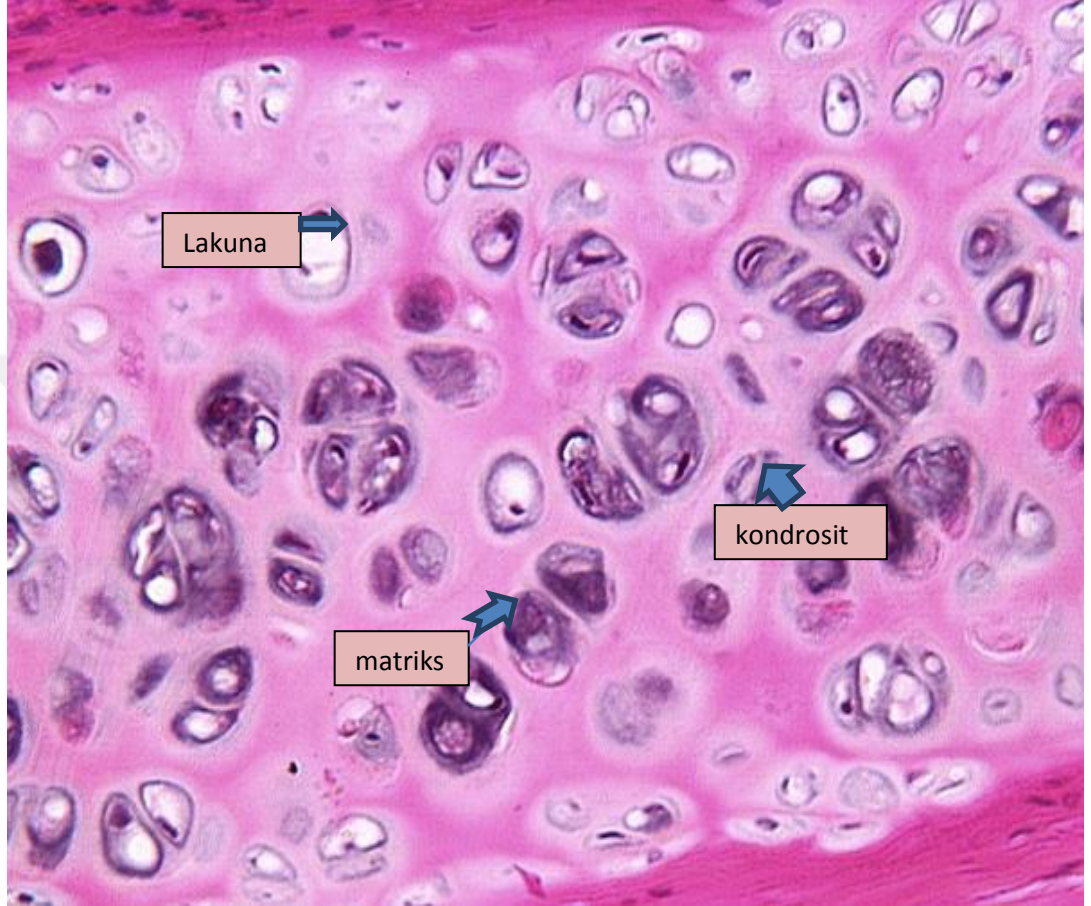
1-Süperfisyal katman: Eklem ile temas halinde olan, kollajen oranı yüksek katman.

2-Transizyonel katman: Hücrelerin seyrek olarak yerleştiği geçiş bölgesi.

3-Radial katman: Eklemdeki kıkırdağın %65'lik kısmını oluşturur. Yoğun hücre içerir.



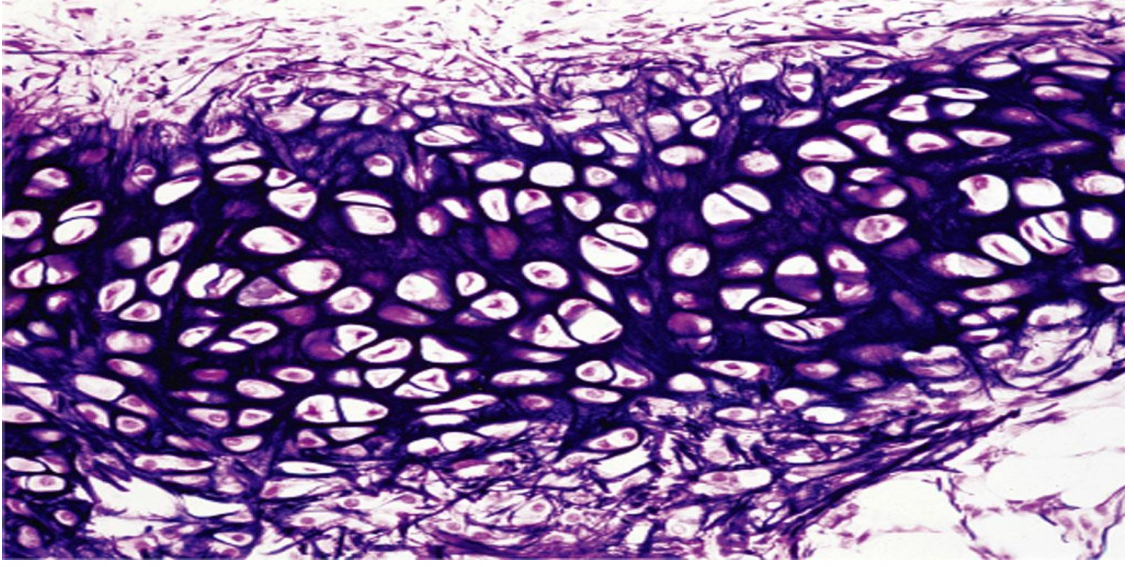
4-İrregüler katman: Kemik dokuya komşu katman. Hücresel dizilim ekleme dik olacak şekildedir. Subkondral bölge olarak da adlandırılır(13).



**Şekil 3:** Kıkırdak doku histolojisi (Matsumi H. , San Diego University , 2008)

### 3.4.Elastik Kıkırdak

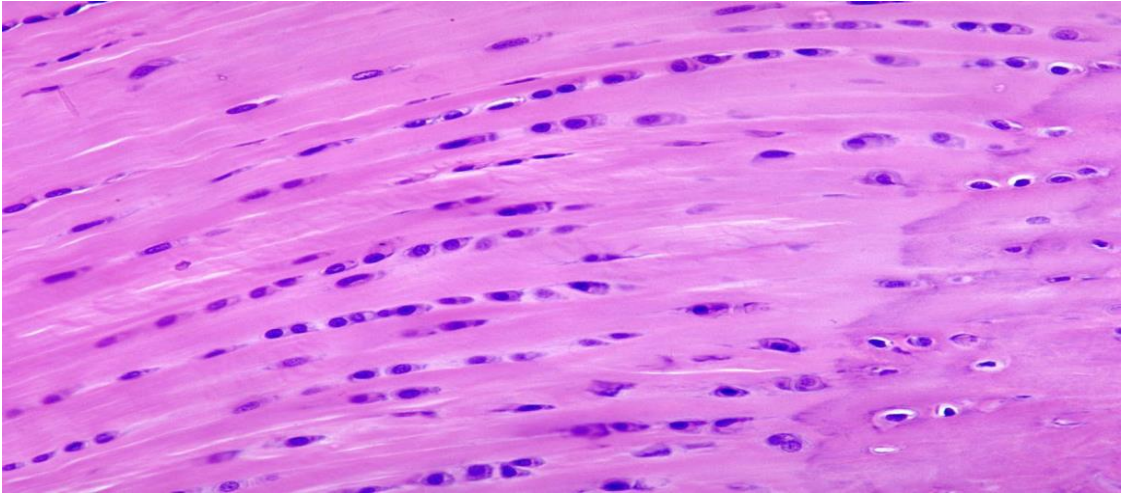
Elastik kıkırdak yapısında bol miktarda Elastin kollajeni ihtiva eder. Bu yapısının daha elastik ve gerilime dayanıklı hale getirmektedir. kulak kepçesinde , östaki borusunda, epiglotta bol miktarda bulunur(14).



**Şekil 4:** Elastik Kıkırdak ( Tissue Histology , Yale 1999)

### 3.5.Fibröz Kıkırdak

Fibröz kıkırdak bağ dokusundan zengin, fibröz kollajen ve proteoglikanlardan oluşan, daha katı ve elastik olmayan bir yapıya sahiptir. İntervertebral disklerde simfizis pubiste bulunur(14).



**Şekil 5:**Fibrokartilaj ( Tissue Histology , Yale 1999) fibröz kıkırdak doku histolojisi

### 3.6.Kıkırdak İyileşmesi

Kıkırdak doku genel olarak çok kısıtlı bir iyileşme kapasitesine sahiptir. Bunun nedenleri avasküler olması, lenfatik ve sinir hücresi içermemesi, düşük metabolizmaya sahip olması. Hyalin kıkırdak iyileşirken kondroblastlara ihtiyaç duyar. Kıkırdak hasarı geliştiğinde perikondriumda, subkondrol zonda bulunan kondroblastların lezyona doğru proliferasyon olarak değişim göstermesi gerekmektedir. Kondroblastlar, kondrositlere dönüşerek derin kıkırdak doku lezyonlarına ulaşmayı hedefler. Eklem hattına veya subkondral hatta ulaşan lezyonlar hemen fibrotik doku ile kapatılır. Bu da kıkırdak dokunun fonksiyonlarında eksiklik nedenidir. Kıkırdak doku iki mekanizma ile iyileşme sağlamaktadır(9).

1.İntrensek mekanizma: Kondrositlerin çoğalmasıyla ara madde ve oluşan doku boşlukları gerçek hyalin kıkırdakla doldurulur. Primer iyileşmedir; ancak lezyonun küçük ve etrafı sınırlı olduğu durumlarda gerçekleşir(7).

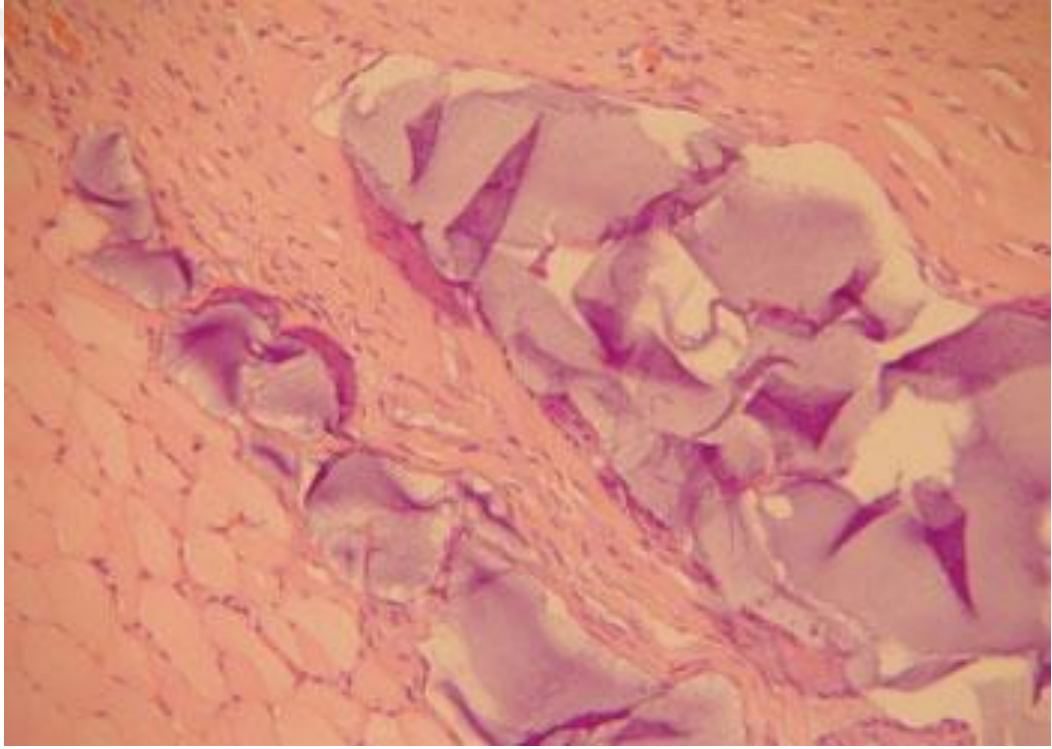
2.Ekstrensek mekanizma: Eklem hattına ve/veya subkondral katmana ulaşan lezyonlarda devreye giren mekanizmadır. Temel iyileşme tabanı hematoma dayanır. Hematom tıkaçların yerini fibrotik dokular alarak lezyonu kapatır. Ancak fonksiyonel kayıp meydana gelir(7).

Kıkırdak dokunun iyileşmesindeki sınırlayıcı faktörler nedeniyle lezyonun çapı arttıkça kıkırdak doku dolayısıyla eklemde fonksiyonel kayıp artmaktadır.



### 3.7. Hyaluronik Asit

Hyaluronik asit yunanca şeffaf anlamına gelen ‘Hyalos’ kelimesinden türemiştir. İlk olarak Karl Mayer ve John Palmer tarafından 1934 yılında tanımlanmıştır. İnsan gözünden 1964 yılında izole edilebilmiştir. Sinoviyada bulunan B tipi sinovisitler tarafından sentezlenir. Hyaluronik asit polisakkarit yapıdadır. Synoviyal sıvıda 2-3mg/ml miktarında bulunur. Ayrıca göbek kordonunda 4mg, kanda 20-30mg/ml ve lenfatik sıvıda 1-50mikrogram/ml oranında bulunur. Toplamda 70 kg bir insanda 15 gr hyaluronik asit bulunmaktadır(14).



**Şekil 6:** Hyaluronik Asit (Paulo Sérgio Lins Perazzo, BJOR, 2007)

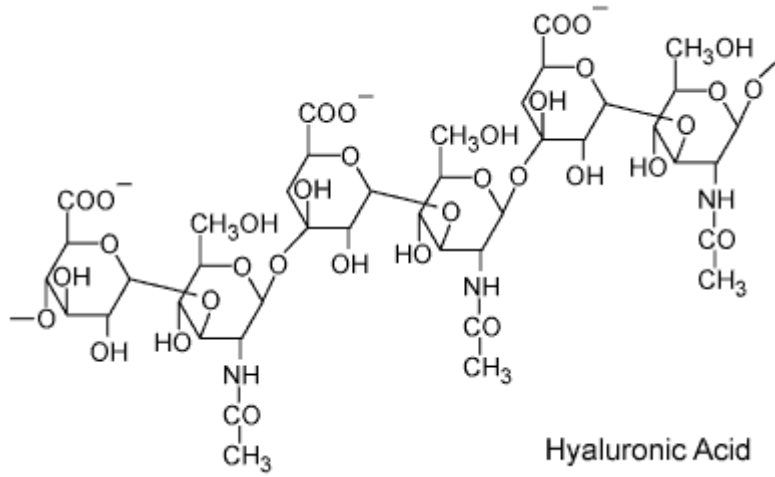
Eklemlerde normal olarak kıkırdak tabakası üzerinde hyaluronik asitin meydana getirdiği düzensiz yapıda bir katman bulunmaktadır. Bu tabaka eklem içindeki yıkıcı yapıya sahip organik bileşenlere ve lizozomal enzimlere karşı duvar görevindedir. Ayrıca kıkırdak dokuda sentezlenip hücre arası matrislerden eklem boşluğa sızmaya çalışan proteinler, proteoglikanlar ve metabolik

bileşiklerin geçişine engel olur(15). Koruyucu olan katmanın inflamatuvar süreçte, inflamasyon hücreleri ,salınan sitokin ve kemokinler veya litik enzimler hasar görmesi sonucunda kıkırdak lezyonları oluşur ve dejeneratif süreç başlar. Serbest hale gelen hyaluronik asit bileşenleri serbest hale geçerek eklem boşluğu içine düşer(16).

Hyaluronik asit vücutta normal yoğunluk ve miktarda bulunduğu zaman, myoblastların differansiyasyonunu inhibe ederek inflamasyonu engellerken, kondroblastların proliferasyonunu stimule eder. Ayrıca kondroprotektif özelliğini kıkırdak dokuda lezyon meydana gelip serbest fragmanter hale geçtiğinde başlatmaktadır(15).

### **3.7.1.Hyaluronik Asit Metabolizması**

Hyaluronik asit sentezinde kullanılan iki temel madde UDP-N-asetilglukozamin ve UDP-glukoronik asittir. Sentez için gerekli katalizör ve enzimler hücre membranında bulunur. Diğer polisakkaritler genel olarak golgi cisminde sentezlenirken, hyaluronik asit sentez kaskadı hücre membranında gerçekleşir(17). Hyaluronik asit glikoz-amino-glikan üyesi bir polisakkarit olup bu grubun tek sülfat içermeyen örneğidir.



**Şekil 7:**Hyaluronik Asit Biyokimyasal şematik (Nasi Main , 1986)

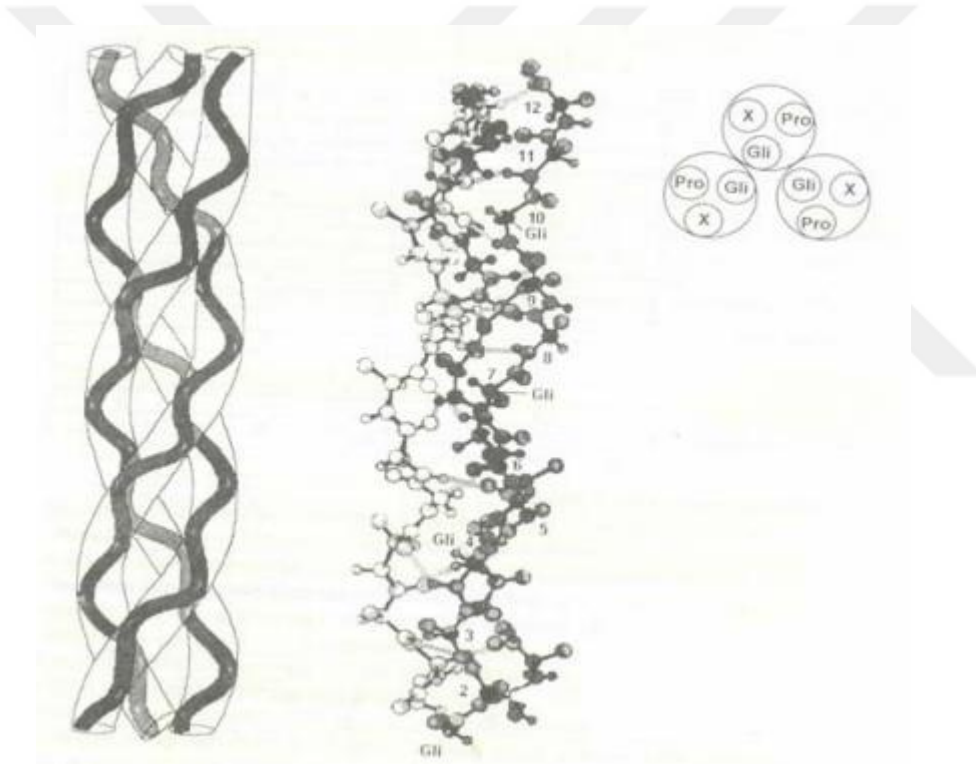
Hyaluronik asitin kandaki yarı ömrü 3-4 dakikadır. Periferden sentezlenerek kan dolaşımına ordan da lenfatiklere geçen hyaluronik asit bir miktar lenf nodlarında katabolize edilir. Kan dolaşımı ile karaciğere ulaşan çoğunluk burada yıkılır ve temel iki bileşenine ayrılır. Dolaşımdan böbrek glomerüllerinde filtre olabilen sadece minör hyaluronik asit deriveleridir. Bazal miktarda hyaluronik asit dalak, lenf nodu ve kemik iliğinde depo edilir(18).

### 3.7.2. Hyaluronik Asitin Görevleri

Hyaluronik asitin eklem ve çevresindeki hemostazın sağlanmasında önemli görevleri vardır. En önemli özelliklerinden bir tanesi su tutabilme ve osmotik basınç sağlayabilmesidir. Bu sayede bulunduğu eklemden mekanik direnç artışına neden olmaktadır. Aynı zamanda doku hidrasyonunu da sağlamaktadır. Proteoglikanların metabolizmasında deriveleri ve tutunduğu reseptörleri sayesinde rol oynamaktadır. Bu eş zamanlı olarak eksternal hyaluronik asitin eklem içi konsantrasyonunun artışıyla sinovial sentezinin arttığına işarettir. Hücre farklılaşmasını uyarır, hücre migrasyonuna etki eder. En önemli özelliklerinden biri eklem yüzeyine kaygan bir tabaka oluşturarak dejenerasyon ve lezyon oluşmasına engel teşkil eder(19).

### 3.8.Tip 2 Kollajen

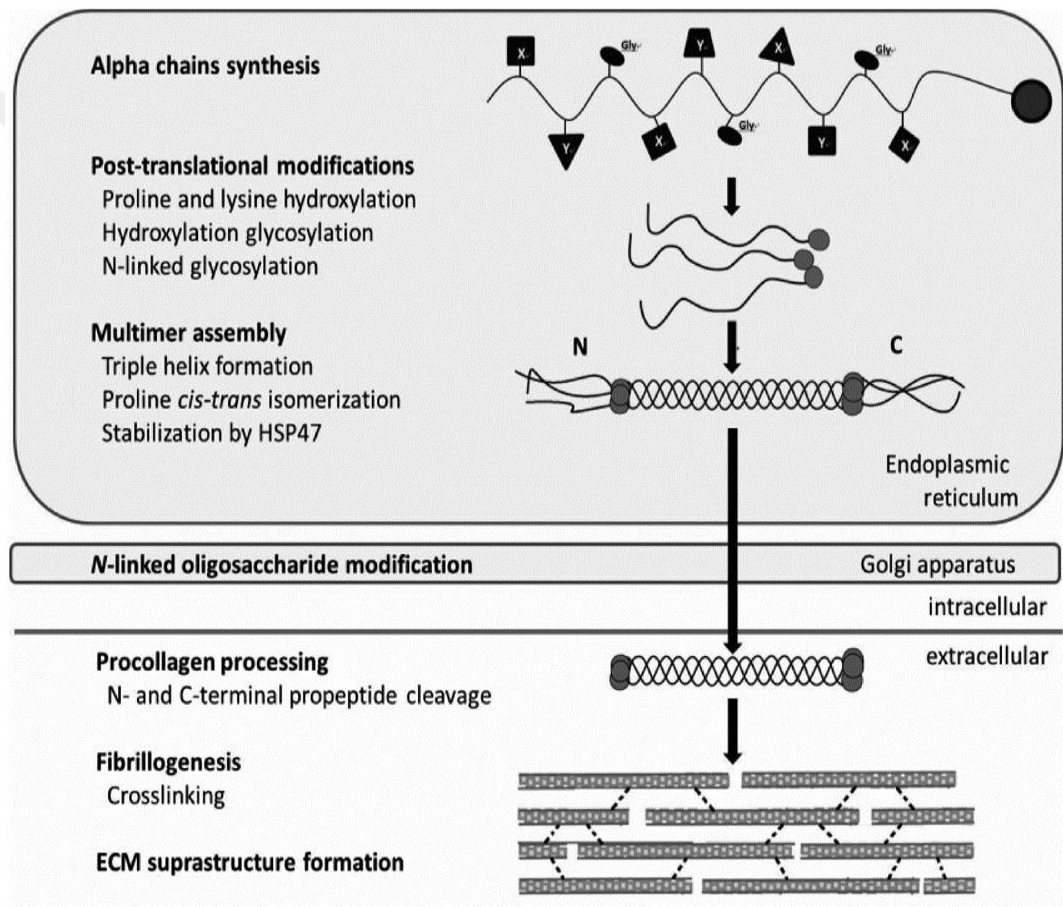
Kollajen molekülleri bir araya gelerek kollajen fibrillerini, kollajen fibrilleri belirli aralıklarla dizilim göstererek kollajen liflerini oluşturur. Tropokollajen olarak da adlandırılır. Üçlü heliks yapısında alfa zincirlerden meydana gelir. Kollajen insanda vücudunda en yoğun bulunan proteinlerin başında gelir. Kıkırdak dokunun yaklaşık %50 kısmını oluşturur. Kollajen moleküllerinin %90'lık kısmını tip1 , tip 2 ve tip 3 kollajen oluşturur(20). Tip 2 kollajen yapısal olarak protein derivativesidir. Eklem kıkırdaklarında özellikle çok miktarlarda bulunur.



**Şekil 8:**Kollajenin üçlü heliks yapısı (Elsevier Saunders,2005)

### 3.8.1 Tip 2 Kollajen Metabolizması

Tip 2 kollajen kondrositlerde prokollajen olarak sentezlenir. Birden fazla potransizyonel modifikasyona uğrayarak hücreler arası matrikse salınır. Matrikste matür kollajen sentezi başlar. Ekstrasellüler yapıdaki kollajen miktarı kıkırdak hastalıkları, lezyonları ve sentezi için anlamlı belirteç olarak kullanılır(21). Örneğin kıkırdak lezyonu olan hastalarda radyografik olarak belirti görülmeden sinovial sıvıdan tespit edilebilir.



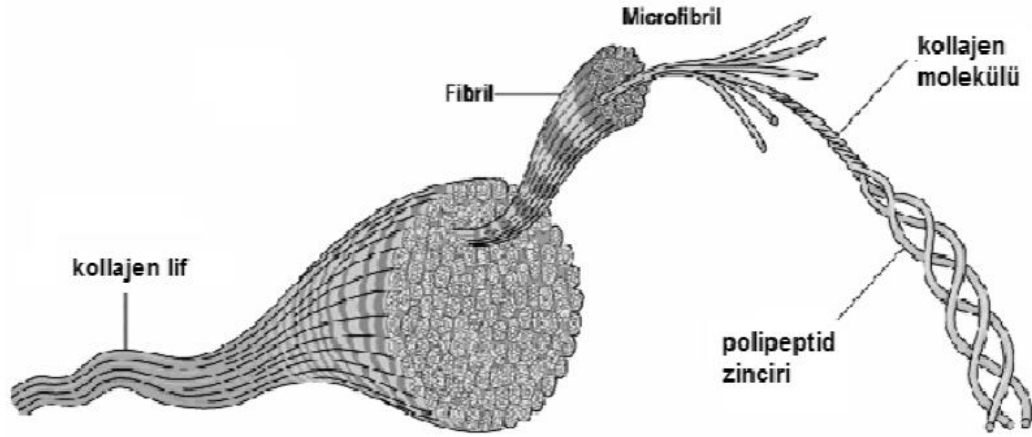
**Şekil 9:** Kollajen sentez basamaklarıHK J Paediatr (New Series) 2013;18:192-194

Kıkırdak lezyonlarının erken dönemlerinde, kollajenaz enziminin aktivitesindeki artışı nedeniyle kollajen yıkıma uğrar. Üçlü heliks sarmal yapısından neoepitop olarak isimlendirilen yeni yapı taşları açığa çıkar. Kollajenin metabolizmasındaki meydana gelen bu değişikliklere eklem kıkırdağında henüz



linik ve radyolojik bir değişiklik görölmeden çok daha erken başlamaktadır. Kollajenin yıkımı sonucu oluşan yıkım ürünleri CTX-II, Col 2-CTX, C2C, Coll 2-1, Coll 2-1 NO2, C2C, C 1-2 C ve Coll 2-3/4- Clong, mono olup bu biyomaddeler çeşitli makine ve istasyonlar yardımı ile, immunoessay ile ve birçok farklı yöntem ile marker olarak kullanılmaya başlanmıştır(22).

Tip 2 kollajenin katabolizmasına en iyi ışık tutacak sinovial sıvıdan yapılan ölçümlerdir. Çünkü serum ölçümleri, glomerüler atım ölçümleri yapısal değişiklikleri tam olarak yansıtamamaktadır(23). Kollagen tip 2 markerların araştırılması hem maliyet açısından hem de literatür açısından sınırlıdır.



**Şekil 10:** Tip 2 kollajen yapısı (Campbell 1999)

Yapılan çalışmalar gösteriyor ki yaşlanma, travma vb. etkenlerle kıkırdak yüzeyde meydana gelen düzensizlikler, kartilaj lezyonları ile kıkırdak kayıplarına zaman içerisinde inflamatuvar süreç eşlik etmektedir. Makrofajlardan salınan litik enzimler, metalloproteinazlar ile tip 2 kollajen yıkımına ve sentez inhibisyonuna neden olur(24). Oluşan yıkım ürünler kemotaktik ajanlar gibi davranarak daha fazla enzimatik reaksiyon gelişmesine ve kıkırdak lezyonun artmasına neden olur.

### 3.8.2 Tip 2 Kollajen Görevleri

Kartilaj doku temel olarak kollajen ve proteoglikanlardan meydana gelen, hücre dışı matriks ve matriksin içine yerleşmiş olan kondrosit ve türevlerinden oluşmaktadır. Kollajen proteini eklem kıkırdağının bazal bileşenlerinden biri olup elastikiyet ve dirençte görev alır. Eklem yüzey organizasyonunun önemli bir parçasını tip 2 kollajen oluşturmaktadır(25). Tip 2 kollajen kıkırdak dokuya tensil özellik kazandırır, proteoglikanları matriks içinde mobil hale getirir.

### 3.9 Kıkırdak Lezyonları

Kıkırdak lezyonlarında öncelikle meydana gelen değişiklik ilerleyici şekilde meydana gelen kıkırdak erezyonudur. Primer olarak yük taşıyan ya da basınç altında kalan eklem kıkırdak dokusunun harabiyetidir. Mekanik bası olmayan bölgelerde de zaman içerisinde dejeneratif olarak lezyonlar meydana gelmektedir(26).

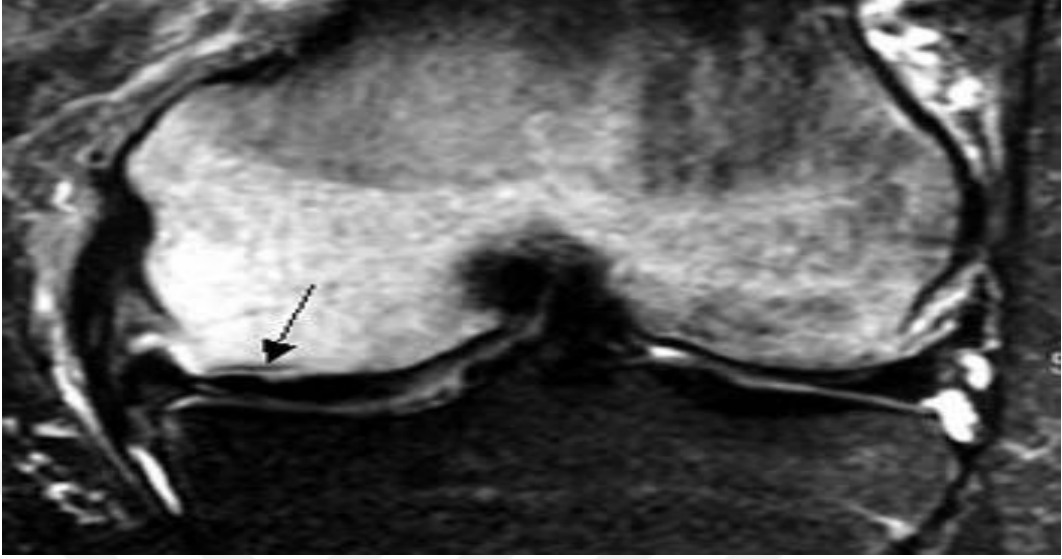
Kıkırdak doku hasarlarında kondrositlerin metabolizmasında ve sentezlerinde artış gözlenmektedir. Fakat eş zamanlı olarak lizozomal enzimlerin sentez ve aktivitesinde de yükselme olmaktadır. Meydana gelen mekanizma sonucunda proteoglikanlarda, hyaluronik asitte ve kollajen miktarlarında azalma, fonksiyonel olarak da gerileme görülür. Kaskada dahil olan inflamatuvar hücreler nedeniyle ilerleme gösteren kıkırdak yüzey bozulması meydana gelir. Hyaluronik asitin molekül ağırlığı enzimatik reaksiyonlar nedeniyle azalarak ekleme kazandırdığı elastikiyet ve kayganlaştırıcı etkisi azalır. Synovial sıvının basınç emici özelliği, eklem yüzlerini yağlayıcı özelliği kaybolur(5). Meydana gelen dejenerasyon ve kıkırdak dokunun beslenmesinin bozulması, hyalin kıkırdağın elastik ve dinamik fonksiyonunun kaybına, kıkırdak dokunun yük taşıma ve yükü aktarma kapasitesinde kayıplara neden olur.

### 3.9.1 Kıkırdak Lezyonlarının Görüntülenmesi

Kıkırdak dokunun görüntülenmesinin temel amaçları; eklem yüzeyinin bütünüüğünü değerlendirmek, kıkırdak matriksin katman kalınlığını görebilmek, lezyonun subkondrol kemiğe kadar ulaşp ulaşmadığını ayırt edebilmektir. Amaçlanan hedefler ışığında direkt radyografiden başlayarak birden çok teknik kullanılmaktadır. Günümüzdeki zamanda görüntüleme teknikleri tanı koymanın yanında tedavi takibi için de önem kazanmıştır(27). Özellikle magnetik rezonans (MR) multiplanar görüntü sağlaması, kemik doku, yumuşak doku, synovial sıvıya kadar yüksek kalitede bilgiler verebilmektedir.

Hasta değerlendirmede ortopedistler olarak kıkırdak lezyonu hakkında detaylı bilgiye sahip olma ihtiyacı duyarız. Girişimsel artroskopi planlanan olgularda lezyonun yeri ve tiplenmesi önem arz eder. Artrografi , bilgisayarlı tomografi (BT) kıkırdak doku tedavi ve takiplerinde 3 boyutlu olarak kullanılarak önemli bilgiler sağlayabilir.

MR görüntülemenin diğer tekniklerden belli başlı üstünlükleri mevcuttur. Bunlar; invaziv olmaması, kolay tekrarlanabilir olması, doğruluk oranının yüksek olması aynı anda hem kemik dokuyu hem de yumuşak dokularla sıvı komponentleri iyi değerlendirebilmesi(28). MR çalışma prensibinin temeli magnetik dalgalara dayanmaktadır. Bu dalgalar her yüzey alanına tesir ederek görüntün detaylı, yoğunluklarının farklı olarak algılanmasına olanak sağlar. MR herhangi bir dokuya spesifik değildir, fakat her dokuyu ayrıntılı gösterebilecek duyarlılığa sahiptir.



**Şekil 11:** Diz MRI görüntüsü, kıkırdak lezyonu A.K.Ü Ortopedi ve Travmatoloji arşivi 2018

### **3.9.2 Kıkırdak Lezyonlarında Sınıflama**

1961 yılında ilk defa kıkırdak lezyonları Outerbridge tarafından sınıflandırıldı, bu sınıflama makroskopikti(29). Sayısal sisteme dayanan bir sınıflama türüydü. Aynı şekilde 1972 yılında sayısal sınıflamalar yapıldı. Devam eden süreçlerde çeşitli modifikasyonlar görülsede günümüzde yaygın kullanılan sınıflama Uluslar Arası Kıkırdak Araştırma Derneği (ICRS) tarafından düzenlenen sınıflamadır.

**Tablo I:**International Cartilage Repair Society 2018

| <b>ICRS (Uluslararası kıkırdak araştırma derneği<br/>artiküler kıkırdak evreleme sistemi)</b> |                                                                |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| <b>Evre 0</b>                                                                                 | Normal                                                         |
| <b>Evre I</b>                                                                                 | Normale yakın                                                  |
| <b>IA</b>                                                                                     | Yüzeyel lezyon, yumuşama                                       |
| <b>IB</b>                                                                                     | Yüzeyel çatlaklar, yarıklar                                    |
| <b>Evre II</b>                                                                                | Anormal - %50'den daha az derinlikte                           |
| <b>Evre III</b>                                                                               | Şiddetli anormal - %50'den daha fazla derinliğe inen lezyonlar |
| <b>IIIA</b>                                                                                   | Kalsifiye kıkırdağa kadar                                      |
| <b>IIIB</b>                                                                                   | Subkondral kemiğe kadar                                        |
| <b>Evre IV</b>                                                                                | Şiddetli anormal – Subkondral kemik açıkta                     |

### 3.9.3 Kıkırdak Lezyonlarında Tedavi Endikasyonları

Eklem kıkırdak yüzey hasarlarının çoğunluğu ilerleyicidir, tedavi edilmez ise dejeneratif hastalığa ilerler. Pediatrik, adolesan, genç hasta popülasyonlarında yapılan takiplerde lezyonların ilerleyerek osteoartrit ve çeşitli dejeneratif hastalıklara sebep olduğu görülmüştür(30). OCD olan gençler takip edildiğinde tedavi edilmeyen hastaların %85 kadarının dejeneratif eklem hastalıklarına dönüşüm yaptığı görülmüştür. Bu bilgiler ışığında kartilaj lezyonlarının osteoartrit ile sonuçlanabileceği söylenebilir. 1cm'den daha küçük lezyonların etrafındaki sağlam kıkırdak dokuda yük artışına rastlanmazken, 1cm'den büyük çaptaki lezyonlarda çevre sağlam kıkırdak yüzeye binen yükün %65 oranında arttığı görülmüştür(31). Benzer bir çalışmada 1cm ve daha fazla defekt olan hastaların takiplerinde eklem aralığının %50'den fazla daraldığı saptanmıştır(32).

Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, bizim çalışmamızda da olduğu gibi, kıkırdak dokunun bir miktar kendiliğinden iyileştiği saptanmıştır. Herhangi bir tedavi uygulanmadan iyileşemeyen kıkırdak defekt büyüklüğünü ifade etmek için 'kritik boyut' terimi kullanılmıştır. Bu her canlı için değişen bir büyüklüktür,

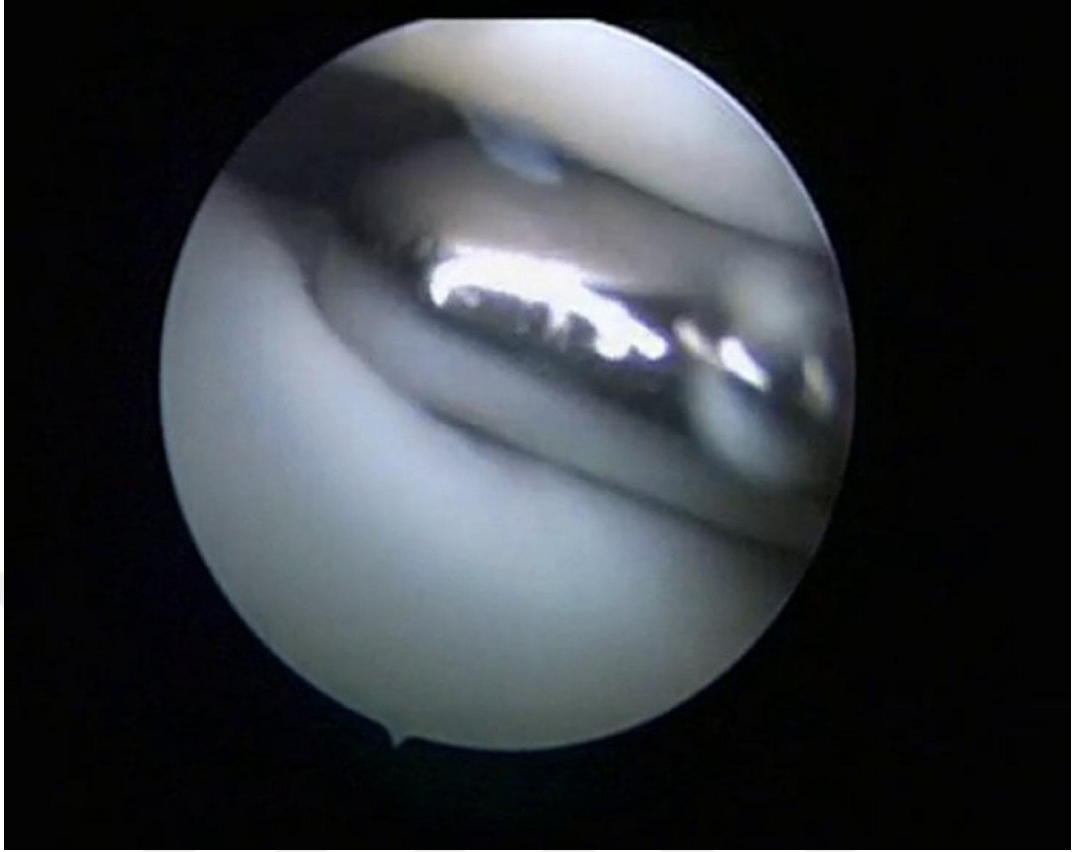
insanda 2 cm olduğu öne sürölmüştür(33). Fakat bazı çalışmalarda 2cm olan defektlerin iyileşebileceğı gösterilmiştir.

Kıkırdak lezyonlarını sadece büyüklük çapına göre değerlendirmek yetersiz olacaktır, lezyonun derinliğı de önem taşımaktadır. Özellikle tidemarkı geçen, subkondral kemik bölgesine uzanan defektler iyileşme potansiyelleri açısından farklılık göstermektedir. Tidemarkı geçip kemik iliğine ulaşan lezyonlarda mezenkimal kök hücrelerin iyileşmeye yardımcı olduğı düşünülmektedir. Ancak meydana gelen iyileşme dokusu, rejenerasyon özelliğı kısıtlı olduğundan dolayı primer kıkırdak doku kadar fonksiyonel olmamaktadır(34).

### **3.9.4 Kıkırdak Lezyon Tedavi Seçenekleri**

#### **3.9.4.1 Eklem İçi Yıkama ve Traşlama**

Kıkırdak doku hasarının erken dönemlerinde yakalanan yüzeysel lezyonlarda uygulanmalıdır. Yaklaşık 3 cm'e kadar olan defektlerde, genellikle genç-orta yaş grubunda uygun endikasyonludur. Kartilajın shaverlanması ile eklem yüzey kıkırdağında rejenerasyon süreci uyarılamaz(35). Yapılacak bu tedavi tekniğı için en uygun hastalar radyografi bulguları çok kötü olmayan, hareketleri bağı şikayetleri olan, aligment problemi olmayan, akut dönem şikayetleri olan hastalardır. Nihayetinde artroskopik olarak yapılan işlem hasarlı kıkırdakların temizlenmesi, menisküs ve çevre dokularının temizlenmesi varsa osteofit eksizyonu içerir; ileri derece hasarlı kıkırdaklar için yetersiz kalacaktır.



**Şekil 12:** Femur medial kondilde 1\*1cm kıkırdak lezyonu tıraşlanması A.K.Ü. Ortopedi ve Travmatoloji arşivi 2018

#### **3.9.4.2 Subkondral delme – Mikrokırık**

1997 yılında Steadman ve arkadaşları mikrokırık tekniğini öne sürmüşlerdir(36). Tanımlanan Steadman'ın tekniğinde artroskopik olarak üç portal açılıyordu. Portallerin yerleri ise lezyona göre değişiklik gösteriyordu. Mikrokırık uygulanmadan önce instabil olan kıkırdak bölgeleri temizlenir, kalsifiye kıkırdak katmanına kadar debridman uygulanır. Arkasından mikrokırık işlemi yapılarak oluşacak yeni kıkırdağın subkondral katmana tutunması sağlanır. Ancak tutunma sağlanmak istenen subkondral tabaka korunarak yapılan çalışmalarda da hyalin kıkırdağa yakın iyileşme görüldüğü tespit edilmiştir(37).

Debridman yapılan hasarlı bölgenin çevresinden başlanarak mikrokırık telleri yardımı ile drilleme yapılır. Kullanılan tellerin uç kısımlarının prizmatik olması nedeniyle derinlik kontrolü daha kolay sağlanabilmektedir. Delikler hasarlı

bölgeye dik olacak şekilde planlanmalıdır. Bu amaçla yapılan mikrokırık setlerinde 30,45 ve 90 derece eğimli guide telleri mevcuttur. Açılacak delikler mümkün olduğunda birbirine yakın olur, aralıkları 3-4 mm olmasına özen gösterilir(38).



**Şekil 13:** Mikrokırık uygulamasında kullanılan 40-65-90 derece eğimli kırıldak bizleri Ferkel Microfracture Pick ; Smith & Nephew ,

Subkondral bölgede damarsal yapılara ulaşma hedeflenir(39). Deliklerden eklem boşluğuna süzülen yağ damlacıklarının görülmesi subkondral bölgeye ulaşıldığı anlamına gelir. Kanama sağlanarak oluşan fibrin pıhtısı ve hematoma sayesinde tamir sürecinin başlaması hedeflenir. Hematom sonrasında fibrovasküler tamir mekanizmasının başlangıcı olan granülasyon dokusu oluşur(40). Mezenkimal kaynaklı kök hücreler prolifer olup olgunlaşırlar, dönüşüm göstererek kondroblastlara ardından da kondrositlere dönüşürler.



Erken dönemlerde hyalin kıkırdak benzeri doku oluşumları meydana gelir, ancak yapılan incelemeler sonucunda 8.haftadan sonra fibrokartilaj dokunun baskın olduğu görülmüştür(41,42).

En uygun endikasyonları aktif hastada semptomatik, belirli bir odağı olan lezyon, kondral travması olan veya insidental olarak yakalanmış hasta grubu olarak sayabiliriz(43). Tekniğin başarılı olabilmesi için lezyonun yaygın olmaması gerektiği bilinmelidir. Kullanılabilecek en üst sınır 2\*2cm olarak ön görülmüştür(44). Kolay uygulanabilmesi, maliyetinin az olması, yandaş bir hazırlık gerektirmemesi, bir basamaklı işlem olması, yapılacak ileri düzey girişimlere engel olmaması mikrokırık tekniğinin önemli avantajları olarak öne çıkmaktadır(44).



**Şekil 14:** Mikro kırık uygulanmış kıkırdak lezyonu femur medial kondil A.K.Ü Ortopedi ve Travmatoloji arşivi 2018

### 3.9.4.3 Osteokondral otogreft - Mozaikplasti

Otolog greft trasnferi bilinen ilk olarak 1993 senesinde Bobic ve arkadaşları tarafından uygulanmıştır(45). Dört yıllık çalışmalar ve deneyler sonucunda 1997 yılında klinik çalışmalarını yayınlamışlardır.

Bir santimetreden derin kıkırdak lezyonlarında, yani kemik defektinin de eşilk ettiği durumlarda, otogreft öncelikle tercih edilmesi gereken bir tekniktir. 2cm çapından büyük ve yaklaşık 6cm'ye kadar olan lezyonlarda kullanımı uygundur. Alt sınır çapı olarak da 1 cm düşünülmelidir, ancak pratikte 2cm'den küçük alanlara uygulamak mümkün değildir(38).

Teknik açık, mini artrotomi ya da artroskopik olarak uygulanabilir. Beşten fazla greft kullanılmayacaksa, lezyon çapı 2\*3 cm ve daha altında ise artroskopik olarak gerçekleştirilebilir(46). 6cm<sup>2</sup>'den büyük kıkırdak lezyonlarında artrotomi uygulamak gerekebilir. İlk defa Hangody ve Karpati tarafından mozaikplasti tekniği tarif edilmiştir (47).

Büyük defektlerde (6cm<sup>2</sup> ve üstü) mozaikplasti tekniğinin başarısızlık oranı çok yüksektir. Başarısızlık nedenlerinden en önemlisi de bu defekti kapatabilecek otogreftin bulunamamasıdır. Osteokondral greftler trefinler ya da osteotomlar yardımı ile alınabilir. Uygulanacak alana dik olarak yerleştirilmesi çok önemlidir(48). Ayrıca greft alınan bölgeyede dikkat edilmelidir, çünkü uygun teknikle alınmazsa hipertrofik fibröz şekilde iyileşerek eklem seviyesinin üstüne çıkarak ciddi semptomlara, hatta dejeneratif artrite sebep olabilir(32,49).

Kıkırdak doku hasarlarının tedavilerinde osteokondral otogreft kullanılması etkili olduğu kadar güvenilir yöntemdir. Otogreft uygulamalarında doku uyumsuzluğu beklenen bir durum değildir. Büyük ve geniş kıkırdak defektlerinde rekonstrüksiyon için gerekli miktarda otogreft alabilmek mümkün değildir. Greft yetersizliği dezavantajı nedeniyle, eklem kartilaj lezyonlarında yük taşımayan yüzeylerden alınan birden fazla küçük greft yük taşıyan yüzeydeki lezyonlara

uygulanarak göreceli olarak tedavi protokolü oluşturulmak istenmektedir. İnterkondiler notch ve çevresi, femur kondillerinin periferleri bu teknik için uygun görülen bölgelerdir(47). Transfer edilen hyalin kıkırdakın devamlılık göstermesinde en önemli faktörlerden biri fonksiyonel bir tidemark olması ve subkondral bölge ile beraber greftleme yapılmış olmasıdır(50).

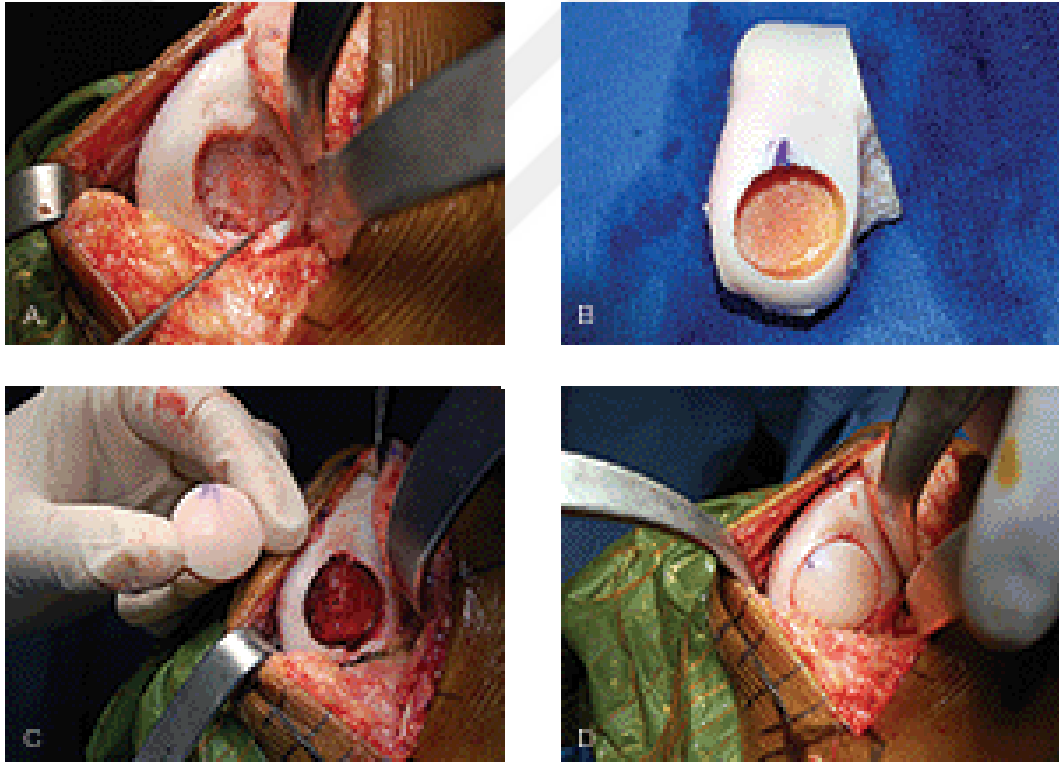


**Şekil 15:** Mozaikplasti uygulanmış femur kondil kıkırdak lezyonu

Çankaya Ortopedi , Ankara , 2014,

#### 3.9.4.4 Osteokondral Allogreftler

Kartilaj defektlerinde kullanılan osteokondral allogreftler, abrazyon artropastisi, subkondral drilling ve konservatif tedavilerin yetersiz kaldığı durumlarda uygulanmalıdır(35). Kıkırdak yüzeydeki büyük defektlerin (15mm'den büyük) tedavisinde kullanılabilir. Osteokondral allogreftler immünolojik açıdan çok ciddi problemler meydana getirmez. Yeni hazırlanmış allogreftlerin genel olarak daha etkili olduğu kabul görmektedir(51). Dondurulmuş greft uygulanan hastalarda da başarılı sonuçlar elde edilmiştir.



**Şekil 16:**Osteochondral Allograft Studies , William D. Bugbee, MD, AOSS Journal

### 3.9.4.5. Otolog Kondrosit İmplantasyonu

Chesterman ve Smith 1968 yılında kondrositleri ilk defa izole ederek kültürde sayılarını arttırarak üretim yapmışlardır(52). 1971 yılında Bentley ve Greer kondrositleri izole ederek kaartilaj doku hasarlarında tedavi amaçlı kullanmışlardır(53). OKİ 1997 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Kurumu (U.S. Food and Drug Administration, FDA) onayı almıştır, bu tarihten başlayarak 11 yıllık sonuçlarını yayınlayan Petersen sayesinde teknik ön plana çıkarılmış ve yaygınlaşmıştır(54).

Otolog kondrosit implantasyonunun avantajları allojenik greft kullanılmaması, ölü boşluklar kalmaması, greft alınan saha hasarı olmamasıdır. Dezavantajları ise iki ayrı cerrahi uygulama gerektirmesi, yüksek maliyetli olması, kondrosit çoğaltılması ve kıkırdak doku oluşmasının süre alması ve transport işlemleri gerektirmesidir(55).

Otolog kondrosit implantasyonu femoral kondiller, patella, troklea ICRS göre evre 3 ve 4 kıkırdak yaralanmalarının tedavisinde kullanılmalıdır. Hastaların yaş aralığı 20-50 arasındadır. Özellikle 40 yaşın üzerindeki hastalarda mikrokırık ve benzeri tekniklere göre daha iyi iyileşme yanıtları gözlenmiştir(56). Küçük defektlerin tedavisinde, 2cm<sup>2</sup>, ilk tercih mikrokırık ya da osteokondral otolog transfer iken, multiple 2cm<sup>2</sup> defekt varsa OKİ kullanılabilir. 2.5-3cm<sup>2</sup> lezyonlarda OKİ kullanılması endikedir(57). Pediatrik hastalarda en sık tercih edilen yöntemdir.

OKİ uygulamasının ilk adımı artroskopik olarak eklem muayenesi, kondrosit üretimi için kartilaj doku alınması, laboratuvara transport edilmesidir(58). Alınacak dokular için femur troklea çevresi uygundur. Alınan materyal %0,9 NaCl solüsyonunda transport edilir. Genellikle kültür için otolog serum gerekmektedir. Serum elde etmek için ise hastadan alınan kan pıhtılaşması beklenir, ardından santrifüj uygulanır. Filtre kullanılarak serum ayrıştırılır ve -4 santigrad derecede saklanarak kültür ekimi için kullanılır. Serumun otolog olarak kullanılması bovine göre çok daha hızlı üretim sağlamaktadır(59). Yaklaşık 10cm

defekt için gerekli implantasyon materyali 8 haftada sağlanabilmektedir. Cerrahi işlemler defektin büyüklüğüne göre mini artrotomi yapılarak 6.haftadan itibaren uygulanabilmektedir(60).

Komplikasyon olarak %3,8 insidans vardır, en sık görülen ise yeni kartilaj dokuda hipertrofi meydana gelmesidir(61). Bunun dışında implante kartilajın çevre doku ile uyumsuzluğu, yetersiz yeni doku oluşumu, subkondral kemik ile greftin ayrılmasıdır(62). OKİ uygulanan hastaların sekonder cerrahi geçirme oranları yüksektir. Ancak bu oranın yaş ile veya defektin büyüklüğü ile ilgisi yoktur. En sık neden hipertrofik greft olmuştur(63). Greft altındaki periostun sürtünme ile uyarılması hipertrofiye neden olmaktadır. Patelladaki vertikal kuvvetlerin augmentasyon üzerinde etkili olduğu düşünülür ki en az yetmezliğe gidiş bu bölgede görülmektedir.

#### **3.9.4.6 Doku Mühendisliği**

Travma ve hastalık nedenleri ile doku veya organ kayıplarının yeniden yapılması ve onarımı için yeni dönemde geliştirilmiş bir tekniktir doku mühendisliği. Temel yaklaşım skafoldların, sitokinlerin ve kondrositlerin bir arada kullanılmasıdır. Kartilaj dokudaki düşük hücre yoğunluğu nedeniyle biyopsi sonucu elde edilen materyalin az olması doku mühendisliğindeki en önemli sorunlardan biridir. Yeni hücre kaynakları, yeni biyomateryaller bu sorunu çözebilmek için geliştirilmeye devam etmektedir(64).

Doku mühendisliğinde kıkırdak doku için en uygun hücre kaynağı hala bulunamamıştır. Genetik olarak modifiye edilmiş hücreler, kök hücreler,kondrositler ve fibroblastlar kıkırdak onarımı için potansiyelleri ve uygunlukları için incelenmektedir.

### **Uygun Hücre Kaynakları**

- kostal
- auriküler
- artiküler
- nasoseptal
- adipoz dpku
- kemik iliği
- periost
- sinovia
- embriyonik
- kondrosit hücreleri uygun hücre kaynaklarından bazılarıdır.

Doğal kartilaj dokuda bulunduğu için ve matriksteki fonksiyonları fazla olduğu için kıkırdak doku mühendisliğinde kondrositler en çok ilgi gören hücre tipidir. Fakat kondrositlerin hücre miktar yoğunluğunun az olması doku mühendisliği için ciddi zorlayıcı bir sebeptir. Eklem kartilaj yüzeyin sadece %5'lik kısmı kondrositleri ihtiva eder(65). Çoğaltılması gereken kondrositlerin kültür ortamlarında rejenerasyon yeteneklerini kaybettikleri bilinmektedir. Fibrin yapıştırıcı, agaroz, aljinat taneleri kondrosit fenotipini korumada yardımcı olabilir(66).

Eklem kıkırdak katmanlarında kondrositlerin fonksiyonel ve işlevsel özellikleri farklılık gösterir. Yüzeyel, orta ve derin katmanlardaki kondrositlerin metabolizmaları birbirinden farklıdır(67). Örnek olarak süperfisyal tabaka kondrositleri yüzeyel bölge proteini sentezlerken orta katman kondrositleri ağırlıklı olarak tip 2 kollajen sentezlerler. Subkondral bölgeye doğru artan kollajen sentezi sayesinde derin tabaka daha dayanıklıdır. Bu farklılıklar nedeniyle doku mühendisliği tekniğinde katmanlara hücreler homojen dağılım sağlanması gerekmektedir. Tabakalar arası başarısızlık bu nedenden dolayı oluşmaktadır(68).

Stem cell, kök hücre, pluripotent özelliğe sahip hücrelerdir. Bunun anlamı değişik koşullar altında çok farklı hücrelere dönüşebilmesidir. Son yıllarda gözde konulardan biri olan kök hücrelerin, kemik iliğinden izole edilip TGF- $\beta$  sitokine ile uyarıldığında kondroblastlara dönüştüğü gösterilmiştir(69). Kondrositlere dönüşebilen mezenkimal kök hücreler adipoz dokuda, sinoviyal membranda, kemik iliğinde bulunur.

Yağ doku kaynaklı stem cell istikrarlı büyüme kapasitesi, yaşlanma gecikme özelliği ile kültür için uygun hücre tipidir(70). Bu hücre de TGF- $\beta$  sitokine ile uyarıldığında kondroblastlara dönüşebilmektedir. Yapılan çalışmalarda FGF-2 hücre proliferasyonunu artırırken, tip 2 kollajen sentez metabolizmasını arttırdığı gösterilmiştir(71). Kondroblastlara dönüşebildiği ispatlanmış olmasına rağmen hasarlı doku tamiri için de gerekli olan kondrojenik özellik adipoz doku kök hücrelerinde kemik iliği kaynaklı olanlara göre çok daha düşüktür(72).

Blastokist safhasında olan hücre kaskadından embriyonik stem cell izole edilebilmiştir. Pluripotent özelliğe sahip olan bu hücreleri klinik olarak saflaştırmak çok zordur. Erişkin kök hücrelere göre çok daha az immunojenik olduğu için odak kaynağıdır. Aynı zamanda çok hızlı hücresel büyüme yeteneğine sahiptirler. Embriyonik hücrelerin erişkin kondrogenesize uğrayabildikleri gösterilmiştir(73).

Skafoldların kartilaj doku rejenerasyonunda hücre iletimi maksadıyla kullanımı ön plana çıkmıştır. Kıkırdak doku üretimi için optimum üç boyutlu ortamı sağlamaktadır. İyi bir skafold bozunmayı önleyebilmeli, hücre ölümünü kontrol altında tutabilmeli, besin geçişine ve artık biyomaddelerin difüzyonuna izin vermeli, kartilaj dokunun sağladığı doğal yapışma desteklerini sağlamalı, matriks oluşumunu destekleyebilmeli ve tabi ki hücre proliferasyonuna izin verebilmelidir(74). Günümüzde skafold amaçlı olarak aljinat, fibrin, agaroz, hyaluran, kollajen, jelatin, kitosan, sellüloz, sülfat ve kondroidin kullanılmaktadır.



#### 3.9.4.7 Gen Tedavisi

Vektörler aracılığı ile in-vivo veya ex-vivo olarak özel genlerin eklem içine yerleştirilmesidir(75). Vektör doğrudan ekleme bırakılıyorsa in-vivo, genetik yapısı dışarda değiştirilmiş hücrelerin yeniden ekleme transferi gerçekleşiyorsa ex-vivo olarak tanımlanır. İşlem hem viral konak ile hem de direkt vektör ile yapılabilir. Yapılan çalışmalarda sadece 6 haftalık bir süreçte lezyonların tamir edilebildiği görülmüştür(76). Gen tedavisi kırık dokü hasar tamirlerinde daha emekleme aşamasında olmasına rağmen büyük bir potansiyele sahiptir.



## IV. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmamızda ratların dizlerinde kıkırdak doku lezyonu oluşturup, hyaluronik asit ve tip 2 kollajen uygulandı. Amacımız bu iki kıkırdak yapı taşının iyileşme üzerine etkilerini histopatolojik olarak göstermekti.

Yaptığımız tez çalışmasının etik uygunluğu Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından AKÜHADYEK-179- 17-Referans nolu araştırma, 49533702 sayı numaralı sayfa ile onaylanmıştır. Çalışmamız Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvancılık ve Araştırma Deney Hayvanları Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan bütün denekler Kocatepe Deney Hayvanları Merkezi'nden temin edilmiştir. Çalışmamızda toplam 32 adet Wester Albino türü rat kullanılmıştır. Deneklerin yaşları ortalama 6 ay olarak hesaplandı. Deney hayvanları aynı merkezde polietilen karışımlarından yapılmış olan kafeslerde, her kafeste iki adet kobay olacak şekilde bakımları sağlandı. Hayvanlara rutin yem ve su verildi. Cerrahi uygulandıktan sonra hayvanları sularına Sulphamezathine (sulfadimidin sodyum, CEVA-DİF) %16'lık solüsyon verilerek profilaksi sağlandı. Hayvanların rutin günlük temizlikleri ve pansumanları yapıldı. Hayvanlar 4 farklı gruba ayrıldı ;

- 1-Mikrokırık grubu 8 adet rat
- 2-Mikrokırık sonrası hyaluronik asit enjekte edilen 8 adet rat
- 3-Mikrokırık sonrası tip 2 kollajen uygulanan 8 adet rat
- 4-Mikrokırık sonrası H.A. ve T2K birlikte uygulanan 8 adet rat

Hayvanlar gruplarına göre isimlendirelerek ikişerli olarak kafeslerine alındı. Deneklerin sayısı önceden yapılan çalışmalar ve istatistiksel anlamlarına göre 6 olarak hesaplandı. Her gruba iki adet hayvan güvenlik amacıyla eklendi. En az 6 denek kullanarak yapılan çalışmada güç analizi sonucu %95 olarak hesaplandı. Kullanılan Wester Albino türü denek hayvanlarının DNA benzerliği %99 olması çalışmamızın güç analizini kuvvetlendirmiştir.

#### 4.1 Anestezi ve Analjezi

4 gruptaki deney hayvanlarına da aynı cerrahi öncesi prosedür uygulandı. Denek hayvanlarının ortalama ağırlıkları 400gr olarak hesaplandı. Bu prosedüre göre hayvanlara verilmek üzere Xylazinbio (ksilazin etken madde, Bioveta, Çek Cumhuriyeti) 50ml %2'lik çözeltiden 400 grama 0,1ml olacak şekilde, Alfamine (Ketamin etken madde, Atafen, İzmir) 50ml %10'luk çözeltiden 400 grama 0,3ml olacak şekilde insülin enjektörüne toplam 0,4ml anestezik karışım hazırlandı. Hayvanların kuadriseps kası içine IM uygulanarak anestezi indüksiyonu sağlandı. Cerrahi süresi boyunca ihtiyaç duyulması halinde 0,1ml ek doz uygulandı. Post-operatif dönemde hayvanların rahat olabilmeleri için ılık ortamda bakımları sağlanmış, 1 gün boyunca pansumanlarının korunmasına dikkat edildi.



**Şekil 17:** Xylazin Bio %2 ksilazin etken madde, Alfamine %10 ketamin etken madde

#### 4.2 Cerrahi Teknik

Klasik anestezi prosedürü uygulanıp denek hayvanlarının indüksiyonu sağlandıktan sonra bütün ratların sağ dizleri yıkanıp traş edildi. Antiseptik olarak %10'luk Povidon-İyot içeren Batticon (Adeka, İstanbul) solüsyonu kullanıldı. Batticon ile hayvanların dizleri steril edildi. Cerrahi steril örtü kullanılarak örtme işlemi sağlandı. Ortopedi cerrahisinde kullandığımız küçük kemik ve küçük yumuşak doku setleri steril olarak temin edildi.



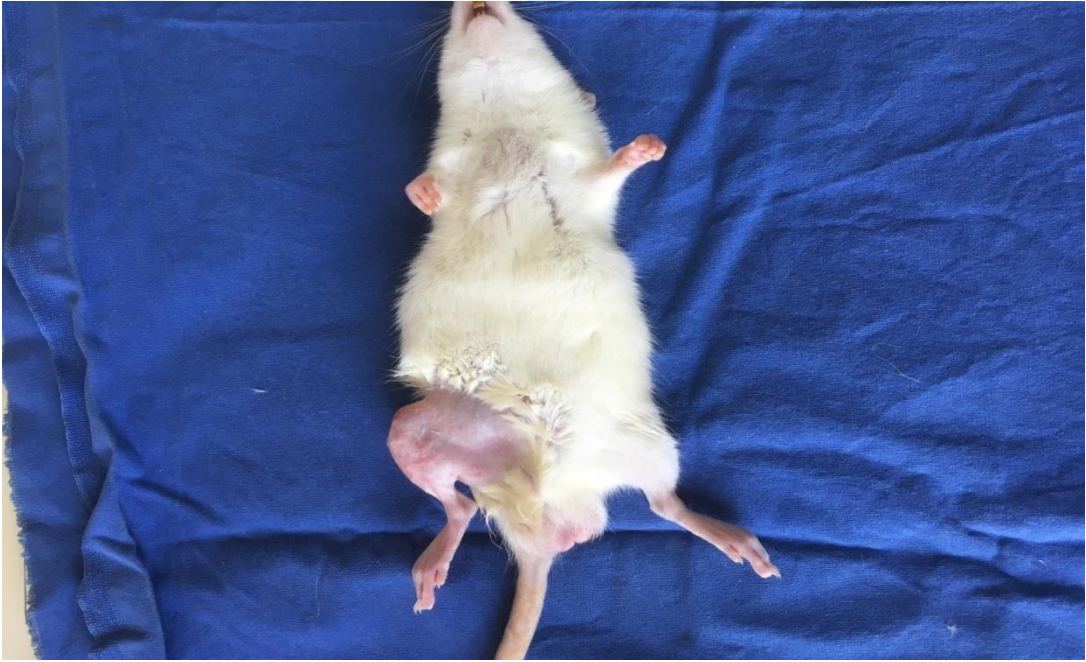
Şekil 18: Batticon , Povidin-iyon %10



Şekil 19: Ortopedik cerrahi küçük set aletleri

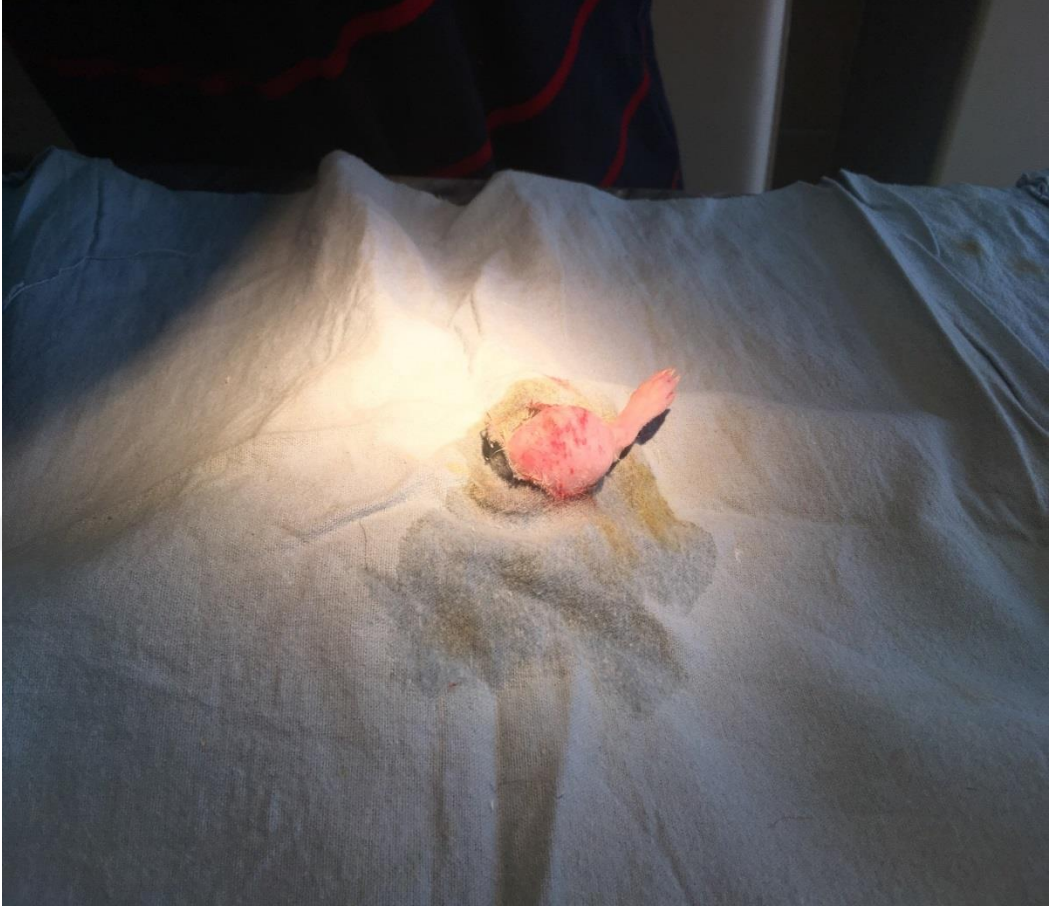


**Şekil 20:**Anestezi altında dizi traşlanmış rat



**Şekil 21:**Anestezi altında cerrahiye hazırlanan rat





**Şekil 22:** Steril örtme işlemi

Sağ diz paramedian insizyon ile açıldı. Cilt cilt altı yumuşak doku bağlantıları ve kanlanması korunarak tek kesi ile geçildi. Patellar tendona ulaşıldı. Patalla laterala devriye edilecek şekilde S insizyon ile patellar tendon kesildi. Patella laterala devrildi. Femur medial kondiline 0,8mm Kirschner teli kullanılarak, önceden hesaplanmış minimal hasar boyutu olan kondilin %10-%20 arasında olacak şekilde 1 adet kırıkda lezyonu oluşturuldu. Lezyonun subkondral kemiği de içerek şekilde olmasına özen gösterildi.



**Şekil 23:**Paramedian insizyon



**Şekil 24:**Cilt cilt altı insizyonu



**Şekil 25:**Ratın distal femuru, diz eklemi



**Şekil 26:**Sag diz femoral kondiller





**Şekil 27:**Sağ diz rat mikro kırık işlemi yapılırken



**Şekil 28:**Mikro kırık sonrasında oluşturulan kıkırdak lezyonu

#### 4.2.1 Mikrokırık Grubu

8 adet ratın dahil olduğu grupta 1.gün mikrokırık cerrahi prosedürü uygulandı. Mikrokırık yapıldıktan sonra kanama kontrolü yapıp patellar tendon onarıldı. Cilt ve cilt altı onarımı emilebilen ve polietilen süturlar ile yapıldı. Ardından pansuman yapıldı. Hayvanların sularına profilaktik olarak 100ml suya 0,1ml sulfametazin eklendi. 1 ay sonunda mikrokırık grubundaki 4 denek hayvanına aynı cerrahi anestezi prosedürü uygulanarak indüksiyon sağlandı. İndüksiyon sonrasında hasta HADYЕК ilkelerine uygun şekilde sakrifiye edildi. Eski insizyonlar kullanılarak diz eklemine ulaşılıp femur kondilleri total olarak eksize edildi ve histopatolojik olarak hazırlanmak üzere yumuşak dokularından ayrıldı. Geriye kalan 4 hayvan ise aynı işlem sırası uygulanarak 2.ayın sonunda sakrifiye edildi ve doku örnekleri histopatolojik inceleme için ayrıldı. Her iki işlem sırasında hayvanlardan kan örnekleride biyokimya tüplerine alınarak uygun şartlarda saklandı.



**Şekil 29:**Sakrifiye edilmiş ratın femur kondil eksizyon materyali

#### 4.2.2 Hyaluronik Asit Grubu

8 adet ratın dahil olduğu grupta 1.gün aynı anestezi ve cerrahi prosedür uygulandı. Bu gruptaki ratların patellar tendonları onarılıp ciltaltı doku kapatıldıktan sonra hyaluronik asit enjeksiyonu uygulandı. Hyaluronik asit (hyaluronic acid sodium 20.21mg/ml ph:6.7 OSM 312 particle size:0,4 swellbility:13,9 Taic bdde vestigita microgram/gr:0.53 protein content  $\leq$ %0.1 intracellular toxin: $\leq$ 0.5 EU/ML ) saf olarak akıcı bir formda temin edildiği için enjektabl olarak uygulanmasında herhangi bir sıkıntı yaşanmadı. Yaptığımız literatür araştırmaları sonucunda rat dizleri için yapılmış deneylerde sitotoksik dozun 2.4ml olduğu tespit edildi. Bu gruptaki her ratın dizine 0,4ml saf hyaluronik asit enjekte edildi. 1.ayın sonunda klasik anestezi ve cerrahi prosedürü izleyerek 4 ratı sakrifiye edildi. Femur kondillerini histopatolojik inceleme için ayrıldı. 2.ayın sonunda geriye kalan 4 rata aynı işlemi uygulandı.



**Şekil 30:** İnsülin enjektörü içerisinde %10 dilüe edilmiş 0,4ml hyaluronik asit



#### 4.2.3 Tip 2 Kollajen Grubu

Bu gruba dahil 8 ratın hepsine 1.gün sırasıyla anesteszi prosedürü uygulanıp indüksiyon sağlanıp arkasından mikrokırık cerrahisi yapıldı. Kanama kontrolü yapıldıktan sonra patellar tendon onarılmadan toz halinde bulunan Tip 2 Kollajen hassas farmakolojik tartıda ölçümleri yapılarak diz içine 30 mikrogram uygulandı. İlaç uygulanmasından sonra patellar tendon onarılıp cilt cilt altı onarıldı. 1.ayın sonunda 4 rat, 2.ayın sonunda 4 rat anestezi indüksiyonu sonrası sakrifiye edilerek femur kondilleri eksize edildi. Histopatolojik inceleme için ayrıldı.



Şekil 31:Tip 2 Kollajen su, asit ve yağ içinde santrifüj yardımı ile çözünme işlemleri



**Şekil 32:**Hassas farmakolojik terazi yardımı ile Tip 2 Kollajen ölçümü



**Şekil 33:**Tip 2 kollajen uygulama dozu 30 mikrogram

#### 4.2.4 Kombine Grup

Bu grupta bulunan 8 ratın hepsine klasik anestezi ve cerrahi prosedürü uygulandı. Hayvanların sağ dizlerine tip 2 kollajen ve hyaluronik asit uygulandı. 1.ayın sonunda 4 rat sakrifiye edilerek femur kondil eksize edildi örneklemek için ayrıldı. Aynı şekilde 2.ay sonunda sakrifikasyon gerçekleştirilerek örnekler alındı.



**Şekil 34:**Kombine grup 1.ay sonunda femur distal total eksizyon materyali

#### 4.3 Histopatolojik İnceleme

Sakrifiye edilen ratlardan alınan total femur eksizyon materyalleri laboratuvara transport edilmek için formaldehit solüsyonuna alındı. Laboratuvara alınan kemik örnekleri %3 Nitrik asitte dekalsifiye edildikten sonra %10 Nötral formalinde fikse edildi. 7 günlük fiksasyon sonrası örnekler otomatik doku takip cihazı (Leica TP1020) histolojik olarak takip edildi ve parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 µ kalınlıkta kesitler lam üstüne alındı ve genel kemik dokusu özelliklerini ve bağ doku yapılanması ve Tip 2 kollajeni ayrıntılı olarak değerlendirebilmek için Van Gieson boyaması ile boyandı ve ışık mikroskobu (Nikon E-600) ile değerlendirildi.

Değerlendirme sürecinde kırık bölgesinde kırık oluşumu ve tamir kalitesi klasik kırık doku tamiri kriterleri olan O'Driscoll ve Modified Mankin değerlendirmeleri (veya sınıflamaları) ile değerlendirildi. Değerlendirme sürecinde aşağıda yazılı kriterler kullanıldı.

**Tablo II:**Mankin ve O'Driscoll kriterleri

|                               |
|-------------------------------|
| <b><u>Modified Mankin</u></b> |
| Morfoloji                     |
| Yüzey Düzenliliği             |
| Komşu Bağlanma                |
| Hücre Popülasyonu             |
| Kırık Tıkaç Kalitesi          |
| <b><u>O'Driscoll</u></b>      |
| Morfoloji                     |
| Matrix                        |
| Yüzey Düzenliliği             |
| Yapısal Bütünlük              |
| Kalınlık/Yara Dolma           |
| OsteoKondral Bağlanma         |
| Komsu Bağlanma                |
| Hücre Yoğunluğu               |
| Kümeleşme Dağılımı            |

Yukarıda yazılı kriterlerin değerlendirilmesinde kriterlerin tümünde aynı skora uygulanmıştır.



Eğer kritere ait hiçbir değişim yoksa “0” (“sıfır”)

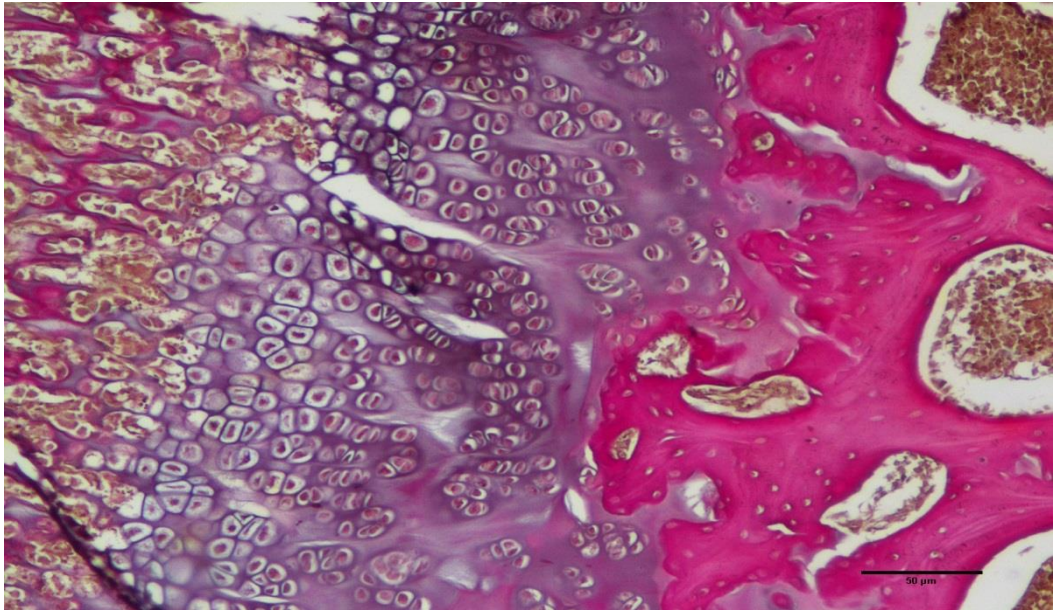
Eğer kritere ait hafif olumlu yönde değişim varsa “1”

Eğer kritere ait olumlu yönde değişim varsa “2”

Eğer kritere ait belirgin derecede olumlu yönde değişim varsa “3”

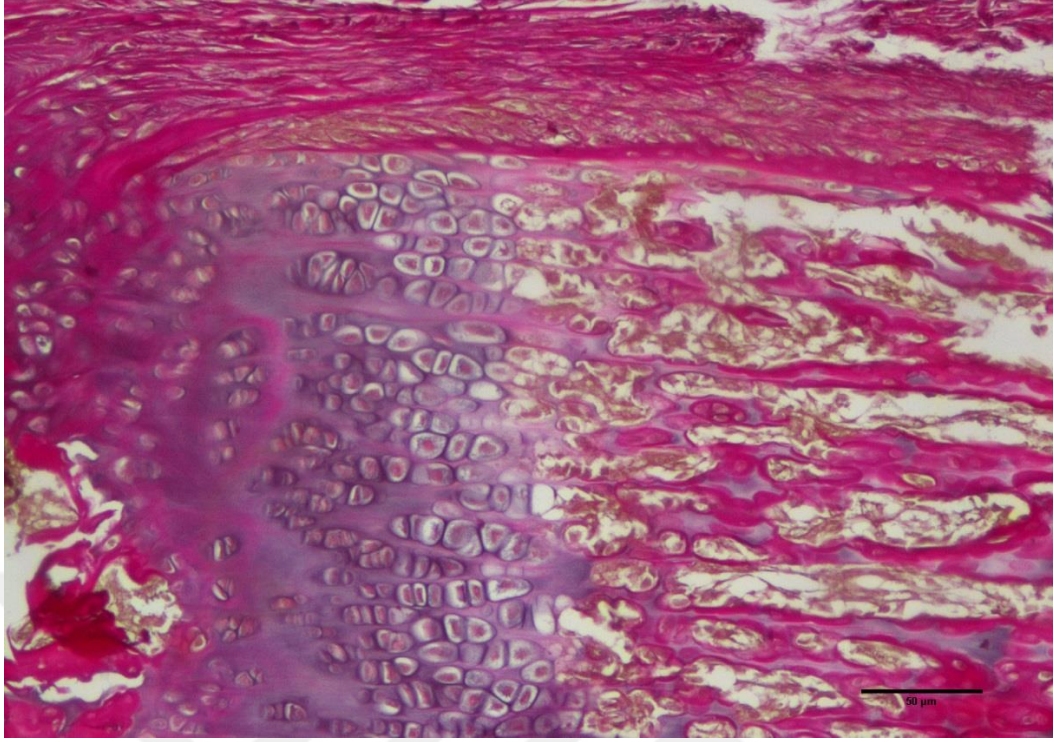
Eğer kritere ait çok belirgin derecede olumlu yönde değişim varsa “4”

Her gruba ait kesitlerin tamamı ayrı ayrı ışık mikroskop altında değerlendirilerek skorlandı. Skorlama için kesitlerin farklı bölgelerinden 10 alanda x10 objektif büyütme altında her bir kriter ayrı ayrı hesaplama yapıldı. Skorlama sonunda her parametre için sayılan değerlerin ortalamaları her grup için ayrı ayrı olacak şekilde alındı. O’Driscoll sınıflaması için kullanılan 9 parametreye ve Modified Mankin sınıflaması için kullanılan 5 parametreye ait değerlerin ortalamaları gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Grupların değerleri arasında istatistiksel farklılığın tespiti amacıyla One Way ANOVA istatistiksel analiz testi uygulandı. Değerlendirme için SPSS for Windows 23.0 istatistiksel analiz programı uygulandı.

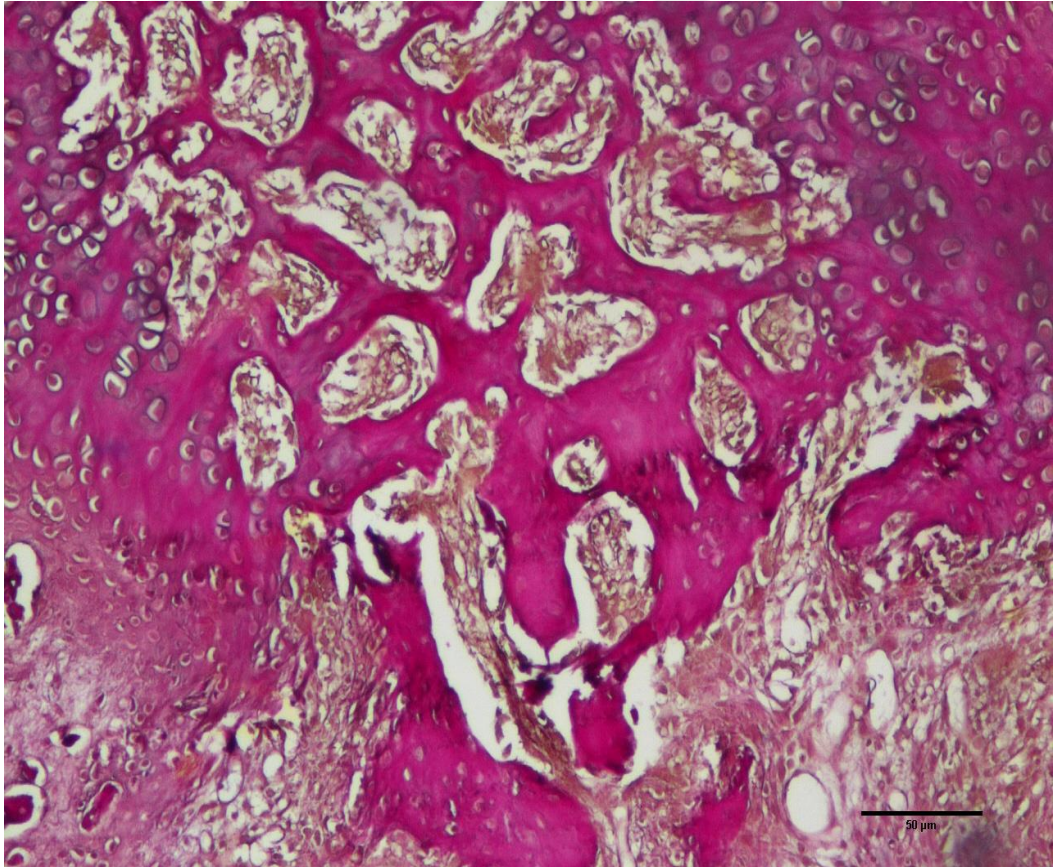


**Şekil 35:**Hyaluronik Asit enjekte edilen femur distal mikroskopisi 1.ay



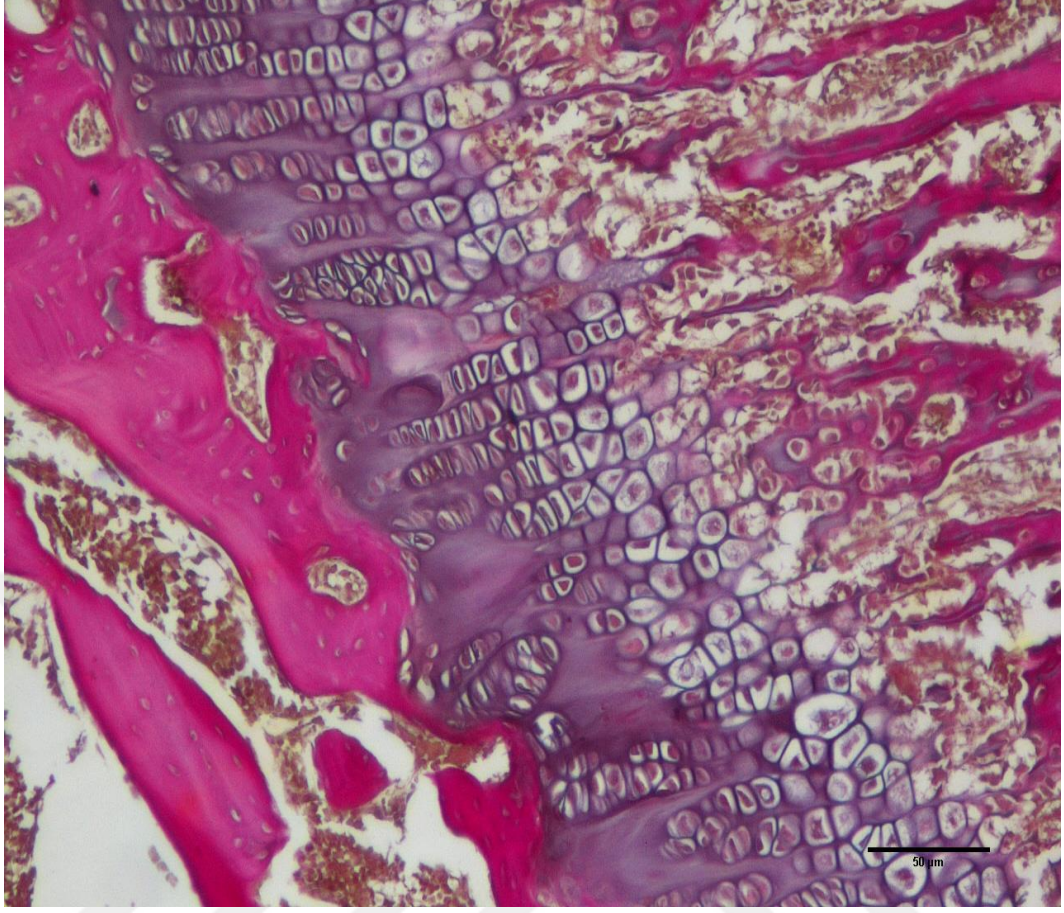


Şekil 36: Mikrokırık grubu femur distal mikroskopisi 1.ay



Şekil 37:Tip 2 kollajen uygulanan femur distal mikroskopisi 1.ay



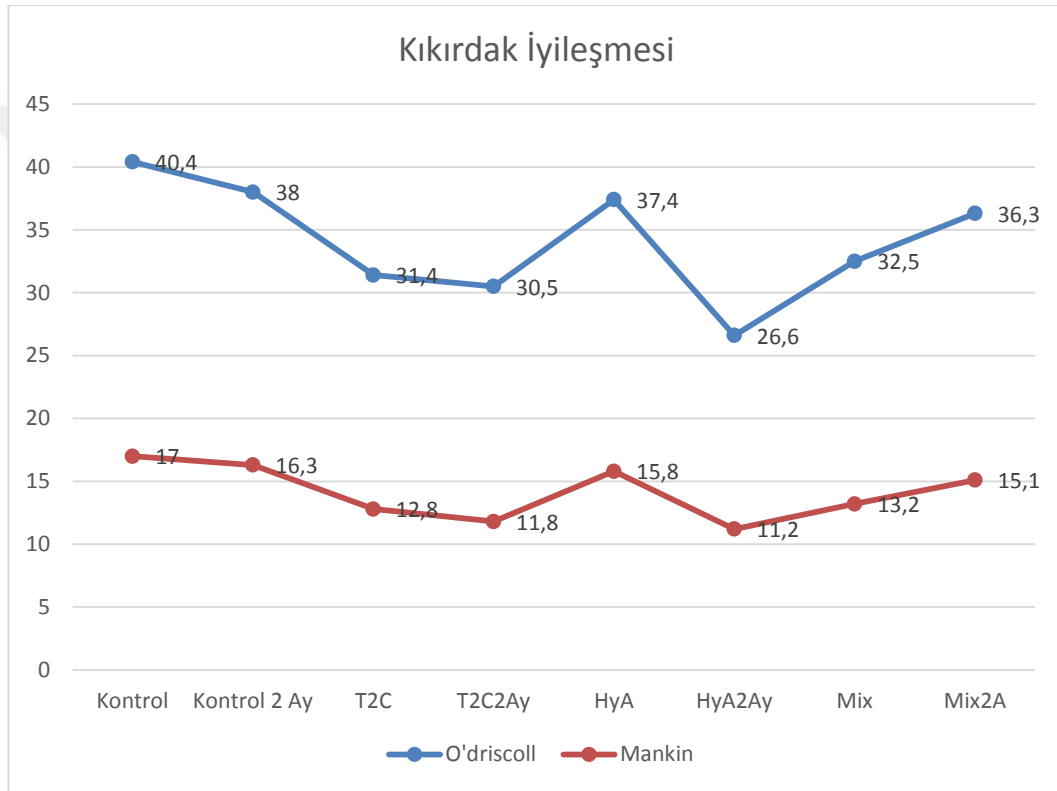


Şekil 38:Kombine uygulanan femur distal mikroskopisi 1.ay

## V. BULGULAR

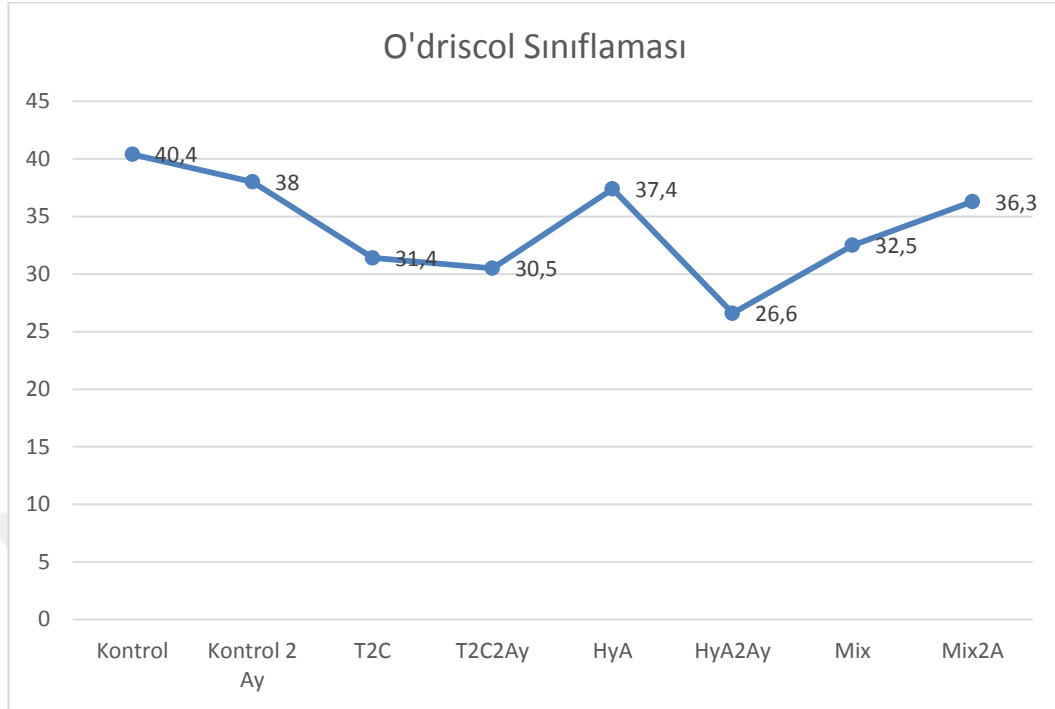
Her grup için elde edilen değerler hem O'Dricoll hem de Mankin sınıflandırmasında birbirlerine simetrik bir eğri çizmekteydi ki bu elde edilen sonuçların ve metodolojinin doğruluğunu kanıtlar nitelikte bir bulguydu.

**Tablo III:**Mankin ve O'Driscoll sınıflama karşılaştırması

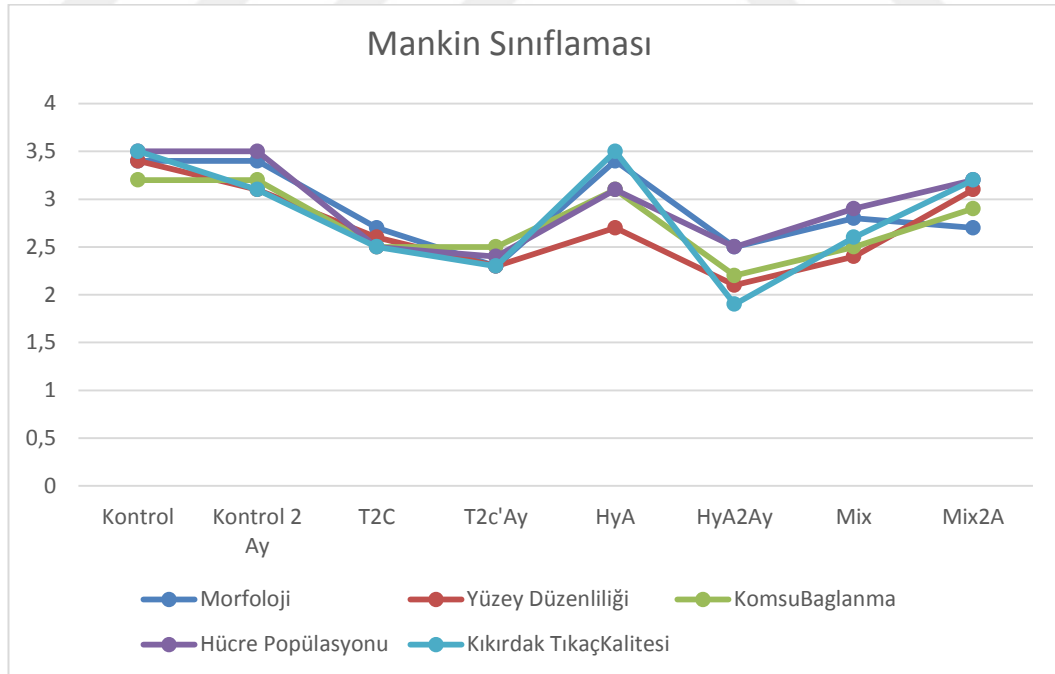


Tablo-III'te görüldüğü üzere yapılan değerlendirmede HA grubundaki iyileşmenin ve sonrasında Kombine 2Ay grubundaki iyileşmenin mikrokırık grubu değerlerine çok yakın olduğu gözlemlendi. İlginç olarak HA 2Ay grubunda iyileşmenin diğer gruplara göre çok düşük düzeyde olduğu tespit edildi. Bu durum HA'nın akut etkisinin daha belirgin olduğunu ve uzun süreli ek doz gerekliliğini ortaya koymuştur. Diğer yandan Kombine grubunda ve Kombine 2Ay grubunda değerlerin yüksek olduğu ve Kombine 2Ay grubunda Kombine grubuna göre daha fazla artış olması doza bağımlı uzun süreli tedavide olumlu yönde iyileşme olarak değerlendirildi.

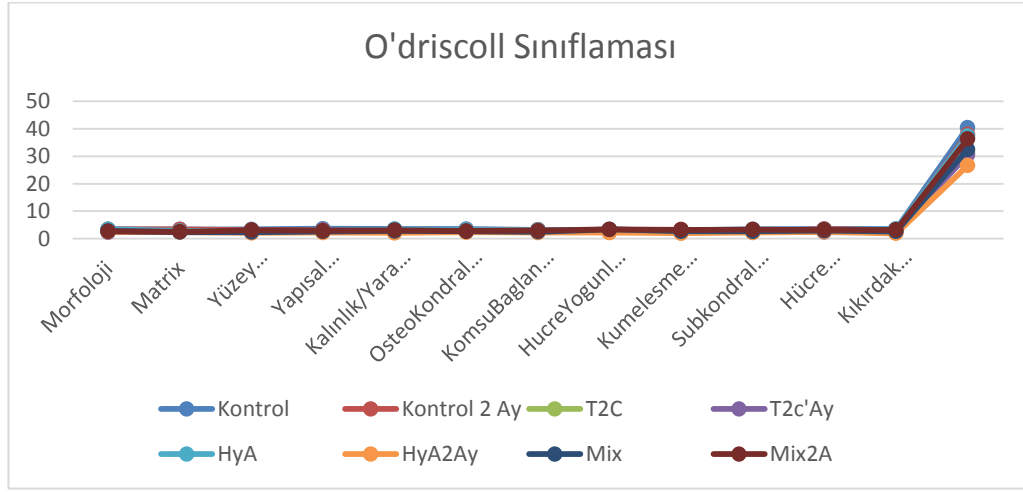
**Tablo IV:**O'Driscoll gruplara göre alınan puanları



**Tablo V:** Mankin sınıflamasına göre grupların aldığı puanlar



**Tablo VI:**O'Driscoll sınıflama kriterlerinin puanları



**Tablo VII:**O'Driscoll sınıflama toplam puanlar

**O'DRİSCOLL SINIFLAMASI**

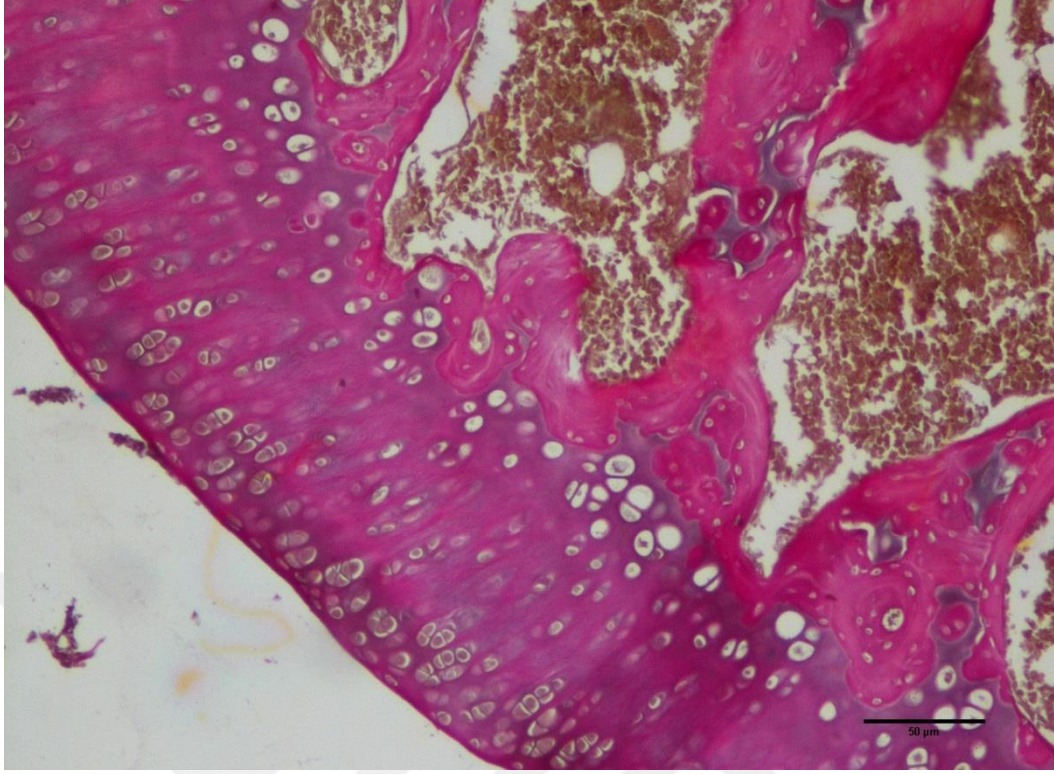
|                        | Mikrokınk<br>1. Ay | Mikrokınk<br>2. Ay | Tip2Kollaje<br>n 1. Ay | Tip2Kollajen<br>2. Ay | Hyaluranik<br>Asit 1. Ay | Hyaluronik<br>Asit 2.Ay | Mix<br>1.Ay | Mix<br>2.Ay |
|------------------------|--------------------|--------------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------|-------------|-------------|
| Morfoloji              | 3,4                | 3,4                | 2,7                    | 2,3                   | 3,4                      | 2,5                     | 2,8         | 2,7         |
| Matrix                 | 3,3                | 3,4                | 2,6                    | 2,5                   | 2,8                      | 2,4                     | 2,4         | 2,5         |
| Yüzey Düzenliliği      | 3,4                | 3,1                | 2,6                    | 2,3                   | 2,7                      | 2,1                     | 2,4         | 3,1         |
| Yapısal Bütünlük       | 3,6                | 3,1                | 2,4                    | 3                     | 2,9                      | 2,2                     | 2,6         | 2,9         |
| Kalınlık/Yara Dolma    | 3,5                | 3,1                | 2,9                    | 2,9                   | 3,3                      | 2,1                     | 2,8         | 3,1         |
| OsteoKondralBaglanma   | 3,5                | 3,2                | 2,8                    | 2,7                   | 3,2                      | 2,3                     | 2,7         | 2,8         |
| KomsuBaglanma          | 3,2                | 3,2                | 2,5                    | 2,5                   | 3,1                      | 2,2                     | 2,5         | 2,9         |
| HücreYogunlugu         | 3                  | 3                  | 2,6                    | 2,4                   | 3,2                      | 2,2                     | 3,4         | 3,4         |
| Kumelesme Dağılımı     | 3,1                | 3,3                | 2,5                    | 2,5                   | 3                        | 2                       | 2,7         | 3,2         |
| Subkondral Kemik       | 3,4                | 2,6                | 2,8                    | 2,7                   | 3,2                      | 2,2                     | 2,7         | 3,3         |
| Hücre Popülasyonu      | 3,5                | 3,5                | 2,5                    | 2,4                   | 3,1                      | 2,5                     | 2,9         | 3,2         |
| Kıkırdak TıkaçKalitesi | 3,5                | 3,1                | 2,5                    | 2,3                   | 3,5                      | 1,9                     | 2,6         | 3,2         |
|                        | 40,4               | 38                 | 31,4                   | 30,5                  | 37,4                     | 26,6                    | 32,5        | 36,3        |

**Tablo VIII:**Mankin sınıflaması toplam puanları

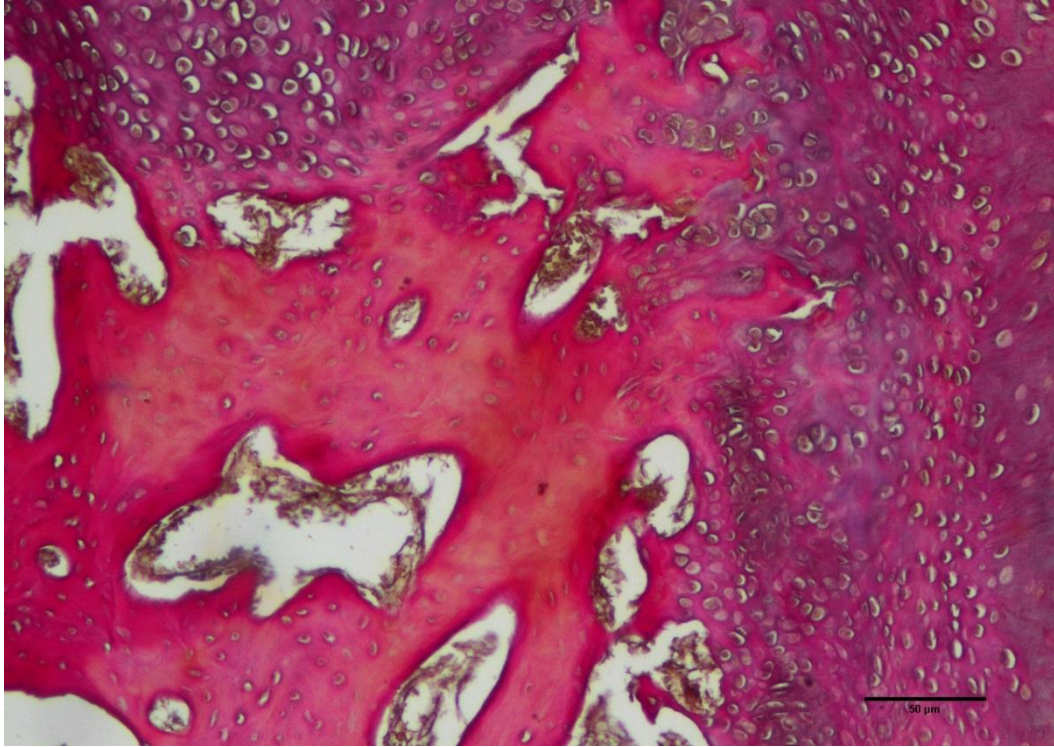
**MANKİN SINIFLAMASI**

|                               | Mikrokırık<br>1.Ay | Mikrokırık<br>2.Ay | Tip2Kollajen<br>1.Ay | Tip2Kollajen<br>2.Ay | Hyaluronik<br>Asit 1.Ay | Hyaluronik<br>Asit 2.Ay | Mix<br>1.Ay | Mix<br>2.Ay |
|-------------------------------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------|-------------|
| Morfoloji                     | 3,4                | 3,4                | 2,7                  | 2,3                  | 3,4                     | 2,5                     | 2,8         | 2,7         |
| Yüzey<br>Düzenliliği          | 3,4                | 3,1                | 2,6                  | 2,3                  | 2,7                     | 2,1                     | 2,4         | 3,1         |
| Komsu<br>Baglanma             | 3,2                | 3,2                | 2,5                  | 2,5                  | 3,1                     | 2,2                     | 2,5         | 2,9         |
| Hücre<br>Popülasyonu          | 3,5                | 3,5                | 2,5                  | 2,4                  | 3,1                     | 2,5                     | 2,9         | 3,2         |
| Kıkırdak<br>Tıkaç<br>Kalitesi | 3,5                | 3,1                | 2,5                  | 2,3                  | 3,5                     | 1,9                     | 2,6         | 3,2         |
|                               | 17                 | 16,3               | 12,8                 | 11,8                 | 15,8                    | 11,2                    | 13,2        | 15,1        |



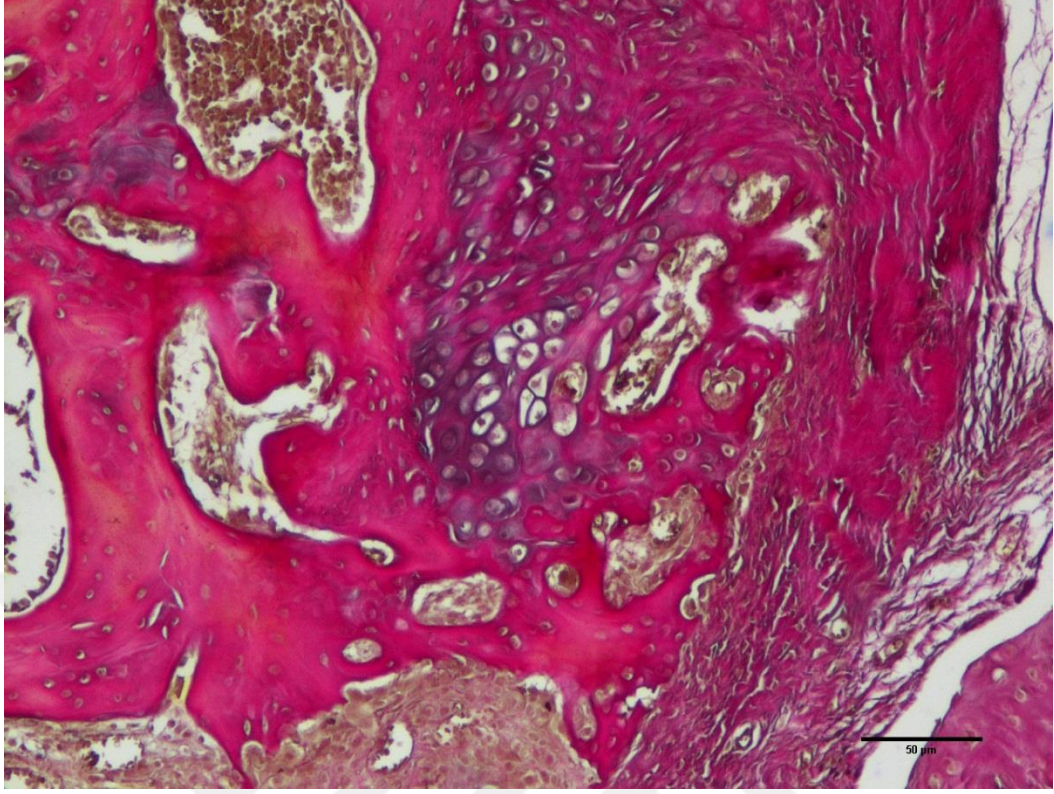


**Şekil 39:**Mikrokırık grubu 2.ay mikroskopisi, femur distal

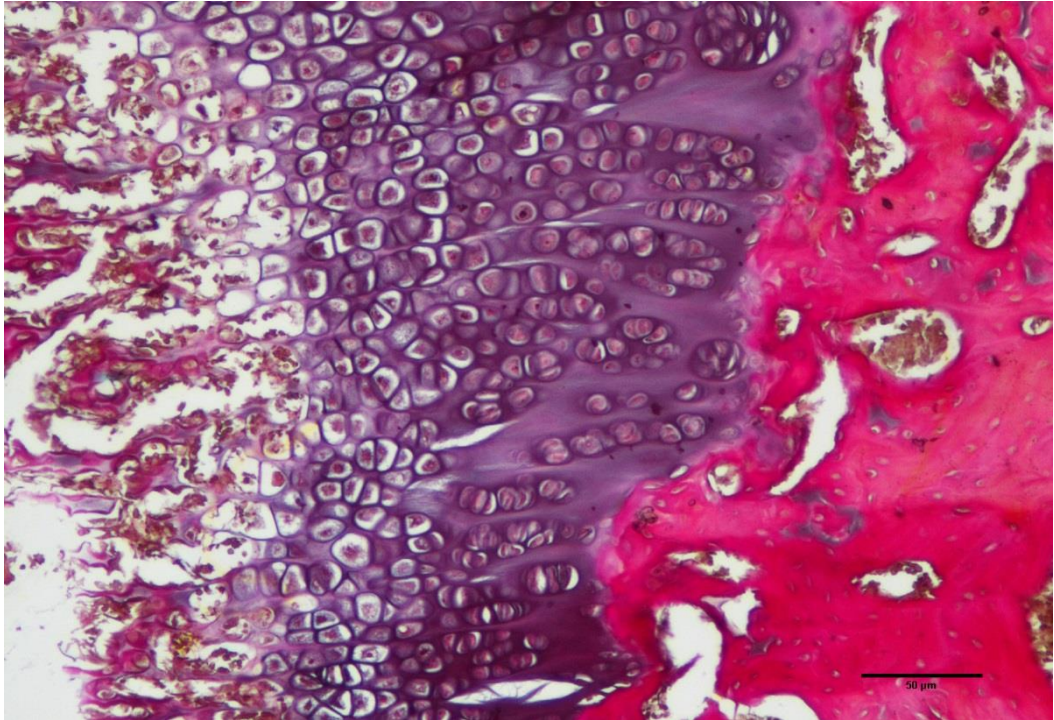


**Şekil 40:**Hyaluronik asit grubu 2.ay mikroskopisi, femur distal



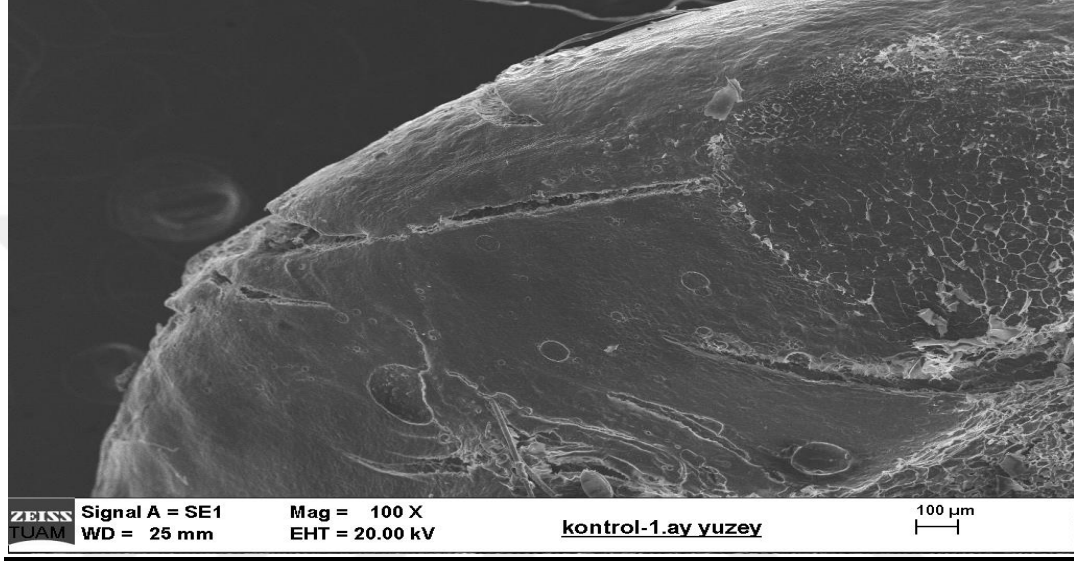


Şekil 41:Tip 2 kollajen grubu 2.ay mikroskopisi, femur distal

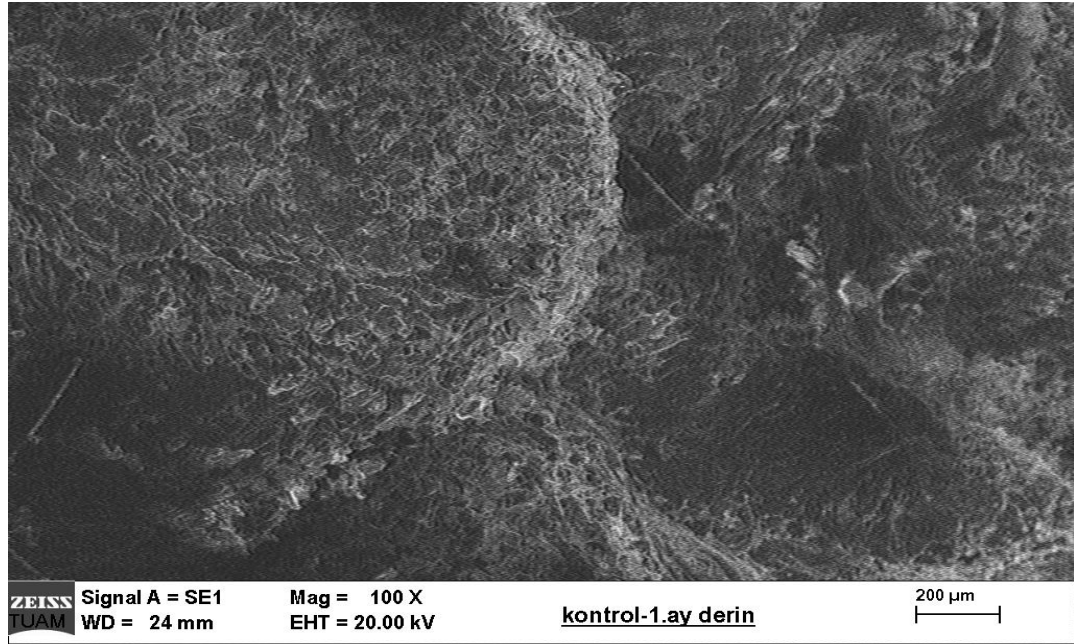


Şekil 42:Kombine grup 2.ay mikroskopisi, femur distal

Bütün gruplardaki dizlerin histopatolojik incelemesi sonrasında örnekler elektron mikroskopisi altında incelendi. Her gruptaki lezyonun eklem yüzeyinde kapandığı görüldü. Ancak iyileşme dokusu aynı değildi. Özellikle subkondral doku ve tidemark bölgeleri incelendiğinde kombin grubun diğer üç gruba nazaran daha iyi olduğu görüldü.

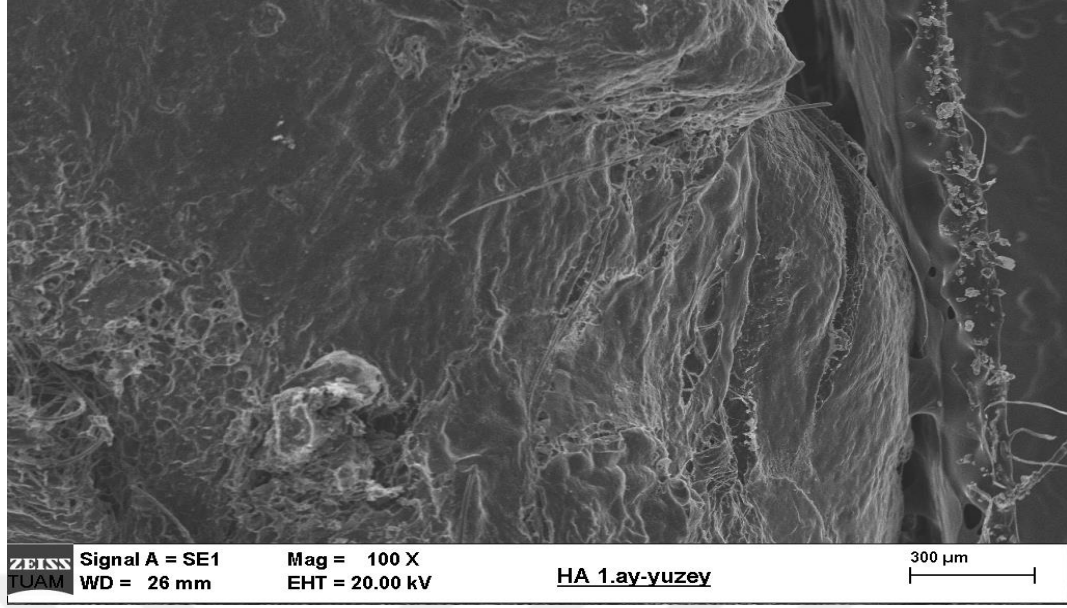


Şekil 43:Elektron mikroskopisi mikrokırık grubu 1.ay eklem yüzey görüntüsü

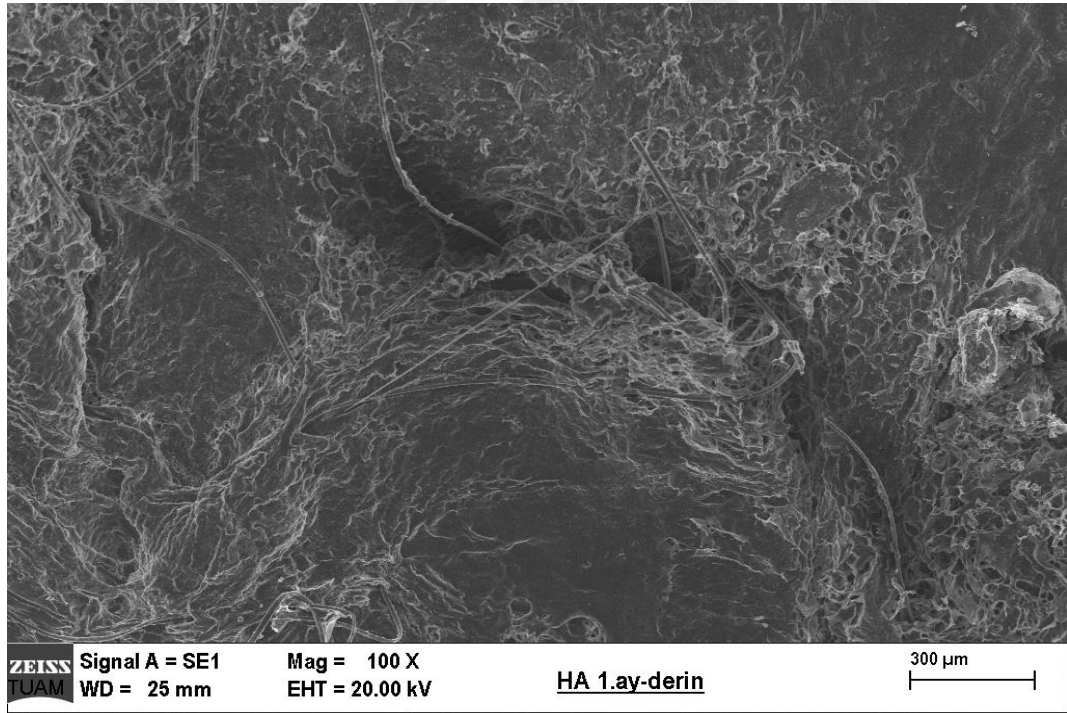


Şekil 44:SEM mikrokırık grubu 1.ay subkondral alan ve tidemark görüntüsü

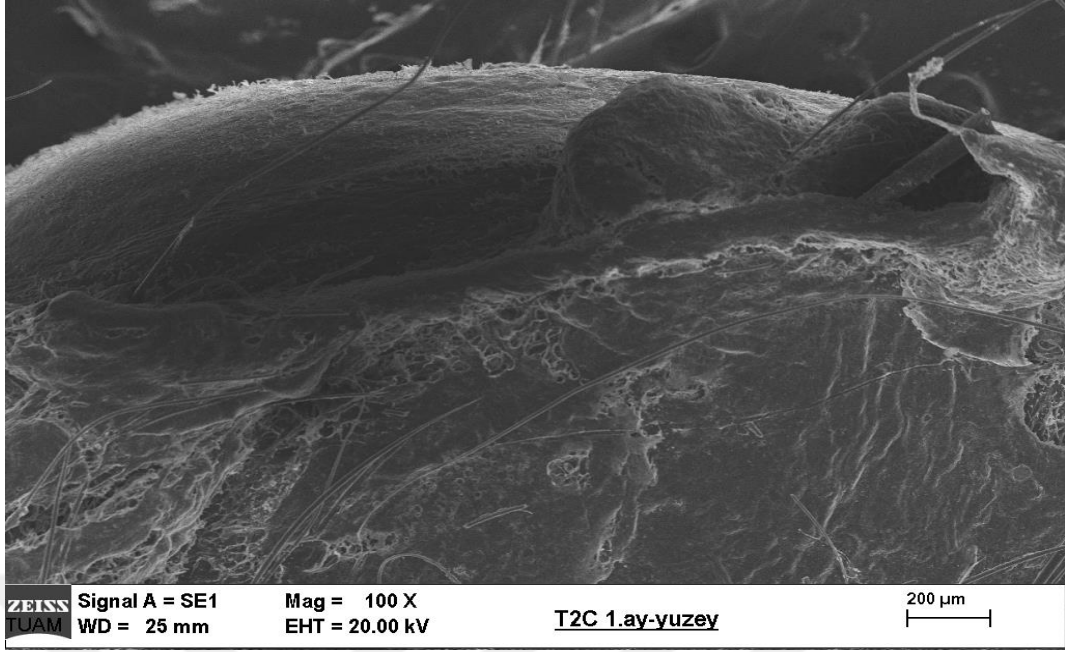




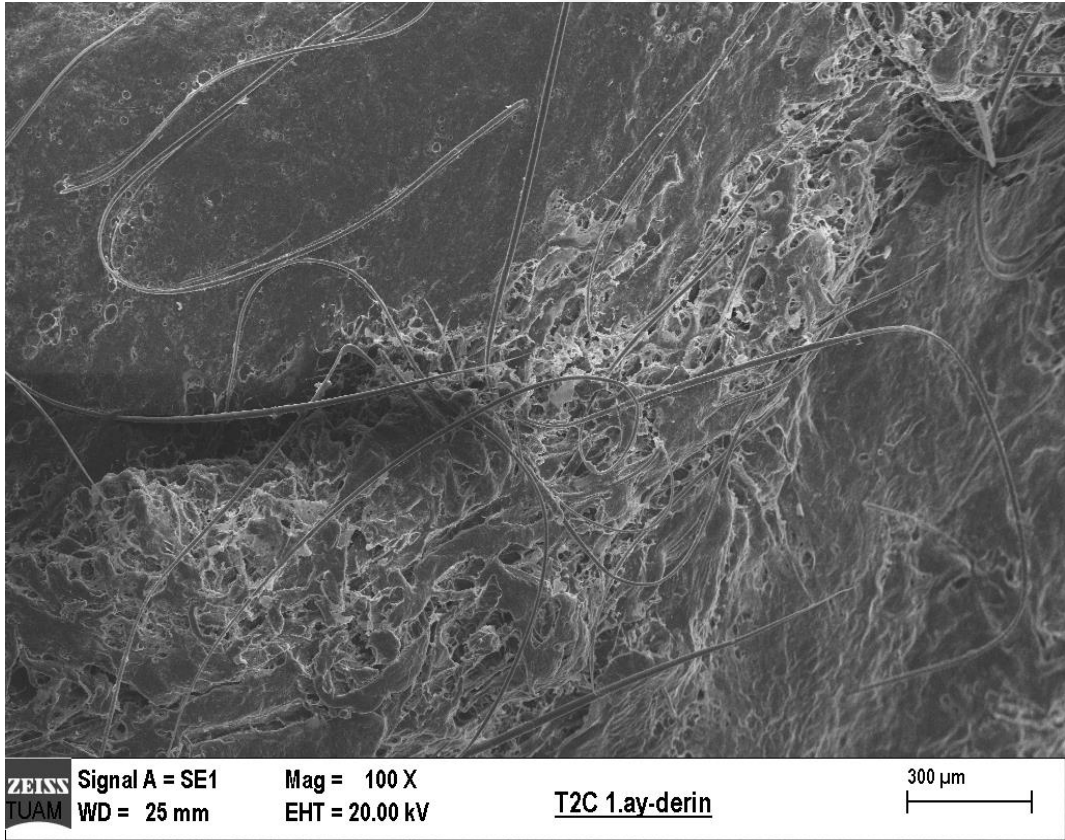
Şekil 45: SEM HA grubu 1.ay eklem yüzey görüntüsü



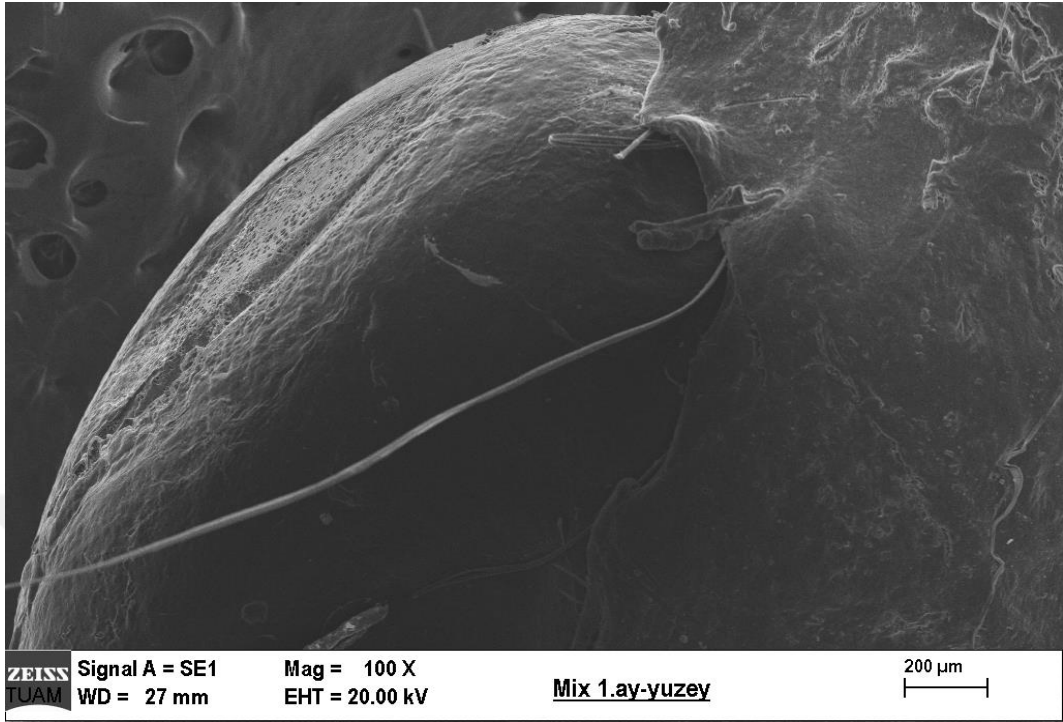
Şekil 46: SEM HA grubu 1.ay subkondral alan ve tidemark görüntüsü



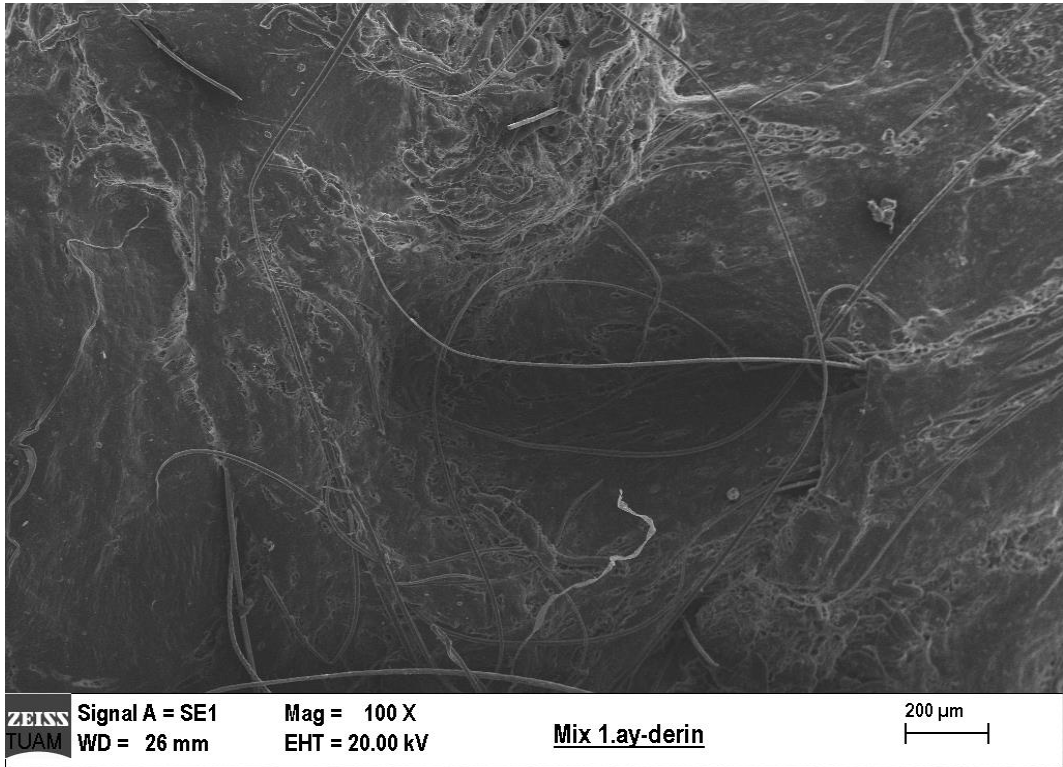
Şekil 47:SEM T2C grubu 1.ay eklem yüzeyi



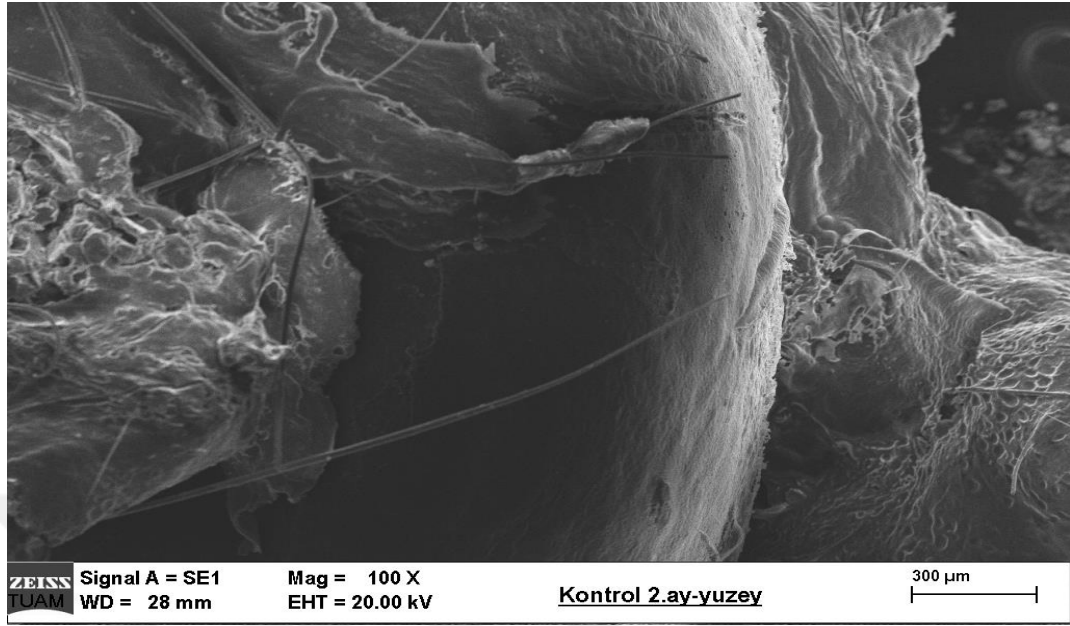
Şekil 48:SEM T2C 1.ay subkondral bölge görüntüsü



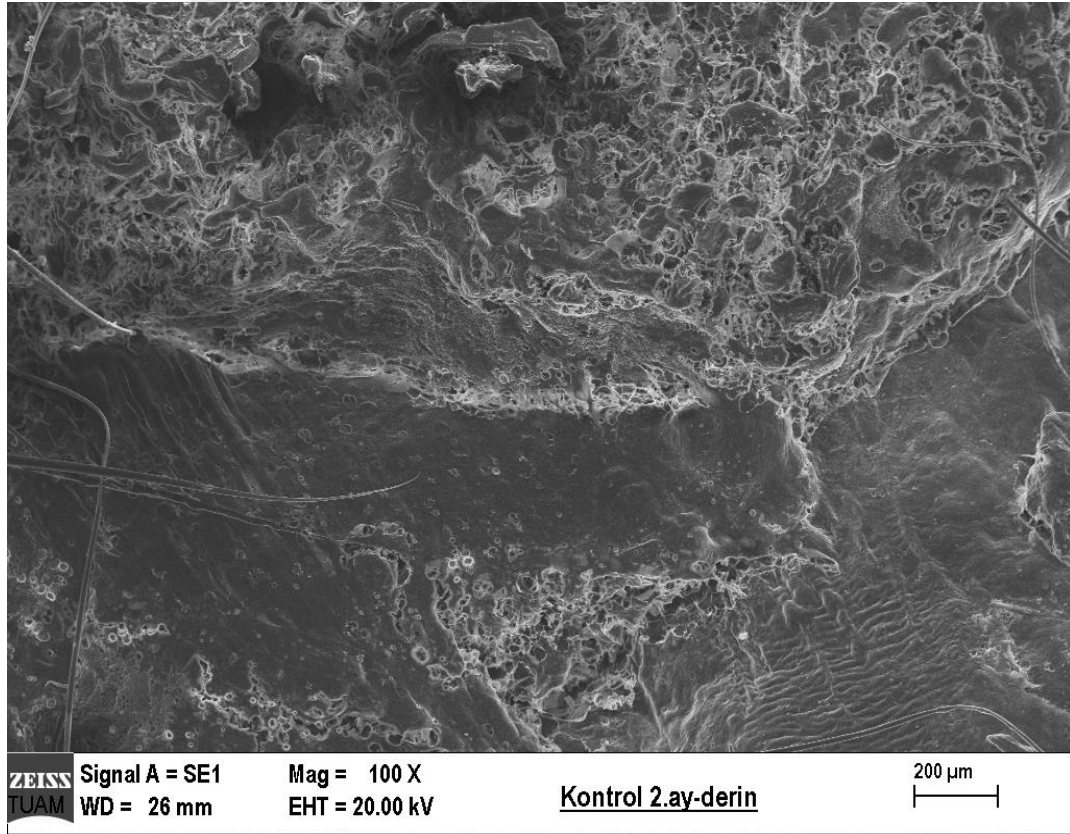
Şekil 49 SEM kombine grup 1.ay eklem yüzeyi



Şekil 50:SEM kombine grup 1.ay subkondral alan ve tidemark

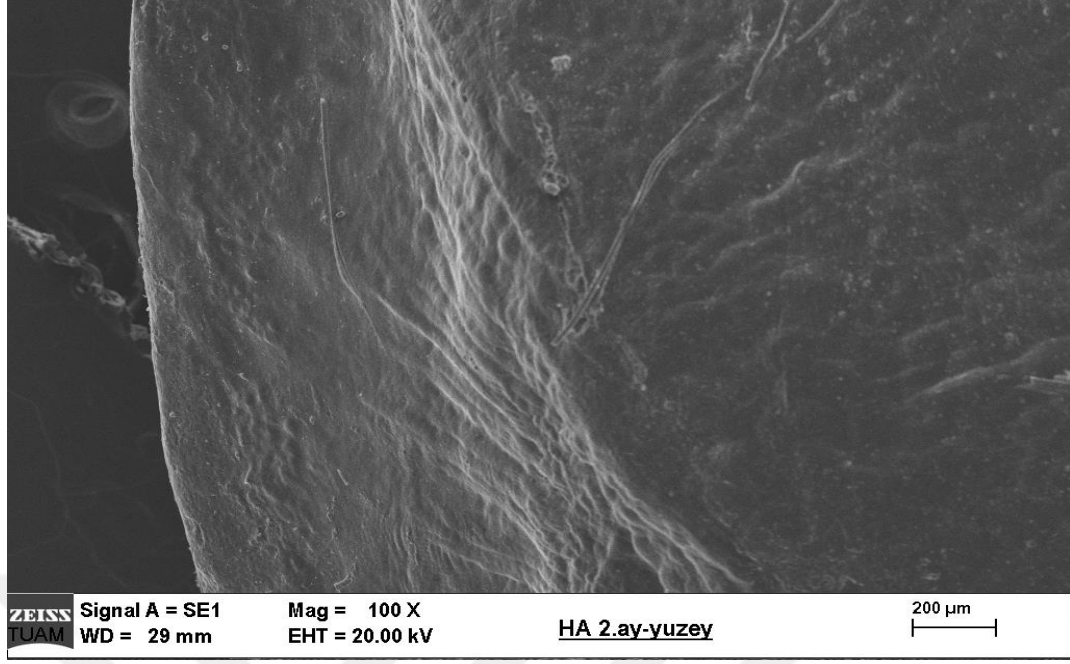


Şekil 51:SEM mikrokırık grubu 2.ay eklem yüzeyi

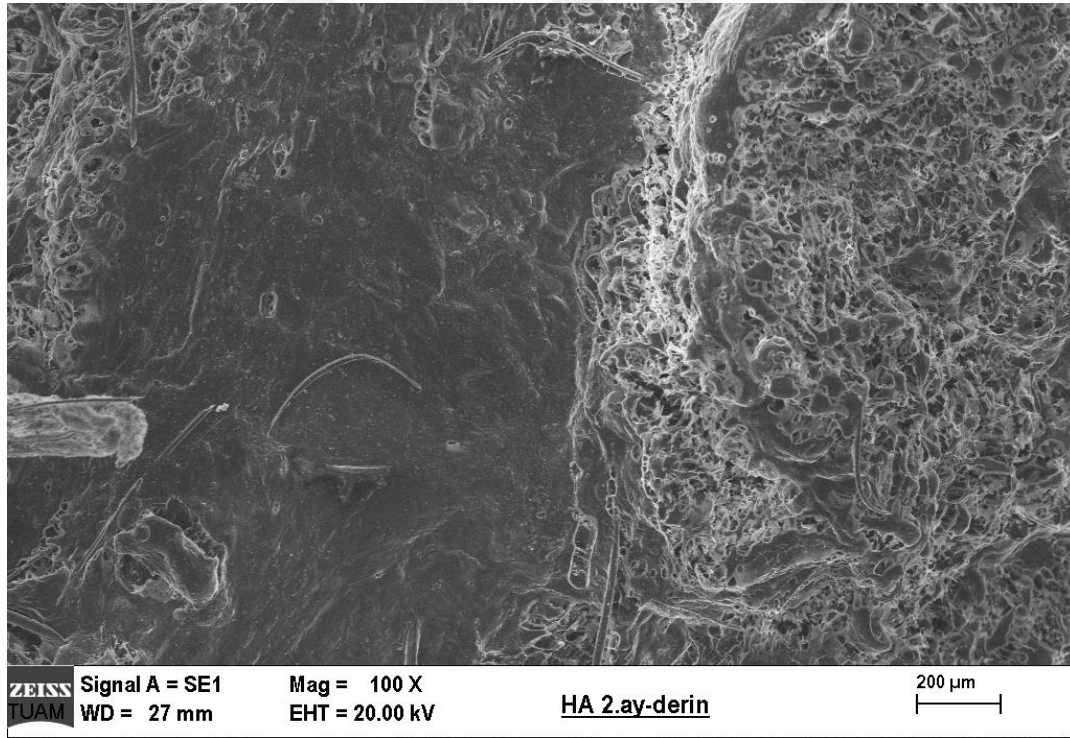


Şekil 52 :SEM mikrokırık grubu 2.ay subkondral alan



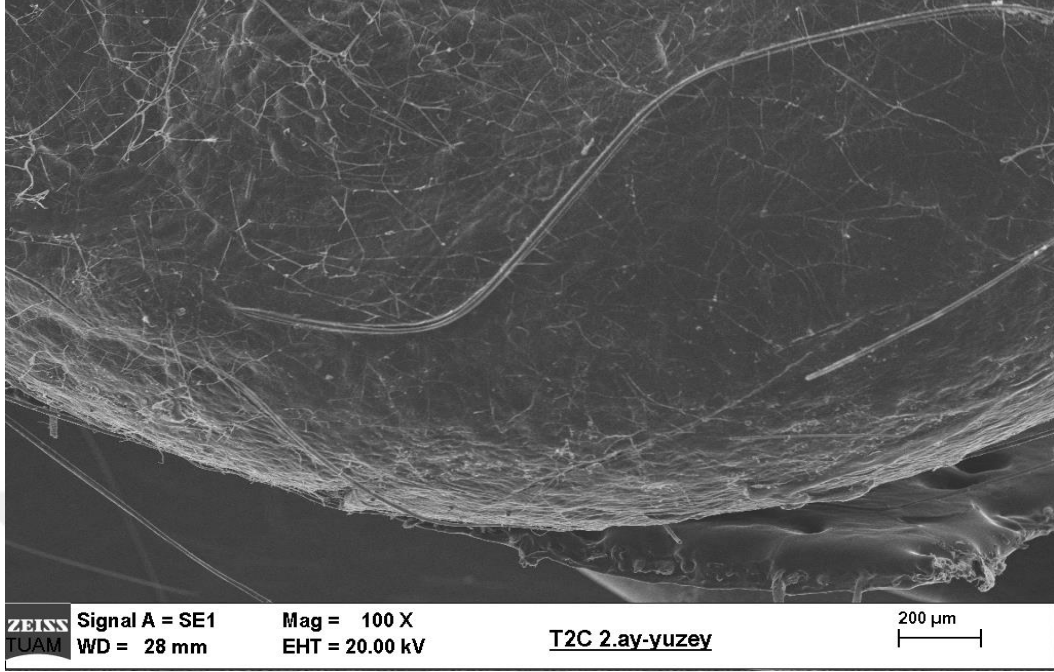


Şekil 53: SEM HA grubu 2.ay eklem yüzeyi

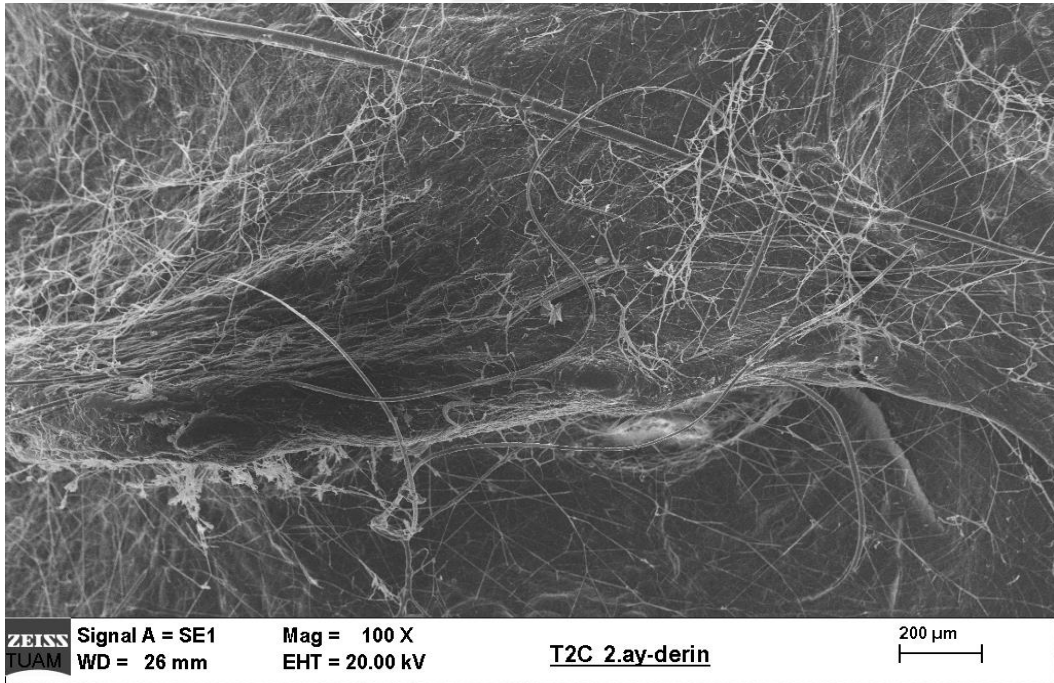


Şekil 54: SEM HA grubu 2.ay subkondral alan

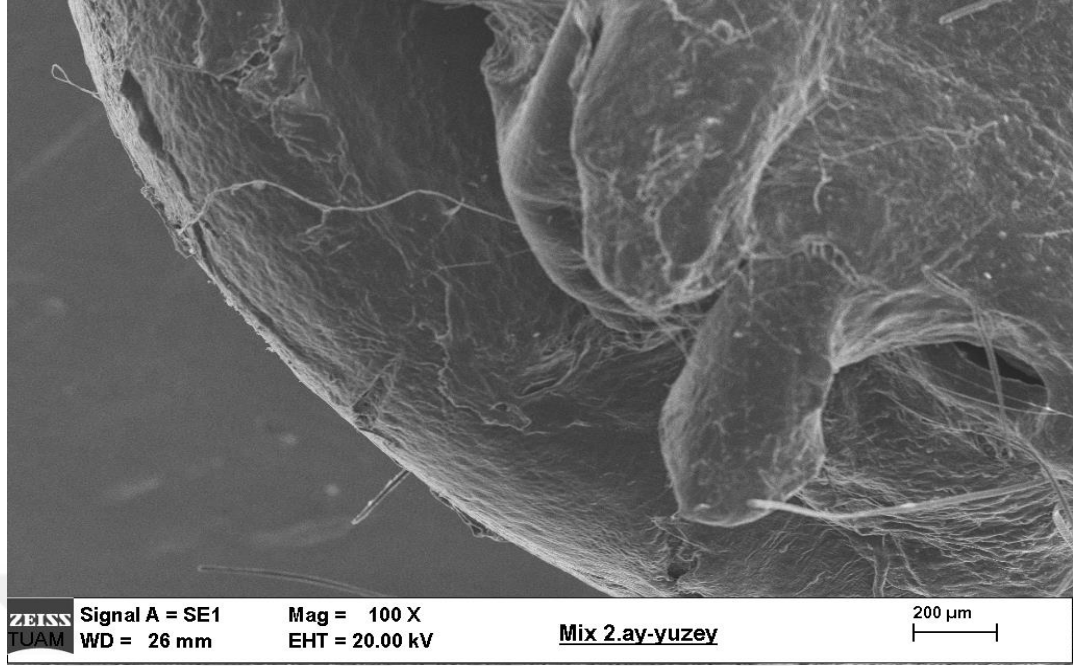




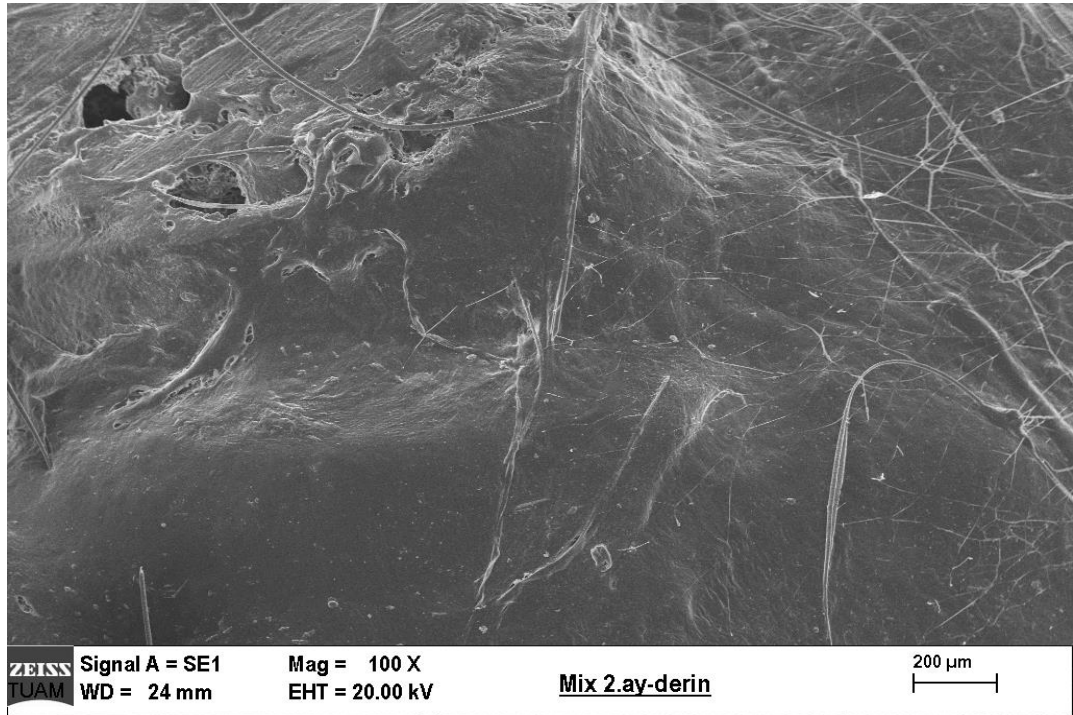
Şekil 55:SEM T2C grubu 2.ay eklem yüzeyi



Şekil 56:SEM T2C grubu 2.ay subkondral alan



Şekil 57:SEM kombine grup 2.ay eklem yüzeyi

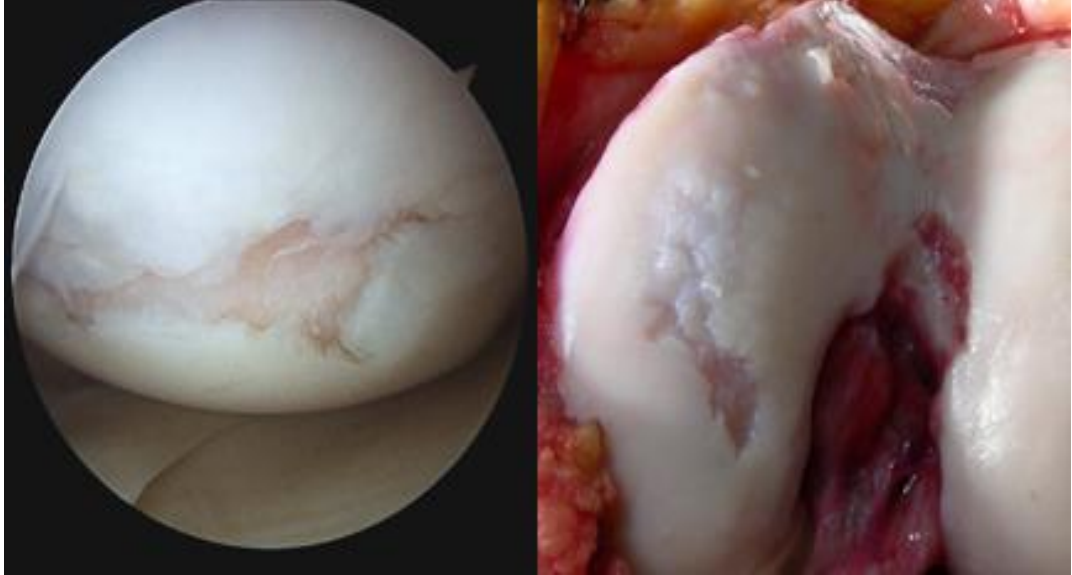


Şekil 58: SEM kombine grup 2.ay subkondral alan

## VI. TARTIŞMA

Kıkırdak doku avasküler, anöral ve hücresel yoğunluğu düşük bir doku olması nedeniyle lezyonlara verdiği cevap oldukça zayıftır. Kondrosit olarak cevap oluşturabilmesine rağmen lezyonun ilerlemesine engel olunamaz. Primer iyileşme sağlanamaz, travmaların hasara dönüşmesi tam olarak engellenemez(77).

Etyolojisi farketmeksizin meydana gelen defekt ya hiç iyileşmez ya da fibrotik doku ile yeri kapatılır. Fibrokartilaj ile mekanik olarak iyileşme sağlanmış ancak fonksiyonel kayıp oluşur(78). Fonksiyonel kaybın nedeni iyileşme dokusunda meydana gelen fibrokartilajın tip 1 kollajen içermesidir. Hyalin kıkırdak asıl olarak tip 2 kollajen ihtiva eder. Tip 1 kollajen eklemin kayganlık, esneklik ve elastikiyet özelliğini kazandıramaz; mekanik aşınma kaçınılmaz sonuç olarak karşımıza çıkar(79). Kıkırdak dokunun bu kısıtlı kapasitesi hücrelerin hasara yanıt cevabının incelenmesi konusunda araştırma odakları olmuştur.



**Şekil 59:**Hasarlı kartilajın fibrokartilaj ile iyileşmesi ( Cartilage Repair Center, 2015 )

Kıkırdak doku lezyonunun tedavi seçeneklerinden otolog kondrosit implantasyonunun allojenik doku kullanılmaması, donör alanda morbid bir lezyon bırakmaması gibi avantajları mevcutken; pahalı olması, iki ayrı cerrahi işlem gerektirmesi, laboratuvar transport işlemi, kıkırdak doku oluşumunun uzun süre alması gibi dezavantajları vardır(55,80). Tek tabakadan oluşan kültürde kondrositler fenotip olarak değişim gösterirler. Homojen dağılım sağlayan hücre süspansiyonunun enjeksiyonu; periost greftinden dışarı çıkarak implantasyon kaybına neden olmaktadır(81). İkinci nesil OKI üç boyutlu biyolojik matrikslerin kullanıldığı yeni bir yöntemdir; implantasyon problemlerinin üstesinden gelmek amacıyla geliştirilmiştir ve klinik kullanımı mevcuttur(82).

Büyüme faktörleri kartilaj doku hasarlarında kullanılacaksa defekt içerisinde tutunmalarını sağlayacak matriks yapılarına ihtiyaç duymaktadır. Yeni oluşacak hücrelerin ve faktörlerin tutunması amacıyla fibrin, karbon fiber, kollajen, polilaktik asit, kemik matriks ve benzeri çok sayıda biyolojik matriks kullanılmıştır(83). Optimum matriksten beklenen implantasyon gerçekleşene kadar geçici bir destek katman sağlayabilmesidir. Ekstrasellüler matriks kondrositler tarafından sentez edilmeye başladığı zaman ise biyolojik matriksin kaybolması beklenir. Optimum matriks sitotoksik olmamalı, pro-inflamatuar etki yaratmamalıdır. Biyolojik matriks olarak tip 1 kollajen kullanıldığında fibroblastik hücreleri uyarak fibröz ara madde üretimini arttırmaktadır. Tip 2 kollajen kullanıldığında kondroblastların metabolik aktivitesini uyarak polimerik amino-glikan'ların sentezini arttırmaktadır. Tip 2 kollajen sayesinde normal eklem kıkırdak yapısında olan ve bir glikoz-amino-glikan olan hyaluronik asit deriveleri daha fazla sentezlenir ki; bu da eklem yüzey iyileşmesinde önemli bir pozitif etkidir(84). Yaptığımız çalışmada tip 2 kollajenin bu özelliğinden yararlanmak amaçlandı.

Eklemi oluşturan kıkırdak dokunun bir çok katmanında tip 2 kollajen yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Yapısal olarak kıkırdak doku lezyonlarında kilit rol oynamaktadır. Kıkırdak dokunun tensil gücünün, elastikiyetinin, mekanik sertliğinin sağlanmasında majör rol oynar. Kıkırdak doku lezyonlarında

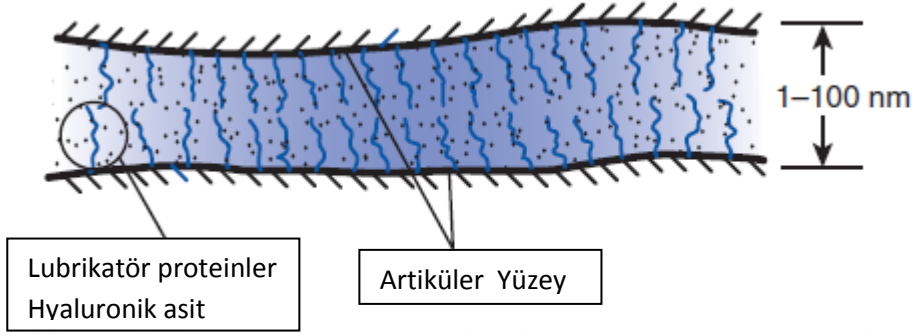
patofizyolojinin temellerinden birisi de tip 2 kollajen yapı ağının hasarlı olmasıdır. Anabolizma ve katabolizma arasındaki dengenin bozulması ve yıkımının artması ile tip 2 kollajen yıkım ürünlerine eklem ve syonivaya geçer. Katabolik maddeler eklem içinde pro-inflamatuar etki göstererek zaten mevcut olan hasarın hızlı birşekilde ilerlemesine neden olur(85). Yaptığımız çalışmada eklem kıkırdak hasarı olan bölgede katabolik etkiyi azaltmak ve yıkılan tip 2 kollajenin yerini doldurabilmek amacıyla dizde tip 2 kollajen konsantrasyonunu artırıldı. Bu sayede tedaviye destek olmanın yanı sıra ilerleyici olan eklem hasarını da durdurmak amaçlandı.



**Şekil 60:**Kondrosit Metabolizması ( Cell Tissue Res. 2003)

Hyaluronik asit eklem kartilajında synoviyal sıvının nötralizasyonunu sağlayarak kıkırdak yıkım ürünlerinin katabolik etkilerine karşı koyar (tip 2 kollajene benzer bir özellik olarak). Aynı zamanda yıkım gerçekleşmiş bölgede tamir aşamasında rejenerasyonun artmasında önemli rol oynar(34,86). Hyaluronik asitin analjezik ve anti-inflamatuar etkilerinin olduğu bilinmektedir. Gotoh ve Ghosh yaptıkları farklı iki hayvan deneyinde hyaluronik asidi diz içi enjeksiyon

olarak uygulamışlar. Hyaluronik asidin iki fazlı etki yarattığı gösterilmiştir. Akut dönemde lubrikasyon sağlar, uzun dönemde ise kıkırdak doku katabolizmasını engelleyici, protektif etki gösterir(86,87).



**Şekil 61:**Eklem yüzeyinde hyaluronik asit (Clinical Orthopedics Research , 1997)

Hyaluronik asitin travmlarda şok absorpsiyonu sağladığı ve mekanik olarak da eklem yüzeyini koruduğu Schiavinato'nun yaptığı çalışmalarla gösterilmiştir(88). Travmatik kartilaj doku lezyonlarında hyaluronik asit enjeksiyonu ile iyi sonuçlar alındığı bildirilmiştir, ve bu etkisinin yüzey koruyucu özelliğinden kaynaklandığı öne sürülmüştür(88). Leardini yaptığı çalışmada ön çapraz bağı rüptüre edilen hayvanlarda intraartiküler hyaluronik asit uygulanması ile artrit oluşturulmuş. Sonrasında oluşan artrit modelinin iyileşmesinde hyaluronik asidin yararlı olduğu gösterilmiştir(89). Yaptığımız çalışmada travmanın etkilerini revers olarak etkilemesini beklediğimiz hyaluronik asit tek ve tip 2 kollajen ile kombine kullanıldı.

Masif kıkırdak lezyonu olan hastalarda cerrahi tedavi seçenekleri ön plana çıkarken, henüz yeni başlayan ancak tedavi gerektiren hastalarda diz içi enjeksiyonların önemli bir yeri vardır(90). Hyaluronik asit enjeksiyonları her zaman aynı düzeyde etki göstermemekle birlikte klinik amaç ağrıyı gidermek ve hareket kapasitesini arttırmaktır. Histopatolojik düzeyde ise lezyon kaynaklı açığa çıkan yıkım ürünlerinin meydana getireceği progresif etkiyi engellemek, kıkırdak yüzey rejenerasyonuna destek olmaktır(91). Çünkü kıkırdak dokuda ekstrasellüler



matriksi oluşturan asıl yapılardan biri proteoglikanlardır. Proteoglikanlardaki kayıp hem kondrosit sentezini hemde kondrositlerin metabolizmasını yavaşlatır. Eklemde en önemli sayılacak proteoglikan da hyaluronik asittir. HA synoviyal sıvının yapısında bulunur ve elastikiyet sağlar(92). Sürtünme etkisini azaltarak lubrikasyonu sağlar. Synovial sıvının viskoelastik yapısını belirleyen HA'nın miktarı ve molekül ağırlıdır(93). Hyaluronik asitin proteoglikanların sentezinin arttırdığı, ekstrasellüler matriksin yıkımını azalttığı gösterilmiştir(94). Hyaluronik asitin protektif etkilerinin metalloproteinaz enzim inhibisyonu yapmasına bağlanmaktadır(95). HA bu etkisini CD 44 reseptörleri ile etkileşime girerek gösterir. Synovial sıvıda HA TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar bir sitokin sentezini azaltıp etkisini düşürür, ki bu sayede antiinflamatuvar özellik gösterdiği ve eklemde protektif olduğu gösterilmiştir(96). Ratların dizinde lezyon sonrası hyaluronik asit miktarını yüksek tutmak için enjeksiyon uygulandı, yaptığımız çalışmada hyaluronik asitin bu özelliğinden faydalanma amaçlandı.

Hyaluronik asit diz içi enjeksiyonda radyoaktif olarak işaretlenip bakıldığında 2 saat içinde synovial sıvıda görülüp, 6.saatte kartilaj dokuya geçmektedir. Drenajı lenfatik sistemde 4.günden sonra görülmemektedir(97). Fakat hyaluronik asitin etkilerinin daha uzun sürdüğü bilinmektedir, ki bu da biyolojik etkilerinin farklı yollardan olduğunu düşündürmektedir. Yaptığımız çalışmada tek doz hyaluronik asit uygulamamızın nedenlerinden biri bu biyolojik etkisidir<sup>92</sup>. Yüksek molekül ağırlıklı hyaluronik asit deriveleri eklemde daha uzun süre kalabilmektedir. Ayrıca pozitif feed-back mekanizması ile hyaluronik asit kendi sentezini uyarmaktadır(98).

Hayvan deneylerinde yapılan çalışmalarda hatrı sayılır düzeyde hyaluronik asit kullanılmıştır. Kikuchi, Shimizu ve Yoshioka'nın yaptığı üç ayrı çalışmada tavşanlarda ön çapraz bağ kesilerek kıkırdak lezyon modeli oluşturulmuş, HA enjeksiyonu yapılan dizlerde synoviya ve kıkırdağın histolojik değerlendirilmesi yapılarak kıkırdak kalınlığı ve kalitesinin pozitif yönde etkilendiği sonucuna varılmıştır(98,99,100). Başka bir çalışmada menisektomi yapılan ratların dizlerine HA uygulanarak kıkırdak doku üzerindeki etkileri incelenmiş ve pozitif etki görülmüştür, özellikle remodellingi arttırdığı gösterilmiştir(101).

Hyaluronik asit enjeksiyonu ile ilgili yapılan Kanada merkezli klinik çalışmada 458 diz kullanılmış. Hastaların yaş ortalaması 65, tedavi sonrası 26 haftalık takip mevcutmuş. Klinik yanıt olarak %77 oranında iyileşme görülmüş. Aynı hastalara 8.ay ikinci doz enjeksiyon uygulanarak tedavi sonuçlarının %84'e çıktığı görülmüştür(102).

Yaptığımız çalışmada ratların dizlerinde oluşturulan kıkırdak lezyonlarının iyileşmesini takip ettik. 4 grubun histopatolojik olarak incelemelerinde Mankin ve O'Driscoll kriterlerini kullandık. Mikrokırık grubu ile kombine grubun iyileşme düzeyleri birbirlerine yakın olduğu görüldü. Tek başına hyaluronik asit enjekte edilen grup ile tek başına tip 2 kollajen uygulanan dizlerde iyileşme düzeylerinin yetersiz, çoğunlukla skar dokusu ile hasarın kapandığı görüldü. Her iki biyomolekülün birlikte uygulandığı kombine grubun iyileşme oranın yüksek ve hyalin kıkırdak dokusuna yakın bir doku ile lezyonların kapandığı görüldü. Mankin ve O'Driscoll puanlamasında da en iyi skora sahip olan kombine grup olduğu görüldü.

Hyaluronik asitin tek başına uygulandığı ratların dizlerinde 1.ay sonuçlarında iyi skorlar elde edilip, 2.ay incemelerinde puanların düşmesi akut dönemdeki iyileşmenin devamı için tek başına hyaluronik asitin yetmediği yönünde yorumlandı.

## VII. SONUÇ

Ortopedik kıkırdak lezyon tedavileri son dönemde ilgi çekici hale gelmiştir. Cerrahi öncesi tedaviler, cerrahi girişimler ve doku mühendisliği yoğun olarak kullanılmaktadır. Ancak tedavi seçeneklerinden hiçbiri yüzde yüz sonuç elde edememiştir.

Yaptığımız bu çalışmada daha çok cerrahi öncesinde kullanılan diz içi enjeksiyon materyali olan hyaluronik asiti tip 2 kollajen ile kombine ederek tedavi sonuçlarını gözlemle amaçlandı. Diz içi enjeksiyonlardan farklı olarak bu çalışmada kıkırdak lezyonları oluşturuldu. Kıkırdak lezyonu tekniği olarak mikrokırık yönteminin seçilmesinin nedeni hem lezyon oluşturulup hem de iyileşme kaskadını uyarmaktır. Subkondral kemik dahil olmak üzere hasar meydana getirilmesi iyileşme uyarılmasını tetiklemek için uygun bir girişim planı oldu. Arkasından enjeksiyonlar uygulandı ve uygun kriterlerle sahip histopatolojik inceleme yapıldı.

Yapılan incelemelerin sonucunda kıkırdak lezyonlarına mikrokırık uygulanmasının, özellikle subkondral kemiğe ulaşılanlarda, en iyi uzun dönem sonuçları verdiği görüldü. İyileşmenin uyarıldığı bu vakalarda hyaluronik asit uygulaması tek başına 1.ayda akut dönemde etkili iken kronik dönemde etkisini sürdürememiştir. Histopatolojik sonuçları yeterli olarak bulunmadı. Sadece tip 2 kollajen uygulanması da yeterli iyileşme sağlayamamıştır. Her iki biyomolekülün birlikte uygulandığı kombine grup daha iyi sonuç vererek histopatolojik olarak kıkırdak dokuya yakın iyileşme sağladığı görüldü.

Çalışmamızdan çıkarılacak sonuç olarak son dönemde yaygın olarak kullanılan hyaluronik asitin tek başına kullanılmasının yerine tip 2 kollajen ile kombine edilerek kullanılması, yeni çalışmaların önünü açması için değerli olduğu ön görülebilir. Ayrıca kıkırdak hasarlarında mikrokırık uygulanmasının diğer tedavi seçenekleri ile kombine kullanılması daha iyi sonuçlar alınabileceğini

düşündürebilir. Kıkırdak iyileşmesinde multifaktöryel etkilerin ve çok sayıda biyolojik kaskadların etkili olduğu akılda tutulmalıdır.



## VIII. ÖZET

**Amaç:** Ratların dizlerinde oluşturulan kırıkta lezyonlarına hyaluronik asit ve tip 2 kollajenin tedavi ve iyileşme sürecinde etkilerini incelemek.

**Materyal Metod:** Çalışmada 32 adet wester albino tipi ratın sağ dizleri kullanıldı. Mikrokırık grubu, hyaluronik asit grubu, tip 2 kollajen grubu ve kombine grup olmak üzere 4 gruba 8'er adet rat ayrıldı. Ratların sağ dizlerine paramedian insizyon ile yaklaşıp femur medail kondillerine 0.8mm K teli yardımı ile subkondral kemiği de içeren mikrokırık uygulanıp kırıkta lezyonu oluşturuldu. Mikrokırık grubu tedavi iyileşme takibine bırakıldı. Hyaluronik asit grubuna ilk gün cerrahi sonrası ve tek doz olarak 0,4ml HA enjeksiyonu uygulandı. tip 2 kollajen grubuna ilk gün tek doz olarak 30mikrogram T2C uygulandı. kombine gruba HA ve T2C birlikte uygulandı. 1.ayın sonunda her gruptan 4 hayvan sakrifiye edilip sağ distal femur eksize edildi ve histopatolojik inceleme için laboratuvara gönderildi. Geriye kalan deney hayvanları 2.ay sonunda sakrifiye edilerek aynı işlem uygulandı. Laboratuvara alınan kemik örnekleri %3 Nitrik asitte dekalsifiye edildikten sonra %10 Nötral formalinde fikse edildi. 7 günlük fiksasyon sonrası örnekler otomatik doku takip cihazı (Leica TP1020) histolojik olarak takip edildi ve parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 µ kalınlıkta kesitler lam üstüne alındı ve genel kemik dokusu özelliklerini ve bağ doku yapılanması ve Tip 2 kollajeni ayrıntılı olarak değerlendirebilmek için Van Gieson boyaması ile boyandı ve ışık mikroskobu (Nikon E-600) ile değerlendirildi. Değerlendirme sürecinde kırık bölgesinde kırıkta oluşumu ve tamir kalitesi klasik kırıkta doku tamiri kriterleri olan O'Driscoll ve Modified Mankin değerlendirmeleri (veya sınıflamaları) ile değerlendirildi. Değerlendirme sürecinde aşağıda yazılı kriterler kullanıldı. Grupların değerleri arasında istatistiksel farklılığın tespiti amacıyla One Way ANOVA istatistiksel analiz testi uygulandı. Değerlendirme için SPSS for Windows 23.0 istatistiksel analiz programı uygulandı

**Bulgular:** Her grup için elde edilen değerler hem O'Dricoll hem de Mankin sınıflandırmasında birbirlerine simetrik bir eğri çizmekteydi ki bu elde edilen sonuçların ve metodolojinin doğruluğunu kanıtlar nitelikte bir bulguydu. HA grubundaki iyileşmenin ve sonrasında Kombine 2Ay grubundaki iyileşmenin mikrokırık grubu değerlerine çok yakın olduğu gözlemlendi. İlginç olarak HA 2Ay grubunda iyileşmenin diğer gruplara göre çok düşük düzeyde olduğu tespit edildi. Bu durum HA'nın akut etkisinin daha belirgin olduğunu ve uzun süreli kullanımında ek doz gerekliliğini ortaya koymuştur. Diğer yandan Kombine grubunda ve Kombine 2Ay grubunda değerlerin yüksek olduğu ve Kombine 2Ay grubunda Kombine grubuna göre daha fazla artış olması doza bağımlı uzun süreli tedavide olumlu yönde iyileşme olarak değerlendirildi.

**Sonuç:** Çalışmamızdan çıkarılacak sonuç olarak son dönemde yaygın olarak kullanılan HA'nın tek başına kullanılmasının yerine T2C ile kombine edilerek kullanılması yeni çalışmaların önünü açması için değerli olduğu ön görülebilir. Ayrıca kırık hasarlarında mikrokırık uygulanmasının diğer tedavi seçenekleri ile kombine kullanılması daha iyi sonuçlar alınabileceğini düşündürebilir. Kırık iyileşmesinde multifaktöryel etkilerin ve çok sayıda biyolojik kaskadların etkili olduğu akılda tutulmalıdır



## IX. SUMMARY

**Abstract:** Investigation of effect of hyaluronic acid and type 2 collagen therapy and recovery duration in cartilage lesions of rat knees

**Material method:** Right knee of 32 wester albino species rats were used in study. 32 rats were divided into 4 groups with each count was 8. Group names were: microfracture, hyaluronic acid, type 2 collagen and Combined. Microfracture was done by 0.8mm k wires to both cartilage and subchondral bone of medial condyle in right knees of rats with paramedian incision approach. The Microfracture Group were left to recovery follow up. Single dose of 0.4 ml HA intraarticular injection was done following surgery in Hyaluronic Acid Group. Single dose of 30 microgram T2C intraarticular injection was done following surgery in Type 2 Collagen Group. T2C and HA were together applied in Combined Group. In the end of first month 4 rats from each group were sacrificed. Distal femur of them were excised and sent to lab for histopathological examination. Rats who were left were also sacrificed in the end of second month for the same application. The bone specimens were fixed in %10 neutral formalin after decalcification with %3 nitric acid in lab. After 7 days of fixation specimens were histologically followed up with Leica TP1020 automatic tissue follow up device and then buried into paraffin. 5  $\mu$  width cut sections from paraffin were applied onto thin plates. In order to detailed evaluation of bone, connective tissue and type 2 collagen they were stained by Van Gieson's method and investigated under light microscope Nikon E-600. The recovery quality and cartilage formation in fracture site were evaluated by classic cartilage tissue recovery classifications of O'Driscoll and Modified Mankin in evaluation process. In evaluation process the written criterias were used as follows. One Way ANOVA statistical analysis test were applied to determine the statistical differences between group values. 'SPSS for Windows 23.0' statistical analysis program was applied for evaluation.

**Results:** The values obtained for each group were symmetrical to each other in both O'Driscoll and the Mankin classifications, which was evidence of the results and the validity of the methodology. It was observed that the healing in the HA group and in the Combined 2month group were very close to the values of the Microfracture group. Interestingly, the healing in HA 2 month group was found to be very low in comparison to other groups. This indicates the acute effect of HA is more prominent and demonstrates the necessity of additional doses in long term therapies. In the other hand, higher values in the combined group and in the combined 2month group and more increase in the combined 2month group than in the combined group were evaluated as improvement in the positive direction of the continuous dose dependent treatment.

**Conclusion:** As a result of our study, it can be predicted that the use of hyaluronic acid in combination with type 2 collagen instead of hyaluronic acid alone is valuable to open new studies. In addition, the use of microfracture in cartilage damage combined with other treatment options may bring to better results. It should be kept in mind that multifactorial effects and numerous biological cascades are effective in cartilage healing

## X. KAYNAKLAR

1. Lefkoe, T. P. et al. An experimental model of femoral condylar defect leading to osteoarthritis. *Journal. Orthopedic. Trauma* 7, 458–67 (1993).
2. Solchaga, L. A. et al. Repair of osteochondral defects with hyaluronan- and polyester-based scaffolds. *Osteoarthritis. Cartilage* 13, 297–309 (2005).
3. Hunziker, E. B., Lippuner, K., Keel, M. J. B. & Shintani, N. An educational review of cartilage repair: precepts & practice – myths & misconceptions – progress & prospects. *Osteoarthr. Cartil.* 23, 334–350 (2015).
4. Of the structure and disease of articulating cartilages.1743. *Clin Orthop Relat Res.* 317, 3–6 (1995).
5. O'Driscoll, S. W., Salter, R. B. & Keeley, F. W. A method for quantitative analysis of ratios of types I and II collagen in small samples of articular cartilage. *Anal. Biochem.* 145, 277–285 (1985).
6. Insall JN. Intra-articular surgery for degenerative arthritis of the knee. A report of the work of the late K. J Bone Jt. Surg Br. 49, 211–8 (1967).
7. Mankin, H. J., Dorfman, H., Lippiello, L. & Zarins, A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic . *Bone Joint Surgeal* 53, 523–37 (1971).
8. Craft, A. M. et al. Specification of chondrocytes and cartilage tissues from embryonic stem cells. *Development* 140, 2597–610 (2013).
9. Lane, J. M., Brighton, C. T., Menkowitz, B. J., Anaerobic and aerobic metabolism in articular cartilage. *Journal Rheumatology* vol.4 4.344-352 (1977).
10. Kocaoglu, B., Martin, J., Wolf, B., Karahan, M. & Amendola, A. The effect of irrigation solution at different temperatures on articular cartilage metabolism. *Arthroscopy* 27, 526–31 (2011).
11. Simon, T. M. & Jackson, D. W. Articular Cartilage. *Sports Med. Arthrosc.* 26, 31–39 (2018).
12. Graf, J., Neusel, E., Schneider, E. & Niethard, F. U. Intra-articular treatment with hyaluronic acid in osteoarthritis of the knee joint: a controlled clinical trial versus mucopolysaccharide polysulfuric acid ester. *Clin. Exp. Rheumatol.* 11, 367–72

13. Pitsillides, A. A., Will, R. K., Bayliss, M. T. & Edwards, J. C. Circulating and synovial fluid hyaluronan levels. Effects of intraarticular corticosteroid on the concentration and the rate of turnover. *Arthritis Rheum.* 37, 1030–8 (1994).
14. Decker, R. S., Koyama, E. & Pacifici, M. Articular Cartilage: Structural and Developmental Intricacies and Questions. *Curr. Osteoporos. Rep.* 13, 407–414 (2015).
15. Namiki, O., Toyoshima, H. & Morisaki, N. Therapeutic effect of intra-articular injection of high molecular weight hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* 20, 501–7 (1982).
16. Grecomoro, G., Piccione, F. & Letizia, G. Therapeutic synergism between hyaluronic acid and dexamethasone in the intra-articular treatment of osteoarthritis of the knee: a preliminary open study. *Curr. Med. Res. Opin.* 13, 49–55 (1992).
17. Mian, N. Characterization of a high-Mr plasma-membrane-bound protein and assessment of its role as a constituent of hyaluronate synthase complex. *Biochem. J.* 237, 343–57 (1986).
18. Tengblad, A. et al. Concentration and relative molecular mass of hyaluronate in lymph and blood. *Biochem. J.* 236, 521–5 (1986).
19. Maheu, E., Ayral, X. & Dougados, M. A hyaluronan preparation (500-730 kDa) in the treatment of osteoarthritis: a review of clinical trials with Hyalgan. *Int. J. Clin. Pract.* 56, 804–13 (2002).
20. Kobayashi, T., Fujikawa, K., Sasazaki, Y. & Aoki, Y. Osteochondromatosis with high concentration of procollagen II C peptide in joint fluid. *Knee* 9, 165–7 (2002).
21. Lohmander, L. S. et al. Procollagen II C-propeptide in joint fluid: changes in concentration with age, time after knee injury, and osteoarthritis. *J. Rheumatol.* 23, 1765–9 (1996).
22. Poole, A. R. et al. Type II collagen degradation and its regulation in articular cartilage in osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 61 Suppl 2, ii78-81 (2002).
23. Lehmann, H. J., Mouritzen, U., Christgau, S., Cloos, P. A. C. & Christiansen, C. Effect of bisphosphonates on cartilage turnover assessed with a newly developed assay for collagen type II degradation products. *Ann. Rheum. Dis.* 61, 530–3 (2002).
24. Petrella, R. J. & Petrella, M. A prospective, randomized, double-blind, placebo controlled study to evaluate the efficacy of intraarticular hyaluronic acid for osteoarthritis of the knee. *J. Rheumatol.* 33, 951–6 (2006).

25. Hedbom, E. & Häuselmann, H. J. Molecular aspects of pathogenesis in osteoarthritis: the role of inflammation. *Cell. Mol. Life Sci.* 59, 45–53 (2002).
26. Tetteh, E. S., Bajaj, S. & Ghodadra, N. S. Basic science and surgical treatment options for articular cartilage injuries of the knee. *J. Orthop. Sports Phys. Ther.* 42, 243–53 (2012).
27. (Measurement of the thickness and volume of the cartilage by nuclear magnetic resonance). *Presse Med.* 31, 1381–2 (2002).
28. Palmieri, F., De Keyser, F., Maes, F. & Van Breuseghem, I. Magnetization transfer analysis of cartilage repair tissue: a preliminary study. *Skeletal Radiol.* 35, 903–8 (2006).
29. OUTERBRIDGE, R. E. The etiology of chondromalacia patellae. *J. Bone Joint Surg. Br.* 43–B, 752–7 (1961).
30. Prakash, D. & Learmonth, D. Natural progression of osteo-chondral defect in the femoral condyle. *Knee* 9, 7–10 (2002).
31. Kock, N. B. et al. A cadaveric analysis of contact stress restoration after osteochondral transplantation of a cylindrical cartilage defect. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 16, 461–8 (2008).
32. Coons, D. A. & Barber, F. A. Arthroscopic osteochondral autografting. *Orthop. Clin. North Am.* 36, 447–58 (2005).
33. Nehrer, S., Chiari, C., Domayer, S., Barkay, H. & Yayon, A. Results of chondrocyte implantation with a fibrin-hyaluronan matrix: a preliminary study. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 466, 1849–55 (2008).
34. Bobic, V. & Noble, J. Articular cartilage--to repair or not to repair. *J. Bone Joint Surg. Br.* 82, 165–6 (2000).
35. Rodrigo, J. J. New techniques of cartilage healing cartilage grafting. *Sport. Med. Arthroscopy Rev.* 6 (1998).
36. Steadman JR, Rodkey WG, Singleton SB, B. K. Microfracture technique for full thickness chondral defects: technique and clinical results. (1997).
37. Bae, D. K., Yoon, K. H. & Song, S. J. Cartilage healing after microfracture in osteoarthritic knees. *Arthroscopy* 22, 367–74 (2006).
38. Cole, B. J. & Lee, S. J. Complex knee reconstruction: articular cartilage treatment options. *Arthroscopy* 19 Suppl 1, 1–10 (2003).
39. Guzmán-Morales, J., Lafantaisie-Favreau, C.-H., Chen, G. & Hoemann, C. D. Subchondral chitosan/blood implant-guided bone plate resorption and woven bone repair is coupled to hyaline cartilage regeneration from microdrill holes in aged rabbit knees. *Osteoarthr. Cartil.* 22, 323–33 (2014).

40. Mainil-Varlet, P. et al. Histological assessment of cartilage repair: a report by the Histology Endpoint Committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS). *J. Bone Joint Surg. Am.* 85–A Suppl, 45–57 (2003).
41. Jakobsen, R. B., Engebretsen, L. & Slauterbeck, J. R. An analysis of the quality of cartilage repair studies. *J. Bone Joint Surg. Am.* 87, 2232–9 (2005).
42. Mitchell, N. & Shepard, N. The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subchondral bone. *J. Bone Joint Surg. Am.* 58, 230–3 (1976).
43. Mithoefer, K. et al. Chondral resurfacing of articular cartilage defects in the knee with the microfracture technique. *Surgical technique. J. Bone Joint Surg. Am.* 88 Suppl 1, 294–304 (2006).
44. van Bergen, C. J. A., de Leeuw, P. A. J. & van Dijk, C. N. Treatment of osteochondral defects of the talus. *Rev. Chir. Orthop. Reparatrice Appar. Mot.* 94, 398–408 (2008).
45. Bobić, V. Arthroscopic osteochondral autograft transplantation in anterior cruciate ligament reconstruction: a preliminary clinical study. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 3, 262–4 (1996).
46. Hangody, L., Kish, G., Kárpáti, Z., Szerb, I. & Udvarhelyi, I. Arthroscopic autogenous osteochondral mosaicplasty for the treatment of femoral condylar articular defects. A preliminary report. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 5, 262–7 (1997).
47. Hangody, L. et al. Mosaicplasty for the treatment of articular cartilage defects: application in clinical practice. *Orthopedics* 21, 751–6 (1998).
48. Terukina, M. et al. Analysis of the thickness and curvature of articular cartilage of the femoral condyle. *Arthroscopy* 19, 969–73 (2003).
49. Ahmad, C. S., Guiney, W. B. & Drinkwater, C. J. Evaluation of donor site intrinsic healing response in autologous osteochondral grafting of the knee. *Arthroscopy* 18, 95–8 (2002).
50. Matsusue, Y., Yamamuro, T. & Hama, H. Arthroscopic multiple osteochondral transplantation to the chondral defect in the knee associated with anterior cruciate ligament disruption. *Arthroscopy* 9, 318–21 (1993).
51. Garrett, J. C. Osteochondral allografts for reconstruction of articular defects of the knee. *Instr. Course Lect.* 47, 517–22 (1998).
52. Chesterman, P. J. & Smith, A. U. Homotransplantation of articular cartilage and isolated chondrocytes. An experimental study in rabbits. *J. Bone Joint Surg. Br.* 50, 184–97 (1968).



53. Bentley, G. & Greer, R. B. Homotransplantation of isolated epiphyseal and articular cartilage chondrocytes into joint surfaces of rabbits. *Nature* 230, 385–8 (1971).
54. 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, 17–24 (2003).
55. Dozin, B. et al. Comparative evaluation of autologous chondrocyte implantation and mosaicplasty: a multicentered randomized clinical trial. *Clin. J. Sport Med.* 15, 220–6 (2005).
56. Minas, T. Autologous chondrocyte implantation for focal chondral defects of the knee. *Clin. Orthop. Relat. Res.* S349-61 (2001).
57. Gillogly, S. D., Voight, M. & Blackburn, T. Treatment of articular cartilage defects of the knee with autologous chondrocyte implantation. *J. Orthop. Sports Phys. Ther.* 28, 241–51 (1998).
58. Horas, U., Pelinkovic, D., Herr, G., Aigner, T. & Schnettler, R. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial. *J. Bone Joint Surg. Am.* 85–A, 185–92 (2003).
59. Tallheden, T. et al. Proliferation and differentiation potential of chondrocytes from osteoarthritic patients. *Arthritis Res. Ther.* 7, R560-8 (2005).
60. Bentley, G. et al. A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J. Bone Joint Surg. Br.* 85, 223–30 (2003).
61. Wood, J. J. et al. Autologous cultured chondrocytes: adverse events reported to the United States Food and Drug Administration. *J. Bone Joint Surg. Am.* 88, 503–7 (2006).
62. Zaslav, K. et al. A prospective study of autologous chondrocyte implantation in patients with failed prior treatment for articular cartilage defect of the knee: results of the Study of the Treatment of Articular Repair (STAR) clinical trial. *Am. J. Sports Med.* 37, 42–55 (2009).
63. Niemeyer, P. et al. Characteristic complications after autologous chondrocyte implantation for cartilage defects of the knee joint. *Am. J. Sports Med.* 36, 2091–9 (2008).
64. Goessler, U. R. et al. Expression of collagen and fiber-associated proteins in human septal cartilage during in vitro dedifferentiation. *Int. J. Mol. Med.* 14, 1015–22 (2004).

65. Goessler, U. R. et al. In vitro analysis of integrin expression during chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells and chondrocytes upon dedifferentiation in cell culture. *Int. J. Mol. Med.* 17, 301–7 (2006).
66. Homicz, M. R. et al. Human septal chondrocyte redifferentiation in alginate, polyglycolic acid scaffold, and monolayer culture. *Laryngoscope* 113, 25–32 (2003).
67. Darling, E. M. & Athanasiou, K. A. Rapid phenotypic changes in passaged articular chondrocyte subpopulations. *J. Orthop. Res.* 23, 425–32 (2005).
68. Hidaka, C., Cheng, C., Alexandre, D., Bhargava, M. & Torzilli, P. A. Maturation differences in superficial and deep zone articular chondrocytes. *Cell Tissue Res.* 323, 127–35 (2006).
69. Tay, A. G. et al. Cell yield, proliferation, and postexpansion differentiation capacity of human ear, nasal, and rib chondrocytes. *Tissue Eng.* 10, 762–70
70. Zuk, P. A. et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell* 13, 4279–95 (2002).
71. Chiou, M., Xu, Y. & Longaker, M. T. Mitogenic and chondrogenic effects of fibroblast growth factor-2 in adipose-derived mesenchymal cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 343, 644–52 (2006).
72. Estes, B. T., Wu, A. W. & Guilak, F. Potent induction of chondrocytic differentiation of human adipose-derived adult stem cells by bone morphogenetic protein 6. *Arthritis Rheum.* 54, 1222–32 (2006).
73. Toh, W. S. et al. Effects of culture conditions and bone morphogenetic protein 2 on extent of chondrogenesis from human embryonic stem cells. *Stem Cells* 25, 950–60 (2007).
74. Bryant, S. J. & Anseth, K. S. Controlling the spatial distribution of ECM components in degradable PEG hydrogels for tissue engineering cartilage. *J. Biomed. Mater. Res. A* 64, 70–9 (2003).
75. Gouze, J.-N., Evans, C. H., Ghivizzani, S. C. & Gouze, E. (Gene therapy for osteoarticular disorders). *Med. Sci. (Paris)*. 23, 303–9 (2007).
76. Grande, D. A., Mason, J., Light, E. & Dines, D. Stem cells as platforms for delivery of genes to enhance cartilage repair. *J. Bone Joint Surg. Am.* 85–A Suppl, 111–6 (2003).
77. Mankin, H. J. The response of articular cartilage to mechanical injury. *J. Bone Joint Surg. Am.* 64, 460–6 (1982).
78. Campbell, C. J. The healing of cartilage defects. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 64, 45–63

79. Buckwalter, J. A. & Mankin, H. J. Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. Instr. Course Lect. 47, 487–504 (1998).
80. Baums, M. H. et al. Autologous chondrocyte transplantation for treating cartilage defects of the talus. J. Bone Joint Surg. Am. 88, 303–8 (2006).
81. Browne, J. E. et al. Clinical outcome of autologous chondrocyte implantation at 5 years in US subjects. Clin. Orthop. Relat. Res. 237–45 (2005).
82. Filardo, G. et al. Arthroscopic second generation autologous chondrocytes implantation associated with bone grafting for the treatment of knee osteochondritis dissecans: Results at 6 years. Knee 19, 658–63 (2012).
83. Buckwalter, J. A. Articular cartilage: injuries and potential for healing. J. Orthop. Sports Phys. Ther. 28, 192–202 (1998).
84. Dougados, M. et al. (Proposal for a classification of cartilagenous lesions of the knee by the French Society of Arthroscopy). Acta Orthop. Belg. 60 Suppl 1, 7–16 (1994).
85. Amin, A. R. et al. The expression and regulation of nitric oxide synthase in human osteoarthritis-affected chondrocytes: evidence for up-regulated neuronal nitric oxide synthase. J. Exp. Med. 182, 2097–102 (1995).
86. Caplan, A. I., Elyaderani, M., Mochizuki, Y., Wakitani, S. & Goldberg, V. M. Principles of cartilage repair and regeneration. Clin. Orthop. Relat. Res. 254–69 (1997).
87. Gotoh, S. et al. Effects of the molecular weight of hyaluronic acid and its action mechanisms on experimental joint pain in rats. Ann. Rheum. Dis. 52, 817–22 (1993).
88. Schiavinato, A., Finesso, M., Cortivo, R. & Abatangelo, G. Comparison of the effects of intra-articular injections of Hyaluronan and its chemically cross-linked derivative (Hylan G-F20) in normal rabbit knee joints. Clin. Exp. Rheumatol. 20, 445–54
89. Leardini, G., Mattara, L., Franceschini, M. & Perbellini, A. Intra-articular treatment of knee osteoarthritis. A comparative study between hyaluronic acid and 6-methyl prednisolone acetate. Clin. Exp. Rheumatol. 9, 375–81
90. Yang, X. et al. Injectable hyaluronic acid hydrogel for 19F magnetic resonance imaging. Carbohydr. Polym. 110, 95–9 (2014).
91. Hunter, D. J. Viscosupplementation for osteoarthritis of the knee. N. Engl. J. Med. 372, 1040–7 (2015).
92. Rosier, R. N. & O’Keefe, R. J. Hyaluronic acid therapy. Instr. Course Lect. 49, 495–502 (2000).

93. Liu, W.-G. et al. Therapeutic effect of an injectable sustained-release sinomenine hydrochloride and sodium hyaluronate compound in a rabbit model of osteoarthritis. *Chin. Med. J. (Engl)*. 125, 2543–7 (2012).
94. Fukuda, K. et al. Hyaluronic acid increases proteoglycan synthesis in bovine articular cartilage in the presence of interleukin-1. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277, 1672–5 (1996).
95. Yasui, T., Akatsuka, M., Tobetto, K., Hayaishi, M. & Ando, T. The effect of hyaluronan on interleukin-1 alpha-induced prostaglandin E2 production in human osteoarthritic synovial cells. *Agents Actions* 37, 155–6 (1992).
96. Ronca, F., Palmieri, L., Panicucci, P. & Ronca, G. Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate. *Osteoarthr. Cartil.* 6 Suppl A, 14–21 (1998).
97. Lindenhayn, K., Heilmann, H. H., Niederhausen, T., Walther, H. U. & Pohlenz, K. Elimination of tritium-labelled hyaluronic acid from normal and osteoarthritic rabbit knee joints. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 35, 355–63 (1997).
98. Kikuchi, T., Yamada, H. & Shimmei, M. Effect of high molecular weight hyaluronan on cartilage degeneration in a rabbit model of osteoarthritis. *Osteoarthr. Cartil.* 4, 99–110 (1996).
99. Yoshioka, M., Shimizu, C., Harwood, F. L., Coutts, R. D. & Amiel, D. The effects of hyaluronan during the development of osteoarthritis. *Osteoarthr. Cartil.* 5, 251–60 (1997).
100. Shimizu, C. et al. Long-term effects of hyaluronan on experimental osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthr. Cartil.* 6, 1–9 (1998).
101. Sonoda, M., Harwood, F. L., Wada, Y., Moriya, H. & Amiel, D. The effects of hyaluronan on the meniscus and on the articular cartilage after partial meniscectomy. *Am. J. Sports Med.* 25, 755–62
102. Lussier, A. et al. Viscosupplementation with hylan for the treatment of osteoarthritis: findings from clinical practice in Canada. *J. Rheumatol.* 23, 1579–85 (1996).

## ÖZGEÇMİŞ

### A. KİŞİSEL BİLGİLER

|      |                                  |
|------|----------------------------------|
| A.1. | Adı soyadı: SADIK EMRE ERGİNOĞLU |
|------|----------------------------------|

|      |                                           |
|------|-------------------------------------------|
| A.2. | Doğum tarihi ve yeri: 30.09.1987 / MERSİN |
|------|-------------------------------------------|

|      |                                |
|------|--------------------------------|
| A.3. | Yabancı dil bilgisi: İNGİLİZCE |
|------|--------------------------------|

|      |                                                                         |
|------|-------------------------------------------------------------------------|
| A.4. | Görev yeri: AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ A.B.D. |
|------|-------------------------------------------------------------------------|

|      |                                                                                    |
|------|------------------------------------------------------------------------------------|
| A.5. | İletişim bilgileri (e-posta adresi / telefon): seerginoglu@gmail.com / 05379133774 |
|------|------------------------------------------------------------------------------------|

### B. EĞİTİM BİLGİLERİ

|      |                                                                      |
|------|----------------------------------------------------------------------|
| B.1. | Mezun olduğu üniversite / fakülte: GAZİ ÜNİVERSİTESİ / TIP FAKÜLTESİ |
|------|----------------------------------------------------------------------|

|      |                                       |
|------|---------------------------------------|
| B.2. | Mezuniyet tarihini (yıl olarak): 2012 |
|------|---------------------------------------|

|      |                                                        |
|------|--------------------------------------------------------|
| B.3. | Varsa, akademik ünvanları : ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ DOKTOR |
|------|--------------------------------------------------------|

### C. İŞ TECRÜBESİNE AİT BİLGİLER

|      |                                                                                                            |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| C.1. | Bugüne kadar çalıştığı kurum / kuruluşları lütfen belirtiniz:<br>AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

### D. KLİNİK ARAŞTIRMALARLA İLGİLİ GENEL BİLGİLER

|      |                                                                       |
|------|-----------------------------------------------------------------------|
| D.1. | İyi Klinik Uygulamaları (İKU) ve klinik araştırma konularında eğitim: |
|------|-----------------------------------------------------------------------|

|             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>D.2.</b> | <p><b>Varsa, araştırmacı olarak katılan klinik araştırmaları lütfen belirtiniz:</b></p> <p><b>1)TOTAL DİZ ARTROPLASTİSİ YAPILAN HASTALARDA PATELLAR TENDONDAKİ MORFOLOJİK DEĞİŐİKLİKLER</b></p> <p><b>2)RATLARDA MİKROKIRIK SONRASI ENJEKTE EDİLEBİLEN TİP-2-KOLLAJEN VE HYALURONİK ASİT KOMBİNASYONUN KIKIRDAK İYİLEŞMESİNDEKİ ETKİLERİ</b></p> |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|             |                                                                        |
|-------------|------------------------------------------------------------------------|
| <b>D.3.</b> | <b>Varsa, izleyici (monitör) olarak katılan klinik araştırmaları :</b> |
|-------------|------------------------------------------------------------------------|

|             |                                                                    |
|-------------|--------------------------------------------------------------------|
| <b>D.4.</b> | <b>Varsa, saha görevlisi olarak katılan klinik araştırmaları :</b> |
|-------------|--------------------------------------------------------------------|

|             |                                                                        |
|-------------|------------------------------------------------------------------------|
| <b>D.5.</b> | <b>Varsa, araştırma eczacısı olarak katılan klinik araştırmaları :</b> |
|-------------|------------------------------------------------------------------------|

#### **E. ÖZGEÇMİŞ SAHİBİNİN İMZASI**

|               |                            |
|---------------|----------------------------|
| <b>E.2.</b>   | <b>Özgeçmiş Sahibi</b>     |
| <b>E.2.1.</b> | El yazısıyla adı soyadı:   |
| <b>E.2.2.</b> | Tarih (gün/ay/yıl olarak): |
| <b>E.2.3.</b> | İmza:                      |