

**TAVŞANLARDA PERİKONDRIUM GREFTLERİNDEN YENİ KIKIRDAK OLUŞUMUNA
HETEROLOG KOLLAJENİN ETKİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA****THE EFFECT OF HETEROLOGOUS COLLAGEN IN NEOCHONDROGENESIS FROM
FREE PERICHONDRIAL GRAFTS, IN RABBITS: AN EXPERIMENTAL STUDY**

Dr. Serhat ÖZBEK, Dr. Cenk ŞEN*, Dr. Zeynep KAHVECİ**, Dr. Mesut ÖZCAN

ÖZET

Amaç: Perikondriumun kıkırdak oluşturma kapasitesi farkedildiğinden beri, bu konuda birçok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır ve kıkırdak defektlerinin onarımında perikondrium greftleri kullanılmıştır. Perikondriumdan kıkırdak rejenerasyonunun hızlandırılması birçok klinik avantaj sağlayacaktır. Bu deneysel çalışma, heterolog kollajenin, perikondrium greftlerinden yeni kıkırdak oluşumu üzerine hızlandırıcı etkisi olup olmadığını araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve yöntem: Oniki adet Yeni-Zelanda türü beyaz tavşanda, heriki kulaktan elde ettiğimiz perikondrium greftlerini, heriki tarafta sırt kaslarının üzerine greft olarak yerleştirdik. Bir tarafta perikondrium grefti ile kas arasına heterolog kollajen sünger yerleştirirken, diğer tarafı kontrol olarak kullandık. Kırkbeş, yüzüymü ve yüzsekseninci günlerde dörder adet tavşandan örnek olarak kıkırdak rejenerasyonunu histolojik olarak inceledik.

Bulgular: Histolojik inceleme sonucu, tavşanlarda heterolog kollajenin perikondriumdan kıkırdak rejenerasyonunu artırdığını ve hızlandırdığını gözlemledik.

Sonuç: Kıkırdak defekti, perikondrium grefti ile onarılacaksa, heterolog kollajenin de kullanılmasının faydalı olacağına inanıyoruz.

Anahtar Kelimeler: Heterolog kollajen, perikondrium grefti, yeni kıkırdak oluşumu.

ABSTRACT

Background: After chondrogenic potential of perichondrium was recognized, perichondrial grafts have been used in reconstruction of cartilage defects. Enhancing neochondrogenesis has many advantages, in this regard. This experimental study was done in the aim of identifying whether the heterologous collagen has an accelerating effect on neochondrogenesis from perichondrial grafts or not.

Methods: We placed perichondrial grafts, onto the dorsal muscles of twelve white New-Zealand rabbits, on both sides. On one side, heterologous collagen sponge was inserted between the graft and the muscle, the other side served as a control.

Results: As a result of histological assessment on days 45, 120 and 180, we obtained that heterologous collagen enhanced the neochondrogenesis.

Conclusion: We believe that, if any cartilage defect would be reconstructed with a perichondrial graft, additional use of heterologous collagen will be helpful.

Key words: Neochondrogenesis, heterologous collagen, perichondrial grafts.

GİRİŞ

Kıkırdak dokusu, eklemlerde yükün dağıtılmasında (hyalin kıkırdak), yüklerin tendon ve kemik arasında aktarılmasında (fibrokartilaj) ve dış yapılar esnek bir destek sağlanmasında (elastik kıkırdak) önemli rol oynayan, özelleşmiş bir bağ dokusudur (1-7). Bu önemli dokunun konjenital yokluğunda, travmatik veya cerrahi kaybında, fonksiyon bozuklukları ve estetik kusurlar ortaya çıkar. Özellikle travmatik

veya dejeneratif eklem kıkırdağı kayıpları sonucunda, eklemlerde hareket kısıtlılığı ve sonrasında hareket kaybı ile karşılaşılacaktır. Bu nedenle, şartlar elverdiğince, kıkırdak kayıpları yerine konulmaya çalışılmalıdır.

Kıkırdak defektlerini onarmak için, en sık başvuru yöntemi, otojen kıkırdak transplantasyonudur (2,5,7). Ama, kıkırdak greftlerinin zamanla rezorbe olmaları, donör alanlarının sınırlı olması, bazı donör

alan morbiditeleri ve alındıkları yerde defekt kalması gibi sakıncalar, araştırmacıları yeni seçenekler bulmaya zorlamıştır (6).

1959 yılında Lester, kıkırdaktan ayrılan perikondriumun, yeni kıkırdak oluşumuna neden olduğunu bildirmiştir (8). Bunun klinik önemi, 1972 yılında, Ohlsen ve arkadaşları tarafından, güreşçi kulağının etiyojisi araştırılırken, perikondriumun kıkırdak oluşturma kapasitesinin olduğu fark edilene kadar anlaşılammıştır (9). Ohlsen, Skoog ve Sohn, perikondriumun altındaki kıkırdaktan ayrılmasının, kontakt inhibisyonu ortadan kaldırdığını ve bu nedenle yeni kıkırdak oluştuğunu göstermişlerdir (9,10).

Perikondriumun kıkırdak yapıcı potansiyeli olduğunun anlaşılmasından sonra, serbest perikondrium greftlerinden kıkırdak rejenerasyonu konusunda birçok deneysel çalışmalar yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (11-18). Bu başarılı sonuçlar, yöntemin klinik alanda da kullanılması sonucunu doğurmuştur (19-22).

Gelişme çağı dışında, hasarlanan kıkırdak, zorlukla ve çoğu zaman yetersiz rejenerer olur. Rejenerasyon çoğunlukla perikondriumun aktivitesi sonucunda gerçekleşir. Kıkırdak bütünlüğü bozulduğunda, perikondrium kaynaklı kondroblastlar defekt bölgesine gelerek, yeni kıkırdak oluştururlar (2-5). Sonuçta, perikondrium olgunlaşmış kıkırdağa temas edince, yeni kıkırdak oluşumu inhibe olur (23). Eğer hasar genişse, perikondrium yeterince hızlı kıkırdak oluşturamaz; bu durumda defekt, hızlı gelişen ve yoğun bağ dokusundan oluşan skar dokusu ile kapatılır ve eklem mekanik özellikleri bozulur (1). Bu nedenle, skar dokusu oluşumundan daha hızlı bir şekilde kıkırdak rejenerasyonu oluşmasını sağlayabilmek önemlidir. Ayrıca, kıkırdak rejenerasyonunun hızlandırılması, perikondrium kullanılarak yapılan artroplastilerde, ameliyat sonrası uzun süreli ağırlık taşıma kısıtlanması periyodunu da azaltacaktır (24).

Liyofilize heterolog kollajen biyomateryaller, yıllardan beri, yumuşak doku yerine geçen, hemostatik etkisi olan, rejenerasyonu ve onarımı hızlandıran biyomateryaller olarak araştırılmakta ve kullanılmaktadırlar (25,26). İn vitro şartlarda kıkırdak rejenerasyonunu hızlandırabildikleri gösterilmiştir (27,28). Bu deneysel çalışmada, liyofilize heterolog kollajenin, in vivo olarak, tavşanlarda perikondrium greftlerinden yeni kıkırdak oluşumuna etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, 12 adet, ağırlıkları 1.200-1.300 gr. arasında ve yaşları 8 ile 10 hafta arasında değişen, Yeni Zelanda türü, beyaz erkek tavşanlar kullanıldı.

Deneyin başlangıcında, tavşanların her iki kulağındaki ve sırtındaki kıllar traş edildi. Anestezi, 5 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar ®) ve 2 mg/kg xylasine hidrokloridin (Rompun ®) intramusküler enjeksiyonları ile sağlandı. Ameliyat süresinin uzadığı durumlarda ve tavşan ağrı duymaya başladığında, ketamin hidroklorid, 5mg/kg dozunda tekrar, intramusküler olarak verildi.

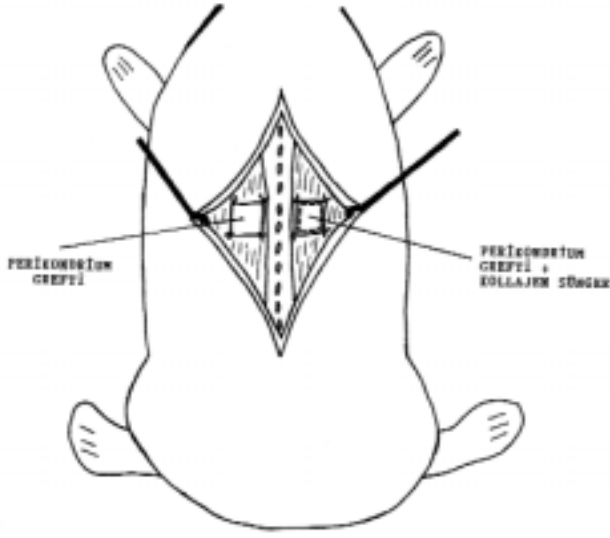
Anestezi sonrası, tavşanın her iki kulağının üst-orta kısmında, "H" şeklinde bir cilt insizyonu planlandı. Bu H insizyonun, bacakları 3 cm, ortası 4 cm idi. Ek bir anestezi sağlamak ve kanamayı azaltmak amacıyla, bu çizgi boyunca, lidokain-adrenalin (Jektokain ®) solüsyonu, cilt altına injekte edildi. Daha sonra, cilt, ciltaltı insizyonları yapıldı ve perikondrium zeminde kalacak şekilde, cilt, ciltaltı flepleri her iki tarafa doğru diseke edildi. Ortaya çıkan perikondriumdan, her iki tarafta 2x2 cm lik serbest perikondrium greftleri elde edildi ve bunlar, serum fizyolojik ile ıslatılmış gazlı bezler içine konularak, saklandı. Cilt insizyonları, 4/0 prolent dikiş ile primer kapatıldı.

Tavşanın sırtında, orta hatta, daha önce kıllardan arındırılmış bölge üzerinde, uzunlamasına, 7-8 cm lik cilt insizyonu yapıldı. Yüzeysel ve derin fasyalar geçilerek, dorsal kasların fasyasına ulaşıldı. Orta hattın her iki tarafında, kasların fasyalarından, yaklaşık 3x3 cm lik parçalar çıkarılarak, fasya defekti yaratıldı ve kas dokusu açığa çıkarıldı. Kontrol olması amacıyla, bu defektlerden, bir taraftakine, daha önce elde edilen perikondrium greftlerinden bir tanesi, aktif yüzü kasa bakacak şekilde, 4/0 prolent dikiş ile, gergin bir şekilde dikildi. Deney yapılan diğer tarafta ise, perikondrium greftinin aktif yüzü ile kas arasına, 2x2 cm lik liyofilize heterolog kollajen sünger konularak, perikondrium grefti, 4/0 prolent dikiş ile, yine gergin bir şekilde tespit edildi (Resim 1). Cilt insizyonu 4/0 prolent dikiş ile kapatıldı. Tavşanlar kafeslerine konularak, standart laboratuvar koşullarında barındırıldı.

Ameliyat sonrası 45., 120. ve 180. günlerde, dörder adet tavşandan biyopsiler alındı. Alınan doku örnekleri, nötral formalin içerisinde uygun sürede fikse edildikten sonra, doku takibi işleminden geçirilerek, parafin bloklar haline getirildi. Mikrotom yardımıyla alınan 5 mikronluk seri kesitler, hematoxilen-eozin boyasıyla boyanarak, 50, 100 ve 200 büyütme ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Kıkırdak görülen alanlar fotomikroskopla görüntülendi.

Kollajen sünger:

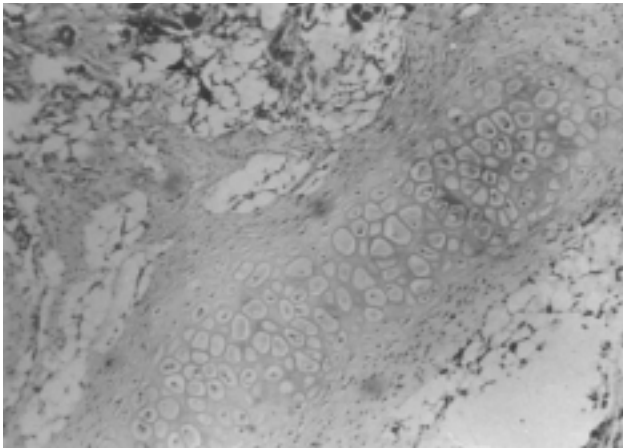
Deneysel çalışmamızda kullandığımız heterolog kollajen, sığır aşil tendonundan elde edilip, saflaştırılmış ve liyofilize edilmiştir. Tip I kollajen içermektedir ve sünger formundadır (Gelfix ®).



Resim 1. Tavşan kulaklarından alınan perikondrium greftleri, her iki tarafta, kondrojenik tarafı kasa bakacak şekilde, sırt kaslarının üzerine yerleştirildi. Bir tarafta greft ve kas arasına heterolog kollajen sünger konuldu.

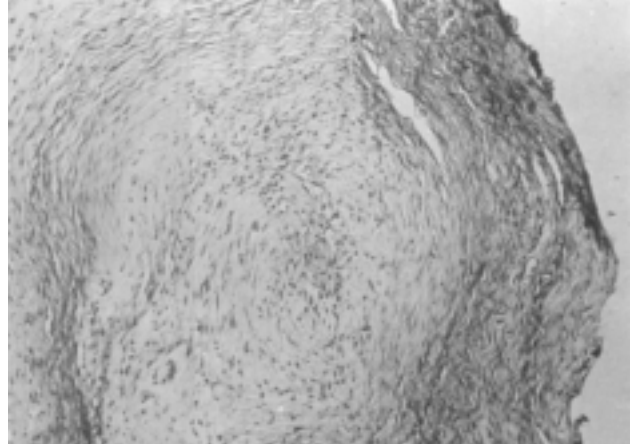
SONUÇLAR

Tavşanlardan 45. gün alınan doku örneklerinin yapılan histolojik incelemelerinde, kollajen uygulanan tarafta, ortada asidofilik boyanan, yüksek mitotik aktivite gösteren, geniş vakuollü genç kondroblastlar, çevresinde yassı yapıda kondroblast öncesi hücreler ve oluşmakta olan ara madde görülmektedir (Resim 2). Bu yapılar, uzun ve geniş adalar şeklinde gözlemlendi. Kontrol tarafında ise, taranan alanlarda yeni kırık oluşumu gözlenemedi. Bazı yerlerde perikondrium yapısı izlendi (Resim 3).



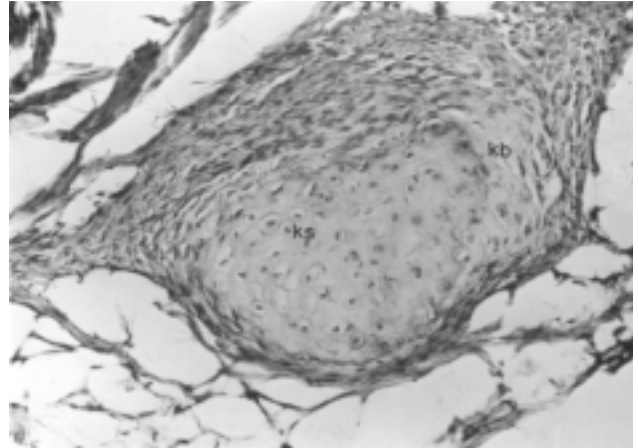
Resim 2. Kollajen kullanılan tarafta, kırkbeşinci günde, kondroblast oluşumu (H&E, X 100).

Yüzyirminci günde alınan biyopsilerde, kollajen kullanılan tarafta, yeni oluşan kırık miktarının



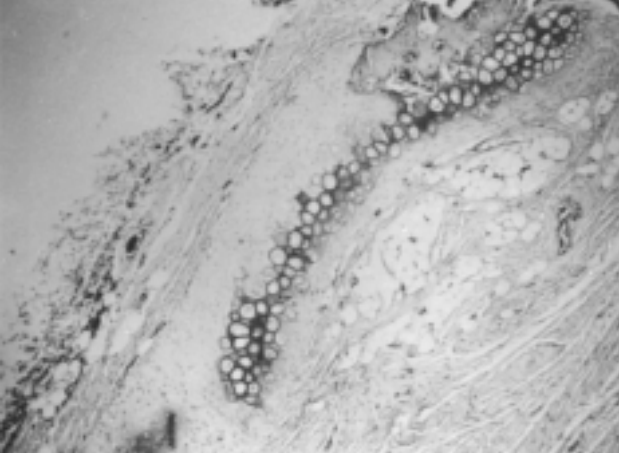
Resim 3. Kontrol tarafında, 45. günde kondroblast oluşumu gözlenemedi, sadece perikondrium gözlenebildi (H&E, X 100).

arttığı saptandı. Yeni kırık oluşumu, daha geniş adalar şeklindeydi. Bu adalarda, ortada bazofilik boyanan kondrositler ve etraflarında asidofilik boyanan kondroblastlar gözlenmekteydi (Resim 4). Kontrol tarafından alınan biyopsilerde ise, yeni kırık oluşumu minimaldi.



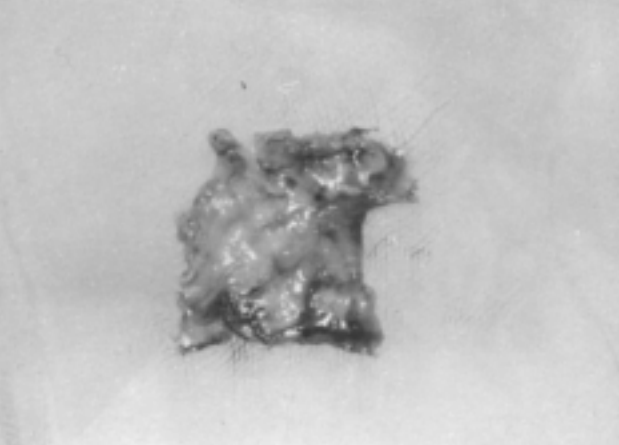
Resim 4. Kollajen tarafında, 120. günde, ortada oluşmaya başlayan kondrositler ve etraflarında kondroblastlar. (H&E, X 200).

Yüzsekseninci günde alınan doku örneklerinde, kollajen kullanılan tarafta, ortada olgun kondrositleri, etrafında genç kondroblastları içeren geniş ve uzun adalar şeklinde yeni kırık oluşumu görülmekteydi (Resim 5) ve kırık rejenerasyonu devam etmekteydi. Makroskobik olarak, oluşan kırığın lamellar yapıda olmadığı, küçük küresel adalar şeklinde olduğu görüldü (Resim 6). Kontrol tarafında ise, yeni kırık oluşumu, ancak küçük ada-



Resim 5. Kollajen tarafında, 180. günde, yoğun kıkırdak oluşumu. Ortada koyu boyanan kondrositler ve etraflarında açık boyanan kondroblastlar (H&E, X 50).

cıklar şeklinde gözlemlendi. Kondrositler etrafında az sayıda kondroblast olması, kollajen uygulanan taraftan belirgin bir farklılık gösteriyordu (Resim 7).

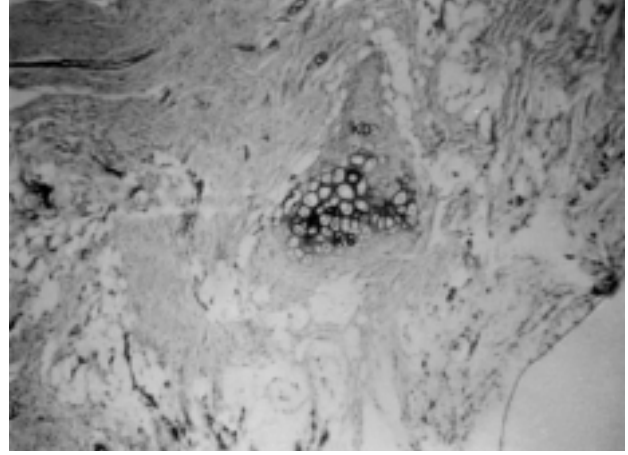


Resim 6. Kollajen tarafında, 180. günde, kürecikler şeklinde oluşan kıkırdak dokusunun makroskobik görüntüsü.

Tüm bu bulgular bize, heterolog kollajen süngerin, tavşanlarda serbest perikondrium greftlerinden yeni kıkırdak oluşumunu arttırdığını ve hızlandırdığını, histolojik olarak gösterdi.

TARTIŞMA

Gelişmekte olan canlılarda, perikondrium, kıkırdaktan ayrıldığı zaman yeni kıkırdak oluşturma kapasitesine sahiptir (8-11). Bu nedenle, kıkırdak defektlerinin onarımında, kıkırdak greftlerinin yanı sıra, perikondrium flepleri (9,17) ve greftleri (12-22) de kullanılmaktadır. Perikondrium, Tip I kollajen liflerden zengindir ve çok sayıda fibroblast içerir. İç tabakalarındaki hücreler, fibroblast olarak tanımlan-



Resim 7. Kontrol tarafında, 180. günde, ortada olgun kondrositler, etraflarında az miktarda kondroblast bulunan küçük adalar tarzında yeni kıkırdak oluşumu (H&E, X 50).

lanmasına rağmen, bunlar aynı zamanda kondroblastlardır ve kolaylıkla kondrositlere dönüşebilirler (3-5).

Eklem kıkırdaklarında, travma veya sonrasındaki yara iyileşmesi nedeniyle, hyalin kıkırdak yapısında oluşan herhangi bir değişiklik, mekanik özelliklerinde ve fonksiyonel davranışında da değişikliklere yol açar. Çünkü, eğer kıkırdak defekti büyükse, kıkırdak rejenerasyonu skar oluşumundan daha yavaş olduğu için, defekti fibröz bağ dokusu doldurur (1). Bu durumda, kıkırdak rejenerasyonunun hızlandırılması faydalı olacaktır. Ayrıca, eklem kıkırdağındaki defektler perikondrium greftleri ile onarılmışsa, kıkırdak rejenerasyonuna kadar, ekleme yük verilememektedir. Bu durumda da, yeni kıkırdak oluşumunun hızlandırılması faydalı olacaktır (24).

Perikondriumdan kıkırdak rejenerasyonunu hızlandırabilmek amacıyla çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalar yapılmıştır. Kimura ve ark., kondrosit hücre kültüründe kollajen jelin kıkırdak rejenerasyonu artırıcı etkisini saptamışlar (27), ama Bruns ve ark., perikondrium hücre kültüründe kollajen süngerin artırıcı etkisini saptayamamışlardır. Bunun nedeni olarak, perikondrial progenitör hücrelerin kollajen süngerle direkt temasının olmayışını göstermişlerdir (24). Maor ve ark., kondroprogenitör hücre kültürlerinde yaptıkları çalışma sonucunda, kollajen süngerin hücre göçünü, replikasyonunu ve farklılaşmasını kolaylaştırdığını bildirmişlerdir (28). Wakitani ve ark. ise, in vivo olarak tavşanlarda kollajen jel kullanmışlar ve kıkırdak rejenerasyonunun hızlandığını bildirmişlerdir (29). Bizde, bu deneysel çalışmamızda, kollajen süngerin perikondrium greftlerinden yeni kıkırdak oluşumunun in vivo etkisini araştırdık.

Kıkırdak hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması, çoğu hücrede olduğu gibi, bir yere tutunmaya

ihtiyaç gösterir. Dahası, bu tutunma, hücrelerin diğer düzenleyici faktörlere cevap vermesini de kolaylaştırabilir (28). Kollajen süngerin ultrastrüktürel yapısındaki iskelet, bu tutunma ihtiyacını karşılar. Ayrıca, kollajen sünger, yeni oluşan matriksin yapısına katılmaktadır (27). Kollajen süngerin düşünülen bir diğer etkisi de, progenitör hücrelerden salınan ve yeni kırıkta oluşumuna hızlandıran (1), "cartilage derived growth factor", "cationic cartilage derived growth factor", "11-kDa somatomedin-C-like substance" ve "insulin-like growth factor-I" gibi faktörlerin ortamda alıkonulmasını sağlamasıdır (28). Bir diğer olası etki de, fibronektinin kollajen sünger tarafından yoğun bir şekilde bağlanması (25,26) sonucu hücre tutunmasının kolaylaşmasıdır.

Skar dokusu oluşumu, travmanın ilk 24 saati içinde başladığından, genellikle kırıkta kendisini onarabilmesinden daha hızlıdır. Bu nedenle, kanamayı ve enflamasyonu sınırlandırarak skar dokusu oluşumunu en aza indirmek, kırıkta onarım miktarının en fazla olabilmesi için gereklidir (1). Dolayısıyla, kollajen süngerin etkili bir hemostatik ajan olması (25,26), skar gelişimini azaltıcı, dolayısıyla kırıkta gelişimini artırıcı etki göstermesini sağlayabilir.

Bir kısmı gösterilmiş, diğer kısmı ise muhtemel olan bu etkilerden hangilerinin ve ne ölçüde geçerli olduğunun anlaşılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Daha önce yaptığımız bir deneysel çalışmada, tavşanlarda heterolog kollajen süngerin, perikondrium fleplerinden yeni kırıkta oluşumunu hızlandırdığını gözlemlemiştik (30). Bu deneysel çalışmamızda da, aynı etkiyi serbest perikondrium greftlerinden yeni kırıkta oluşumunda gözlemledik. Dolayısıyla, eğer klinik uygulamada, kırıkta defektinin onarımı perikondrium flebi veya grefti ile yapılacaksa, perikondriumun aktif yüzeyi ile zemin arasına kollajen sünger konulmasının faydalı olacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

1. Silver FH, Glasgold AI. Cartilage wound healing. An overview. *Otolaryngol.Clin. North Am.* 1995; 28: 847-864.
2. Brent B. Repair and grafting of cartilage and perichondrium. In: McCarthy JG, ed. *Plastic Surgery. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1990: 559-582.*
3. Leeson TS, Leeson CR. Specialized connective tissue. In: *Histology. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1981: 137-161.*
4. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Cartilage. In: *Basic Histology. 7th ed. New Jersey: Appleton and Lange; 1992: 132-141.*
5. Stevens A, Lowe J. Support cells and extracellular

matrix. In: *Histology. London: Gower Medical Publishers; 1992: 42-56.*

6. Özgentaş HE, Erol ÖO, Gürsu-Hazarlı GG. Sekonder arteriyel perikondrial fleplerde kırıkta rejenerasyonu. *Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Dergisi.* 1982-1983; 4-5: 79-89.

7. Pessa J, Riefkohl R. Principles of cartilage grafting. In: Georgiade GS, Georgiade NG, Riefkohl R, Barwick W, eds. *Textbook of Plastic, Maxillofacial and Reconstructive Surgery. 1st ed. Maryland: Williams and Wilkins; 1987: 79-82.*

8. Lester CW. Tissue replacement after subperichondrial resection of costal cartilage: two case reports. *Plast. Reconstr. Surg.* 1959; 23: 49-54.

9. Ohlsen L, Vedung S. Reconstructing the antihelix of protruding ears by perichondrioplasty: a modified technique. *Plast. Reconstr. Surg.* 1980; 65: 753-762.

10. Skoog T, Ohlsen L, Sohn SA. Perichondrial potential for cartilagenous regeneration. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 1972; 6: 123-125.

11. Ohlsen L. Cartilage regeneration from perichondrium. *Plast. Reconstr. Surg.* 1978; 62: 507-513.

12. Ohlsen L. Cartilage formation from free perichondrial grafts: an experimental study in rabbits. *Br. J. Plast. Reconstr. Surg.* 1976; 29: 262-267.

13. Sohn SA, Ohlsen L. Growth of cartilage from a free perichondrial graft placed across a defect in a rabbit's trachea. *Plast. Reconstr. Surg.* 1974; 53: 55-60.

14. Gültan SM, Emiroğlu M, Çenetoğlu IS, Yormuk E. Effects of free perichondrial graft replacement of epiphyseal cartilage on bone growth. *Scand. J. Plast. Reconstr. Hand Surg.* 1993; 27:1-8.

15. Homminga GN, Bulstra SK, Kuijer R, et al. Repair of sheep articular cartilage defects with a rabbit costal perichondrial graft. *Acta. Orthop. Scand.* 1991; 62: 415-418.

16. Delaere PR, Boeckx WD, Guelinckx PJ, et al. Perichondrial microvascular free transfer: creation of a compound flap for laryngeal reconstruction in rabbits. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 1992; 101: 265-269.

17. Hartig GK, Esclamado RM, Telian SA. Comparison of the chondrogenic potential of free and vascularized perichondrium in the airway. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 1994; 103: 9-15.

18. Coutts RD, Woo SL, Amiel D, et al. Rib perichondrial autografts in full-thickness articular cartilage defects in rabbits. *Clin. Orthop.* 1992; 275: 263-273.

19. Skoog T, Johansson SH. The formation of articular cartilage from free perichondrial grafts. *Plast. Reconstr. Surg.* 1976; 57: 1-6.

20. Homminga GN, Bulstra SK, Bouwmeester PM, et al. Perichondrial grafting for cartilage lesions of the knee. *J. Bone Joint Surg.* 1990; 72: 1003-1007.

21. Engkvist O, Ohlsen L. Reconstruction of articular cartilage with free autologous perichondrial grafts. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 1979; 13: 269-274.

22. Ritsila V, Poussa M, Rubak J, et al. Periosteal and perichondrial grafts in reconstruction of joint surfaces. *Acta Orthop. Scand.* 1981; 52: 447.

23. Hosokawa K, Hata Y, Yano K, et al. Inhibitory effect of mature cartilage on perichondrial neochondrogenesis. *Ann. Plast. Surg.* 1989; 23: 155-158.

24. Bruns J, Kersten P, Lierse W, et al. The in vitro influence of different culture conditions on the potential of sheep rib perichondrium to form hyaline-like cartilage: evaluation of gluing materials used for in vivo graft fixation. *Wirchows Archiv.* 1994; 424: 169-175.

25. Mian E, Mian M, Beghe F. Lyophilized type-I collagen and chronic leg ulcers. *Int. J. Tiss. React.* 1991; 13: 257-269.

26. Beghe F, Menicagli C, Neggiani P, et al. Lyophilized non-denatured type-I collagen (Condress) extracted

from bovine achilles tendon and suitable for clinical use. *Int. J. Tiss. React.* 1992; 14: 11-19.

27. Kimura T, Yasui N, Ohsawa S, et al. Chondrocytes embedded in collagen gels maintain cartilage phenotype during long-term cultures. *Clin. Orthop.* 1984; 186: 231-239.

28. Maor G, Mark KVD, Reddi H, et al. Acceleration of cartilage and bone formation on collagenous substrata. *Collagen Relat. Res.* 1987; 7: 351-370.

29. Wakitani S, Kimura T, Hirooka A, et al. Repair of rabbit articular surfaces with allograft chondrocytes embedded in collagen gel. *J. Bone Joint Surg. (British)* 1989; 71: 74-80.

30. Özbek S, Kahveci R, Kahveci Z, et al. The effect of lyophilized heterologous collagen on new cartilage formation from perichondrial flaps in Rabbits: An experimental study. *Ann. Plast. Surg. (Baskıda).*

*Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi A.D. - Kocaeli.

**Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.D. - Bursa.

Yazışma Adresi: Dr. Serhat Özbek

Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi A.D., 16059, Görükle-Bursa, Türkiye

E-Mail: sezbek@yahoo.com