



Menisküs doku mühendisliğinde yenilikler

Advances in meniscus tissue engineering

Nihat Demirhan Demirkıran

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Ana Bilim Dalı, Kütahya

Menisküslerin korunması ve tamirinin önemi günümüzde çok iyi anlaşılmış olsa da her zaman mümkün olmamaktadır. Onarılamayan defektler ya da menisektomiler sonrası menisküste oluşan boşluğun doldurulması amacıyla 1990'ların başında çati (iskele) implantlarının geliştirilmeye başlanmasıyla menisküs cerrahisinde doku mühendisliği uygulamaları büyük bir ivme kazanmıştır. Doku mühendisliği; "doku fonksiyonunu restore etmek, sürdürmek veya iyileştirmek için biyolojik dokuların yerine geçecek malzemelerin geliştirilmesine yönelik hem mühendislik hem de yaşam bilimleri ilkelerinin" kullanılmasını öngören araştırma alanıdır ve temelde çati implantları, biyoaktif ajanlar (büyüme faktörleri) ve hücreler olmak üzere üç ana değişkenden yararlanır. Menisküs doku mühendisliğinde farklı malzeme özelliklerine sahip birçok biyomateryalden üretilen çati implantları, çok sayıda farklılaşmış veya kök hücreler ve bunları uyuracak biyokimyasal, biyomekanik ve gen tedavi yöntemleri hasarlı menisküsün yerini alacak ideal implantın arayışında kullanılmıştır. Geliştirilen bu implantlar ile kırıkdağ hasarı ve ileride gelişebilecek osteoartrit de önüne geçilmesi amaçlanmıştır. Ancak hiçbir yapay malzeme menisküsün mekanik özelliklerini sağlamada tam olarak başarılı olamamış ve tüm çabalara rağmen kırıkdağı çok iyi koruduğu kanıtlanarak rutin klinik kullanıma girmiş bir implant henüz tasarlanamamıştır. Günümüzde en umut vadeden yaklaşımlar defekte uygun boyutta üretilebilen, hücre yüklü çati implantlarının biyomekanik, biyokimyasal ve gen tedavisi yöntemleriyle zenginleştirildiği uygulamalar olarak öne çıkmaktadır. Menisküsün biyolojik ve mekanik yapısını birebir taklit ederek menisküsün yerini alabilecek bir malzemenin hâlâ uzağında olsak da gelecekte bu yönde katedilecek yol doku mühendisliği uygulamalarından geçecektir.

Anahtar sözcükler: menisküs; doku mühendisliği; çati implant

Although the importance of saving and repairing the meniscus is well understood today, it may not always be possible. Tissue engineering applications in meniscal surgery gained momentum with the development of scaffold implants in the early 1990s to fill the defect of the meniscus after irreparable defects or meniscectomies. Tissue engineering is a field of research that envisages the use of "both engineering and life science principles for the development of materials to replace biological tissues to restore, maintain or improve tissue function" and basically utilizes three main variables: scaffolds, cells and bioactive agents (growth factors). Scaffolds produced from several different biomaterials with various material properties; a large number of differentiated or stem cells; gene therapy methods and biochemical or biomechanical stimuli have been applied in meniscus tissue engineering, to develop the ideal implant to replace the damaged meniscus. With these implants, it is aimed to prevent cartilage damage and the risk of future osteoarthritis. However, no artificial material has been fully successful in providing the mechanical properties of the native meniscus, and despite all efforts an implant that has been routinely used in clinics by proving that it protects the cartilage adequately, has not been designed yet. Today, the most promising approaches stand out as applications where cell-loaded scaffolds produced in appropriate sizes for the defect which are enriched with biomechanical, biochemical and gene therapy methods. Although we are still far away from a material that can replace the meniscus by simulating the biological and mechanical structure of the meniscus; in the future the path to be taken in this direction will be through tissue engineering applications.

Key words: meniscus; tissue engineering; scaffolds

Menisküsler diz eklemindeki yüklenmeleri aktaran, şok emilimi yapan, stabiliteye katkı sağlayan, propriyosepsiyon ve eklem yağlanması görev alan fibrokırıkdağ yapıda dokulardır.^[1]

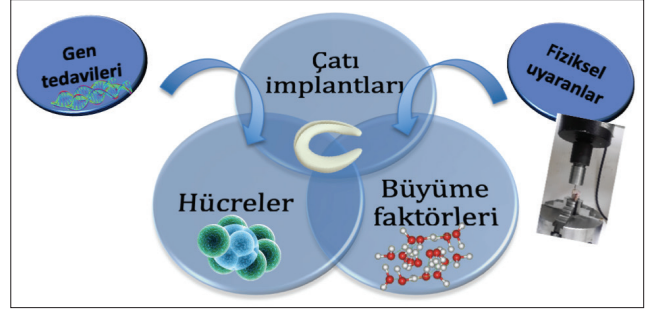
Menisküs yaralanmaları oldukça sık karşılaşılan kas iskelet sistemi problemlerindedir ve bu yaralanmaların cerrahi tedavileri ortopedi ve travmatoloji alanındaki en sık cerrahi prosedürler arasında yer almak-

İletişim / Contact: Doç. Dr. Nihat Demirhan Demirkıran • **E-posta / E-mail:** drdemirhandemirkiran@gmail.com

ORCID iD: Nihat Demirhan Demirkıran, 0000-0002-0724-9672

Geliş / Received: 11 Eylül 2022 • **Revizyon / Revised:** 1 Kasım 2022, 20 Kasım 2022 • **Kabul / Accepted:** 24 Kasım 2022

tadır.^[2] Dünyada her yıl 1,5 milyonun üzerinde parsiyel menisektomi uygulanmaktadır. Yük taşıyan menisküsün çıkarılmasıyla ilerleyici kıkırdak dejenerasyonu oluştuğu; total menisektominin temas alanında %75'e varan azalma ve temas streslerinde %235 artışa; parsiyel menisektomi ile iç menisküsün 1/3'ü kaybolduğunda ise temas streslerin %65 artmasına yol açtığı bilinmektedir. Menisküslerin kaybiyla diz eklemine gelen yükü transfer fonksiyonu bozulur, artan bu basınçla kıkırdak hasarı ve dejenerasyon oluşur. Diz eklemi osteoartrit riski, total menisektomi ile 14 kat, parsiyel menisektomi ile dört kat artar.^[3] Menisküsün diz eklemindeki önemi daha iyi anlaşıldıkça menisküs yaralanmalarının tedavisinde geçmişte daha sık uygulanan parsiyel ya da total menisektomiler yerine günümüzde menisküsün korunması ve tamirine yönelik çabalar da giderek artmaktadır. Ancak fibrokıkırdak dokunun zayıf kanlanma özellikleri nedeniyle menisküsler yaralanma sonrası düşük iyileşme potansiyeline sahiptirler. Geleneksel menisküs dikişleriyle tamir teknikleri sadece yırtık uçlarını yaklaştırmakta fakat lokal biyolojik ortamı yaralanma öncesi hâline getirememektedir. Kırk yaş altındaki genç hastaların sekiz haftayı geçmemiş akut yaralanmalarında, ligamentöz olarak stabil dizlerde ve özellikle kanlanmanın daha iyi olduğu periferik yırtıklarda menisküs tamiri daha yüz güldürücü sonuçlar vermekteyken; literatürde izole menisküs yaralanmalarının cerrahi tamirinde %24 ile %50 arası başarısız sonuçlar bildirilmiştir. Bu tatmin edici olmayan sonuçlar tamire bazı biyolojik uyarıcıların da eklendiği sinovyal raspalama, trefinasyon, fibrin pıhtısı ya da trombositten zengin plazma uygulanması gibi çeşitli yöntemlerin gelişimini teşvik etmiştir.^[4-6] Bütün çabalara rağmen, özellikle avasküler bölgede gelişen bazı büyük menisküs yırtıklarının tamiri mümkün değildir ve yırtığın olduğu kompartmanda artritlik değişiklikler gelişebilir. Bunun önüne geçebilmek için menisküs allogreftlerinin transplantasyonu denenmiştir. Ancak immün yanıt, hastalık bulaşma riski, tekrar yırtık gelişmesi gibi problemler bildirilen allogreft uygulamaları sonrasında da dejeneratif sürecin tamamıyla durdurulamayabileceği görülmüştür.^[7] Menisküste oluşan boşluğun doldurulması amacıyla 1990'ların başında çatı (iskele) implantlarının geliştirilmeye başlanmasıyla menisküs cerrahisinde doku mühendisliği uygulamaları büyük bir ivme kazanmıştır. Doku mühendisliği; "doku fonksiyonunu restore etmek, sürdürmek veya iyileştirmek için biyolojik dokuların yerine geçecek malzemelerin geliştirilmesine yönelik hem mühendislik hem de yaşam bilimleri ilkelerinin" kullanılmasını öngören araştırma alanı olarak tanımlanmaktadır.^[8] Doku mühendisliği stratejileri temelde üç ana değişkenden yararlanır. Bunlar; hasarlı bölgeye tek başına veya kombinasyon hâlinde uygulanabilecek çatı imp-



Şekil 1. Menisküs doku mühendisliğinin ana bileşenleri: Farklı biyomalzemelerden yapılmış çatı implantları, farklılaşmış veya kök hücreler ve bunları uyarmak için uygulanan gen tedavileriyle biyolojik, fiziksel uyarıların şematik çizimi.

lantları, biyoaktif ajanlar (büyüme faktörleri) ve farklılaşmış veya farklılaşmamış hücrelerdir (Şekil 1). Üç boyutlu doku onarımı veya rejenerasyonuna rehberlik etmek için doğal veya sentetik yapıları bir iskele olarak kullanan doku mühendisliği yöntemleri, menisküs cerrahileri için umut vadetmektedir. Menisküs doku mühendisliğinde temel yapıyı poliglikolik asit (PGA) ve poli-L-laktik asit (PLA) gibi polimerik sentetik malzemelerden veya ipek, tip 1 kollajen ve proteoglikanlar gibi doğal biyolojik ürünlerden yapılan çatı implantları oluşturmaktadır.^[9] Üretim süreci geleneksel kalıplamadan, elektro eğirmeye ve günümüzde üç boyutlu (3D) baskı teknolojisine kadar uzanan bir gelişim göstermiştir. Bu çatı implantlarına farklı hücre ve büyüme faktörlerinin eklenmesiyle menisküs doku mühendisliği çalışmaları menisküsü en iyi şekilde taklit edecek malzemenin arayışında ilerlemektedir. Bu yazıda menisküs doku mühendisliğinde öne çıkan çatı implantları, hücreler ve büyüme faktörlerine ayrı ayrı değinilmiştir.

ÇATI İMPLANTLARI

Menisküs doku mühendisliği için çatı implantları, ham madde olarak doğal veya sentetik biyomalzemelerden sentezlenebilir. Çatı implantların temel amacı, yük taşıyan dokuya biyomekanik destek sağlamanın yanı sıra üç boyutlu destek ve hücre oluşumu için bir iskele oluşturmaktır. Hücresiz biyomalzemelerin kullanım kolaylığı, artan raf ömrü, bulunabilirlik ve maliyet gibi belirli avantajları vardır. Hücre yüklü biyomalzemeler ise, kaybedilen hücre dışı matrisi yenileme ve biyomateryaller zamanla bozundukça oluşan boşluğu içeriğindeki hücreler aracılığıyla doldurabilme avantajına sahiptir. Öte yandan biyobozunur olmayan biyomalzemeler, menisküsün en önemli işlevi olan mekanik desteği daha iyi sağlayabilir. Farklı fiziksel formlarda da çatı implantları geliştirilmiştir. Jel/sıvı benzeri implantlar enjekte edilebilir ve bu nedenle daha küçük menisküs defektleri için tercih edilebilir. Daha katı, sert yapıda çatı

implantları ise menisküs mekanik fonksiyonunu daha iyi taklit edebilir.^[8,9]

Hücesiz çatı implantları arasında en popüler iki malzeme kollajen ve poliüretan olarak öne çıkmaktadır. Bunlar; Menaflex kollajen meniskal iskelet (ReGen Biologics Inc., Hackensack, New Jersey, Amerika Birleşik Devletleri) ve Actifit poliüretan-polikaprolakton (Orteq, Londra, İngiltere) çatı implantlarıdır. Sığır kökenli tip 1 kollajenden üretilen kollajen menisküs implantı (*collagen meniscal implant*, CMI) menisküs şeklinde üretilmiş poroz yapıda bir çatı implantıdır. Bu implantla köpekler üzerinde yürütülen çalışmalarda erken sonuçları ümit vadetse de bir yıl sonraki değerlendirmede kıkırdağı korumada total menisektomi grubuna göre anlamlı bir fark yaratamamıştır.^[10]

Başlangıçta menisküsün tümüyle yerini alması amacıyla tasarlanan sert yapıda poliüretan çatı iskeleleri ise, iki yıl gibi bir süre sonra bile biyobozunma göstermemeleri nedeniyle kıkırdağı korumada başarısız bulunmuştur.^[11] Bunun üzerine; poliüretana, polikaprolakton eklenmesiyle oluşturulan çatı iskelesi (Actifit) ile iki yıllık takiplerde çatı implantı içerisinde kondrosit ve fibrokondrosit hücrelerinin saptandığı ve yan etki görülmediği bildirilmiştir.^[12] Verdonk ve ark.'larının *International Cartilage Repair Society* (ICRS) evreleri ikinin altında olan 52 hastada yürüttükleri iki yıl takipli çalışmada; altı ayın sonunda hastalarda anlamlı ve klinikle uyumlu fonksiyonel iyileşme olduğu ve bu değerlerin ikinci yıldaki son takibe kadar giderek daha da iyileştiğini bildirmişlerdir.^[13] Kondral yıkımın azalması ve osteoartrit gelişiminin engellenmesi gibi etkileri ise uzun dönemli çalışmalar sonucunda anlaşılacaktır. Hem Actifit hem de CMI menisküs iskeleleri, meniskal allogreft transplantasyonlarına daha düşük yeniden ameliyat ve başarısızlık oranları sağlayabilse de her iki implantta da şekil ve boyutta büzülme ve düzensizlik gözlenmiştir. Klinik kullanıma sunulan bu iki çatı implantının sonuçları umut verici olsa da randomize çalışmalarla kısmi menisektomiden daha iyi işlev gördüğü kanıtlanamamıştır.^[11]

Menisküs çatı implantı olarak kullanılan bir diğer doğal malzeme de ipektir. Kıkırdak çalışmalarında kullanılmaya başlanan ipeğin üstün mekanik özellikleri ve biyouyumluluğu sonrası Mandal ve ark.'ları *Bombyx mori* ipek böceğinin, ipek fibrininden elde edilen katmanlı menisküs skafoldunu geliştirdiler. Aynı malzemenin farklı por çapları ve oryantasyonuna sahip tabakalardan oluşan skafold dizaynıyla yazarlar büyük porlarla daha fazla hücre migrasyonu, küçük porlarla ise orantılı kollajen ve hücre dışı matriks birikimini amaçlamışlardır. Farklı por çaplarına sahip tabakalardan oluşan bu yapı yürütülen in-vitro çalışmada hücre büyümesi ve matriks

birikimi sağlamış olsa da; biyomekanik özelliklerinin sağlam menisküsünkine yaklaşacak biçimde adapte edilmesi gerekmektedir.^[14] Parsiyel menisküs defektleri için tasarlanan başka bir ipek kökenli skafoldun (FibroFix™) kompresif özellikleri doku büyümesiyle birlikte sağlam menisküse yaklaşmıştır ve koyunlardaki kısmi menisektomi modelinde üç ve altıncı aydaki kıkırdağı koruyucu etkileri gösterilmiştir.^[15] İpek böceğinin yanı sıra örümcek kökenli ipeğin menisküs skafoldlarında kullanımı üzerine çalışmalar da (Oxford Biomaterials Ltd, Birleşik Krallık) devam etmektedir. Bodin ve ark.'ları sıvı mısır hücre ortamında üretilen bakteri kökenli selülozu meniskal implant olarak denemişlerdir.^[16] Chiari ve ark.'ları hiyalüronik asit ve polikaprolaktondan ürettikleri skafoldu bir koyun modelinde incelemişler ve altı haftalık süre sonunda doku büyümesinin olduğunu gözlemişlerdir.^[17] Bir yılın sonundaki takiplerinde ise yabancı cisim immün yanıtının yanında implantta dislokasyon ve düzensizliklerin devam ettiğini görmüşlerdir.^[18] Pezzin ve ark.'ları ise polilaktik asit ve polidioksanondan imal ettikleri poroz, emilebilir meniskal skafoldu tavşanlar üzerinde denemiş ve hızlı doku büyümesinin sağlandığı ve eklem kıkırdağının korunduğunu belirtmişlerdir.^[19] Daha kısa sürede eriyebilen ancak benzer mekanik özellikleri sağlayabilecek bir polimer olan poli L-co-D,L-laktik asit (PLDLA) da çatı iskelesi olarak denenmiştir.^[20] Tensil mekanik özellikleriyle ön plana çıkan tirozin bazlı eriyebilen bir polimer ve kollajenin bileşiminden oluşan bir başka çatı iskelesinin sağlam koyun medial menisküsü ile benzer sertlikte olduğunu ortaya koymuş ve gerilim kuvvetlerinde artışın tibia platosunun kompresif yüklerini azaltarak kıkırdak hasarından koruyucu etki gösterebileceği sonucuna varılmıştır.^[21]

Tüm yapısı aynı malzemeden üretilen bahsi geçen çatı implantlarının aksine tarafımızca geliştirilen çok katlı meniskal skafoldun her bir tabakası farklı amaçlara yönelik olarak farklı biyomalzemelerin birleşimiyle üretilmiştir. Skafoldun en üst tabakası sürtünme ve kompresyona dayanıklılığı arttırmak ve kıkırdak hasarını yavaşlatmak amacıyla polihidroksibütirat-ko-hidroksivalerat (PHBV) yapısında; tibia platosuna temas edecek alt yüzeyi ise hidroksiapatit nanotozları ve stronsiyum ranelat içerecek osteokondüktif özelliklere sahip olacak ve implantın tibiaya tutunmasını arttıracak şekilde üretilmiştir. Bu iki tabakanın arasında ise skafoldun kompresif güçlere daha iyi dayanımını sağlamak amacıyla selüloz yapısında kabak lifi kullanılarak dayanıklı orta tabaka elde edildi. Ardından *elektrospinning* yöntemiyle ve ipek fibrin solüsyonu yardımıyla kompozit yapıda çok katlı skafold oluşturulmuştur.^[22] Tavşan menisküs defekti modellerinde yeni geliştirilen çok katlı menisküs yapı iskelesinin, defektin boş bırakılmasına kıyasla daha üstün biyome-

kanik özellikler ortaya koyduğunu, menisküs alanında gelişebilecek küçülmeyi engelleyebileceğini ve immün yabancı cisim yanıtına neden olmadığını gösterilmiştir. Bunun yanı sıra klinik kullanımdaki poliüretanlı skafoldla da benzer makroskopik, histolojik ve biyomekanik sonuçlar elde edilmiştir.^[23]

HÜCRELER

Menisküs doku mühendisliğinde çatı iskeleleriyle birlikte uygulanan hücreler arasında fibrokondrositler, kondrositler, sinoviyositler ve kök hücreleri sayabiliriz.

Günümüzde, menisküsten izole edilen hücrelere odaklanan çalışmaların çoğu fibrokondrositleri içermektedir. Menisküs dokusunda hâlihazırda bulunan hücrelerden türetilmiş hücrelerle oluşturulan bir çatı implantının başlıca avantajı daha iyi doku uyumluluğudur. Kang ve ark. in-vivo olarak total menisektomili tavşan modelleri üzerinde poliglikolik asit/poli-L-laktikasit (PGA/PLGA) çatı iskelelerine ekilmiş fibrokondrositleri kullanmış, altı ile 10 hafta sonra fibrocartilajinöz yeni doku oluşumu bildirmişlerdir.^[9] Esposito ve ark. ise polyL-co-D,L-laktik asit/polikaprolactone-triol (PLDLA/PCL-T) çatı iskeleleri üzerine üç hafta boyunca fibrokondrositleri ekerek tavşan medial menisküs modeline uygulamışlar ve 24 hafta sonra histolojik olarak olgun kollajen lifleri gözlenen fibrokırdak bir doku elde etmişlerdir.^[20]

Fibrokondrositler ve kondrositlerin her ikisi de kırık dokusu kökenlidir. Hücresel fenotip ve moleküller biyolojideki benzerlikleri sayesinde, kondrositlerin menisküs doku mühendisliği için kullanımı denenmiştir. Koyun total menisektomi modelinde üzerine otolog kondrositlerin ekildiği ve trombosit zengin plazma (PRP) eklenmiş hiyalüronik asit/PCL çatı implantında önemli ölçüde daha fazla kırık dokusu ve menisküs iyileşmesi gösterilmiştir.^[18]

Sinoviyositler de, kondrojenik davranışları nedeniyle menisküs doku mühendisliği için bir hücre kaynağı olarak kullanılmışlardır. At kökenli sinoviyal hücrelerin bir PGA/PLLA çatı implantına ekilmesi ile sonuçta oluşan fibroblast hücrelerinin fibrokondral özellikler sergilediği gösterilmiştir.^[24] Üstelik, osteoartrit eklemlerden elde edilmiş sinoviyal hücrelerin de, normal sinoviyositlerine benzer seviyelerde meniskal fibrocartilaj bileşenleri üretebileceği gösterilmiştir.^[25]

Çok yönlü farklılaşma özellikleri sergileyen kök hücrelerden, kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler, sinovyal membran veya yağ hücrelerinden türetilen kök hücreler de menisküs doku mühendisliği uygulamalarında kendine yer bulmuştur. Sıçan kökenli kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin hücresiz menisküs dokusuna, sığır

kökenli kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin PCL çatı iskelesine ve insan kökenli kemik iliği kök hücrelerinin ipek menisküs çatı iskelesine ekilmesi sonrası olumlu sonuçları bildirilmiştir.^[26-28] Menisküs defektlerinin ve osteoartritin tedavisi için diz eklemine kök hücrelerin doğrudan enjeksiyonu da klinik çalışmalarda değerlendirilmiştir.^[29] Ancak doku mühendisliği yöntemleriyle kök hücrelerin bir çatı implantı ile uygulanması, menisküs hasarının olduğu bölgede yüksek sayıda hücreyi tutabilmeyi sağlayacaktır. Bir çatı malzemesi olmadan özel bir yapay ortamda hücrelerin yüksek yoğunlukta bir araya gelerek menisküs dokusuna benzer bir doku oluşturmaya ise “çatı iskelesi olmadan hücre kültürü” adı verilmektedir. Tek bir hücre tipinin kendi kendine toplanması veya farklı hücrelerin beraber kültürü ile kendi kendine hücre toplanması olarak iki şekilde ayrılabilir olan bu yöntemin avantajı ise kollajen liflerinin daha sıkı çapraz bağlanmasına izin vererek mekanik dayanımı arttırabilmesidir.^[28]

BÜYÜME FAKTÖRLERİ

Hasarlı menisküs dokusunu sadece çatı implantı ve hücrelerin kombinasyonu ile yenilemek zordur. Bunlara ek olarak biyomekanik ve biyokimyasal uyarılar, doku mühendisliği yapısı ile fonksiyonel doku arasında bir köprü kurabilir. En yaygın biyokimyasal uyarılar büyüme faktörleridir. Kullanılan büyüme faktörleri genellikle normal uzuv gelişimi ve büyümesinde önemli bir rol oynamaktadır. Hücre göçünü, çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozu etkileyebilen bu büyüme faktörleri doku rejenerasyonu için kullanıldıklarında doku olgunlaşması ve yeniden şekillenmesinde de önemli roller oynayabilirler.

En fazla ve kapsamlı olarak incelenen büyüme faktörleri arasında dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) ailesi, temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) bulunur. Bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve trombosit zengin plazma (PRP) gibi diğer büyüme faktörlerinin de menisküs rejenerasyonu üzerine etkileri çalışılmıştır.^[30]

TGF- β , menisküs hücreleri tarafından kollajen üretimini ve glikozaminoglikan (GAG) sentezi üzerine oldukça etkili bir büyüme faktörüdür. TGF- β 1, PDGF-AB, IGF-I ve bFGF büyüme faktörlerinin tek tabakalı veya üç boyutlu (3D) meniskal fibrokondrositler üzerindeki etkilerinin karşılaştırdığı çalışmalarda, TGF- β 1 ile tedavinin, diğer büyüme faktörlerine kıyasla en fazla kollajen ve GAG üretimine yol açtığını bulunmuştur.^[31] Matris metabolizmasını düzenlemeye ek olarak, TGF- β 'nin menisküs doku mühendisliğindeki diğer bir ana işlevi, mezenkimal kök hücrelerin (*mesenchymal stem cells*, MSCs) çoğalması

ve fibrokondrojenik farklılaşmasını sağlamasıdır. Genel olarak, TGF- β kondrojenezde önemli bir rol oynar ve çalışmalar, TGF- β 3'ün tüm izoformlar arasında en güçlü kondrojenik etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Buna karşın, TGF- β 1 tedavisinin fibrozisin induksiyonu, sinovyal fibroplaziler, osteofit oluşumunun uyarılması ve enflamatuvar lökositlerin toplanması gibi bazı olumsuz yan etkilerinden söz edilmelidir.^[32] Lokal olarak TGF- β inhibitörlerinin uygulanmasının bu istenmeyen yan etkilerin engellenmesine yardımcı olabileceği de bildirilmiştir.^[32]

Dönüştürücü büyüme faktörü betanın süper ailesine ait kemik morfojenik proteinler (BMP) de kemik ve kırık oluşumu ve onarımında çok önemli bir rol oynar.^[33] Dönüştürücü büyüme faktörü betalar, benzer fonksiyon göstererek menisküs rejenerasyonu için potansiyel taşırlar. Kemik morfojenik proteinlerin belirgin ve anahtar işlevi, insan mezenkimal kök hücrelerinin osteojenik farklılaşmasıdır, ancak bunlar kemikle sınırlı değildir ve osteoblastik, tenojenik ve kondrojenik farklılaşmasını da indükleyebildiği gösterilmiştir.^[30]

Fibroblast büyüme faktörünün mezenkimal kök hücreler üzerindeki mitojenik etkileri uzun zamandır bilinmektedir. Fibroblast büyüme faktörü, kondrositler, fibrokondrositler, osteoblastlar ve adipositler dahil olmak üzere bir çok hücre tipi için güçlü bir mitojendir. Çok sayıda çalışma, bFGF'nin hem tek katmanlı kültürlerde hem de doku mühendisliği ile üretilen yapılarda menisküs hücre proliferasyonu üzerindeki güçlü uyarıcı etkilerini göstermiştir.^[34]

İnsülin benzeri büyüme faktörü-1, normal koşullar altında kırık dokunun önemli bir anabolik büyüme faktörüdür ve kırık ve menisküs doku mühendisliğinde sıkça çalışılmıştır. Genel olarak, IGF-1 anabolik etkileri artırır ve katabolik etkileri ise inhibe eder. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1'in menisküs yapılarının mekanik ve biyokimyasal özellikleri üzerindeki etkilerini araştırıldığı bir çalışmada IGF-1 tedavisinden dört hafta sonra, başlangıça oranla GAG üretiminde 26 kat, kollajen üretiminde 10 kat artış izlenmiştir.^[35]

Biyomekanik stimülasyon, genellikle, sıkıştırma yüklemesi veya gerilme direnci gibi doğal menisküs biyomekanik mikro ortamını taklit eder. Mekanik çevrenin yük alan dokuların biyokimyasal yapı, gen ekspresyonu ve biyomekanik özellikleri üzerinde çok belirleyici bir etkisi olduğu bilinmektedir. Pleji veya immobilizasyon gibi nedenlerle üzerine yük verilmeyen ekstremitelerde gelişen kullanılmaya bağlı atrofiler bunun en güzel örneğidir. Sıkıştırma yüklemelerinin, menisküste besin-atık değişimini arttırdığı ve menisküsün biyokimyasal ve biyomekanik özelliklerini modüle etmede çok

önemli bir rol oynadığını gösterilmiştir.^[36] Menisküs doku mühendisliği uygulamalarında da sıkıştırıcı kuvvetler üzerine çalışılmıştır. Aljinat hidrojel bir çatı implantı içerisine ekilen siğir fibrokondrositleri menisküs şekilli kalıplarda CaCl₂ ile çapraz bağlandıktan sonra altı haftaya kadar bir saat açık/bir saat kapalı döngüsü kullanılarak haftada üç kez %7-15 gerginlikte sıkıştırma uygulandığı bir çalışmada; iki hafta sonra, matris birikimi ve biyomekanik sonuçlar olumlu etkilenirken, yüklemenin süresi altı haftaya uzatıldığında GAG içeriğinin ve biyomekanik özelliklerin azalmasıyla sonuçlandığını gösterilmesi doku mühendisliği uygulamalarında biyomekanik uyarıların potansiyelini göstermektedir. Ancak, aşırı yüklenmesinin doğuracağı olumsuz etkilerden kaçınmak için yüklenme rejimleri optimize edilmelidir.^[36] Sıkıştırma yüklenmelerinin yanında, hidrostatik yüklenmeler, gerilme kuvvetleri, kültür sırasında mekanik perfüzyon uygulanması, hatta direkt elektrik akım alanları oluşturulması gibi mekanik uyarımlarla geliştirilen menisküs implantlarının hücresel ve biyomekanik özellikleri iyileştirilmeye çalışılmıştır.^[36]

Gen tedavisi, viral veya viral olmayan vektörler veya doğrudan enjeksiyon kullanarak spesifik genleri bir organizmaya veya dokuya aktarmayı amaçlayan menisküs doku mühendisliğine yeni bir yaklaşımdır. Gen tedavisinin en büyük avantajı, yüksek konsantrasyonda verilebilmesi ve bu büyüme faktörlerinin onarım bölgesinde kalıcı olarak eksprese edilebilmesidir.^[37] Şu anda menisküs doku mühendisliğinde gen transferi için viral olmayan vektörler, adenoviral vektörler, retroviral/lentiviral vektörler, herpes simpleks virüsü (HSV) vektörleri ve rekombinant adeno-ilişkili virüs (rAAV) vektörleri dahil olmak üzere çeşitli vektörler kullanılmaktadır.^[30,37] Bu gen tedavisi yöntemlerinin, büyüme faktörleri ile kombinasyonları ile iyileşmenin daha da artması amaçlanmaktadır. Örneğin, insan menisküs fibrokondrositlerinde in-vitro olarak rAAV ile vektörlenmiş bFGF eklenmesi hücre proliferasyonunu ve hücre sağ kalımını arttırmıştır.^[38] Yine TGF- β 1 ve tip I kollajen-GAG matrislerini kodlayan adenoviral vektörlerin ekildiği menisküs hücreleri ve kök hücrelerin beraberce siğir menisküsünün yaralı avasküler bölgesine uygulandığı bir başka çalışmada üç haftanın sonunda artmış selülarite, kollajen ve proteoglikan üretimi ve menisküs lezyonlarının yeni doku ile onarımı gösterilmiştir.^[39]

SONUÇ

Menisküs doku mühendisliğinde farklı malzeme özelliklerine sahip birçok biyomateryalden üretilen çatı implantları, çok sayıda hücre ve bunları uyaracak biyokimyasal, biyomekanik ve gen tedavi yöntemleri hasarlı menisküsün yerini alacak ideal implantın arayışında kullanılmıştır. Öncelikle menisektomi sonrası ağrıyı gider-

mek için tasarlanan bu malzemeler ile kırık hasarı ve ileride gelişebilecek osteoartritin de önüne geçilmesi amaçlanmıştır. Ancak hiçbir yapay malzeme menisküsün mekanik özelliklerini sağlamada tam olarak başarılı olamamış ve tüm çabalara rağmen kırıkta çok iyi koruduğu kanıtlanarak rutin klinik kullanıma girmiş bir implant henüz tasarlanamamıştır. Günümüzde en umut vadeden yaklaşımlar defekte uygun boyutta üretilebilen, hücre yüklü çatı implantlarının biyomekanik, biyokimyasal ve gen tedavisi yöntemleriyle zenginleştirildiği uygulamalar olarak öne çıkmaktadır. Menisküsün biyolojik ve mekanik yapısını birebir taklit ederek menisküsün yerini alabilecek bir malzemenin hala uzağında olsak da gelecekte katedilecek yolun doku mühendisliği uygulamalarından geçeceğini rahatlıkla söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Wojtys EM, Chan DB. Meniscus structure and function. Instr Course Lect 2005;54:323-30.
2. Garrett WE Jr, Swiontkowski MF, Weinstein JN, Callaghan J, Rosier RN, Berry DJ, et al. American board of orthopaedic surgery practice of the orthopaedic surgeon: Part-II, certification examination case mix. J Bone Joint Surg Am 2006;88(3):660-7. [Crossref](#)
3. Rodkey WG. Basic biology of the meniscus and response to injury. Instr Course Lect 2000;49:189-93.
4. Ochi M, Uchio Y, Okuda K, Shu N, Yamaguchi H, Sakai Y. Expression of cytokines after meniscal rasping to promote meniscal healing. Arthroscopy 2001;17(7):724-31. [Crossref](#)
5. Zhang Z, Arnold JA, Williams T, McCann B. Repairs by trephination and suturing of longitudinal injuries in the avascular area of the meniscus in goats. Am J Sports Med 1995;23(1):35-41. [Crossref](#)
6. Ishida K, Kuroda R, Miwa M, Tabata Y, Hokugo A, Kawamoto T, et al. The regenerative effects of platelet-rich plasma on meniscal cells in vitro and its in vivo application with biodegradable gelatin hydrogel. Tissue Eng 2007;13(5):1103-12. [Crossref](#)
7. Rijk PC, Tigchelaar-Gutter W, Bernoski FP, Van Noorden CJ. Functional changes in articular cartilage after meniscal allograft transplantation: A quantitative histochemical evaluation in rabbits. Arthroscopy 2006;22(2):152-8. [Crossref](#)
8. Pereira H, Frias AM, Oliveira JM, Espregueira-Mendes J, Reis RL. Tissue engineering and regenerative medicine strategies in meniscus lesions. Arthroscopy 2011;27(12):1706-19. [Crossref](#)
9. Kang SW, Son SM, Lee JS, Lee ES, Lee KY, Park SG, et al. Regeneration of whole meniscus using meniscal cells and polymer scaffolds in a rabbit total meniscectomy model. J Biomed Mater Res A 2006;77(4):659-71. [Crossref](#)
10. Stone KR, Rodkey WG, Webber R, McKinney L, Steadman JR. Meniscal regeneration with copolymeric collagen scaffolds in vitro and in vivo studies evaluated clinically, histologically, and biochemically. Am J Sports Med 1992;20(2):104-11. [Crossref](#)
11. Vrancken ACT, Buma P, van Tienen TG. Synthetic meniscus replacement: A review. Int Orthop 2013;37(2):291-9. [Crossref](#)
12. Baynat C, Andro C, Vincent JP, Schiele P, Buisson P, Dubrana F, et al. Actifit synthetic meniscal substitute: Experience with 18 patients in Brest, France. Orthop Traumatol Surg Res 2014;100(8):385-9. [Crossref](#)
13. Verdonk P, Beaufils P, Bellemans J, Djian P, Heinrichs EL, Huyse W, et al. Successful treatment of painful irreparable partial meniscal defects with a polyurethane scaffold two-year safety and clinical outcomes. Am J Sports Med 2012;40(4):844-53. [Crossref](#)
14. Rongen JJ, van Tienen TG, van Bochove B, Grijpma DW, Buma P. Biomaterials in search of a meniscus substitute. Biomaterials 2014;35(11):3527-40. [Crossref](#)
15. Dürselen L, Gruchenberg K, Friemert B. In vivo performance of a silk derived scaffold (FibroFix™) for partial meniscal replacement in an ovine model. Trans Annu Meet Orthop Res Soc 2012;0218.
16. Bodin A, Concaro S, Brittberg M, Gatenholm P. Bacterial cellulose as a potential meniscus implant. J Tissue Eng Regen Med 2007;1(5):406-8. [Crossref](#)
17. Chiari C, Koller U, Dorotka R, Eder C, Plasenzotti R, Lang S, et al. A tissue engineering approach to meniscus regeneration in a sheep model. Osteoarthritis Cartilage 2006;14(10):1056-65. [Crossref](#)
18. Kon E, Filardo G, Tschon M, Fini M, Giavaresi G, Reggiani LM, Chiari C, Nehrer S, Martin I, Salter DM, Ambrosio L. Tissue engineering for total meniscal substitution: animal study in sheep model—results at 12 months. Tissue Engineering Part A. 2012 Aug 1;18(15-16):1573-82.
19. Pezzin AP, Cardoso TP, Rincón MDA, de Carvalho Zavaglia CA, de Rezende Duek EA. Bioreabsorbable polymer scaffold as temporary meniscal prosthesis. Artif Organs 2003;27(5):428-31. [Crossref](#)
20. Esposito AR, Moda M, Cattani SM, de Santana GM, Barbieri JA, Munhoz MM, et al. PLDLA/PCL-T scaffold for meniscus tissue engineering. Biores Open Access 2013;2(2):138-47. [Crossref](#)
21. Balint E, Gatt CJ, Dunn MG. Design and mechanical evaluation of a novel fiber-reinforced scaffold for meniscus replacement. J Biomed Mater Res A 2012;100(1):195-202. [Crossref](#)
22. Demirkıran ND. Çok katmanlı menisküs yapı iskelelerinin menisküs iyileşmesi üzerine etkisinin tavşan modelinde araştırılması/Effects of multilayer meniscal scaffolds on meniscus healing: Investigation on a rabbit model. Tıpta Uzmanlık Tezi (Danışman: Havıtcıoğlu H), Türkçe, 2016:105.
23. Demirkıran ND, Havıtcıoğlu H, Ziyılan A, Cankurt Ü, Hüsemoğlu B. Novel multilayer meniscal scaffold provides biomechanical and histological results comparable to polyurethane scaffolds: An 8 week rabbit study. Acta Orthop Traumatol Turc 2019;53(2):120-8. [Crossref](#)
24. Warnock JJ, Fox DB, Stoker AM, Beatty M, Cockrell M, Janicek JC, et al. Culture of equine fibroblast-like synoviocytes on synthetic tissue scaffolds towards meniscal tissue engineering: A preliminary cell-seeding study. PeerJ 2014;2:e353. [Crossref](#)

25. Warnock JJ, Bobe G, Duesterdieck-Zellmer KF. Fibrochondrogenic potential of synoviocytes from osteoarthritic and normal joints cultured as tensioned bioscaffolds for meniscal tissue engineering in dogs. *PeerJ* 2014;2:e581. [Crossref](#)
26. Yamasaki T, Deie M, Shinomiya R, Izuta Y, Yasunaga Y, Yanada S, et al. Meniscal regeneration using tissue engineering with a scaffold derived from a rat meniscus and mesenchymal stromal cells derived from rat bone marrow. *J Biomed Mater Res A* 2005;75(1):23-30. [Crossref](#)
27. Baker BM, Shah RP, Huang AH, Mauck RL. Dynamic tensile loading improves the functional properties of mesenchymal stem cell-laden nanofiber-based fibrocartilage. *Tissue Eng Part A* 2011;17(9-10):1445-55. [Crossref](#)
28. Mandal BB, Park SH, Gil ES, Kaplan DL. Stem cell-based meniscus tissue engineering. *Tissue Eng Part A* 2011;17(21-22):2749-61. [Crossref](#)
29. Vangsness Jr CT, Farr II J, Boyd J, Dellaero DT, Mills CR, LeRoux-Williams M. Adult human mesenchymal stem cells delivered via intra-articular injection to the knee following partial medial meniscectomy: A randomized, double-blind, controlled study. *J Bone Joint Surg Am* 2014;96(2):90-8. [Crossref](#)
30. Chen M, Guo W, Gao S, Hao C, Shen S, Zhang Z, et al. Biochemical stimulus-based strategies for meniscus tissue engineering and regeneration. *Biomed Res Int* 2018;2018:8472309. [Crossref](#)
31. Pangborn CA, Athanasiou KA. Effects of growth factors on meniscal fibrochondrocytes. *Tissue Eng* 2005;11(7-8):1141-8. [Crossref](#)
32. Davidson EB, Van der Kraan PM, Van Den Berg WB. TGF- β and osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15(6):597-604. [Crossref](#)
33. Carreira AC, Alves GG, Zambuzzi WF, Sogayar MC, Granjeiro JM. Bone morphogenetic proteins: Structure, biological function and therapeutic applications. *Arch Biochem Biophys* 2014;561:64-73. [Crossref](#)
34. Tumia NS, Johnstone AJ. Promoting the proliferative and synthetic activity of knee meniscal fibrochondrocytes using basic fibroblast growth factor in vitro. *Am J Sports Med* 2004;32(4):915-20. [Crossref](#)
35. Puetzer JL, Brown BN, Ballyns JJ, Bonassar LJ. The effect of IGF-I on anatomically shaped tissue-engineered menisci. *Tissue Eng Part A* 2013;19(11-12):1443-50. [Crossref](#)
36. Ballyns JJ, Bonassar LJ. Dynamic compressive loading of image-guided tissue engineered meniscal constructs. *J Biomech* 2011;44(3):509-16. [Crossref](#)
37. Cucchiari M, McNulty AL, Mauck RL, Setton LA, Guilak F, Madry H. Advances in combining gene therapy with cell and tissue engineering-based approaches to enhance healing of the meniscus. *Osteoarthritis Cartilage* 2016;24(8):1330-9. [Crossref](#)
38. Lozito TP, Alexander PG, Lin H, Gottardi R, Cheng AW, Tuan RS. Three-dimensional osteochondral microtissue to model pathogenesis of osteoarthritis. *Stem Cell Res Ther* 2013;4(1):1-6. [Crossref](#)
39. Steinert AF, Palmer GD, Capito R, Hofstaetter JG, Pilapil C, Ghivizzani SC, et al. Genetically enhanced engineering of meniscus tissue using ex vivo delivery of transforming growth factor- β 1 complementary deoxyribonucleic acid. *Tissue Eng* 2007;13(9):2227-37. [Crossref](#)