

İntermitan aktif hareket etkisi altında full-thickness kıkırdak defektlerinin pediküllü periost otogreft transferi ile onarımı -Tavşanlar üzerinde deneysel araştırma-

Bener Şen⁽¹⁾, Mehmet Aşık⁽²⁾, Korkmaz Döner⁽¹⁾, Adem Arslan⁽³⁾, Ahmet Kapukaya⁽⁴⁾, Ayтуğ Ertav⁽⁴⁾

Bu deneysel çalışmada pediküllü periost otogreftlerinin intermitan aktif hareket etkisi altında, kondrojenik potansiyelinin araştırılması ile ilgili deneysel incelemeler yapılmıştır. Tavşanların sağ femurları deney grubu olarak alınmış ve distal bölge anteriorundan kambiyum tabakası içerecek şekilde periost hazırlanmıştır. Hazırlanan periostun distal kenarı pedikül anlamında intakt bırakılmış ve patellar oluşun proksimalinden oluşturulan tam kıkırdak defektini kapatacak şekilde eklem içine transfer edilmiştir. Tavşanların sol dizleri kontrol grubu olarak alınmış ve kıkırdak defektini benzer şekilde oluşturulduktan sonra kapatılmıştır. Ameliyatlardan sonra oda içerisinde serbest olarak hareketlerine izin verilen toplam 10 adet tavşanın beşi ameliyat sonrası 6. haftada, diğer beşi de 9. haftada öldürülmüş, elde edilen pateller bölgeler üzerinde makroskopik ve mikroskopik incelemeler yapılmıştır.

Yapılan incelemeler ışığında kıkırdak defektlerinin pediküllü periost transferleri ile intermitan aktif hareket etkisi altında mükemmelen onarılabileceği gösterilmiş ($p < 0001$), yöntem ile ilgili detaylı araştırmalar yapılmasının faydalı olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: İntermitan aktif hareket, full-thickness kıkırdak defektini, pediküllü periost otogrefti

Reconstruction of full-thickness cartilage defects by transfer of pediculated periosteal autografts under the influence of intermittent active motion

The purpose of this study was to determine the chondrogenic potential of pediculated intra-articular autografts of periosteum under the influence of intermittent active motion. A pediculated graft of periosteum (including the cambium layer) was prepared from the anterior aspect of the distal end of the femur. Five by ten mm rectangular periosteum was stripped off the femur. The distal articular edge of this periosteum was the pedicle and left intact. Then the stripped periosteum was turned round to the articular cavity and sutured (with its cambium layer facing into the joint) to the base of a full-thickness defect on the patellar groove of the right knee joint in ten rabbits. The left knees were the control. The same full-thickness articular cartilage defect of the patellar groove was created in each left knee joint. The rabbits were randomly treated postoperatively by intermittent active motion in a room. Five rabbits were killed at the sixth and the other five rabbits were killed at the ninth week postoperatively. The regenerated tissue from each rabbit was analysed macroscopically and histologically.

After the sixth and ninth weeks, full-thickness defects of right knees were covered with excellent cartilaginous tissue macroscopically and these findings were supported microscopically. No regeneration was observed in the control knees ($p < 0001$). In conclusion, this study demonstrated chondrogenic potential and good resurfacing characteristics of pediculated periosteal autografts applied to full-thickness articular defects. Further investigation is worth being done.

Key words: Intermittent active motion, full-thickness chondrogenic defect, pediculated periosteal autografts

Değişik etyolojik faktörlere bağlı olarak gelişen eklem destrüksiyonlarını tedavi etmek ve yeniden fonksiyonel hale getirebilmek amacıyla biyolojik, sentetik veya metalik biyomateryeller geliştirilmiştir. Metalik olan materyellerin kullanıldığı durumlarda orijinal yapıdan uzaklaşmaktadır. Biyolojik yapıdaki perikondral greftler, destrükte eklem yüzlerinin rekonstrüksiyonu amacıyla hayvan ve insanlar üzerinde denenmiş ancak başarılı olunamamıştır (5).

Kıkırdak destrüksiyonlarının onarımında periost

transplantasyonu ile daha iyi netice alınabileceği konusunda yazarlar arasında fikir birliğine varılmıştır (1, 2, 3, 7). Bu görüşü savunan yazarlara göre periostun kambiyum tabakasındaki indifferansiye mezenkimal hücreler pluripotansiyel özellikleri nedeniyle kondrositlere dönüşebilir ve mükemmelen kıkırdak doku meydana getirebilirler (5). Bu hipotezden yola çıkan Rubak ve arkadaşları (1982) sinovial eklemlerde yarattıkları kıkırdak defektlerini, intermitan aktif hareket altında, serbest periost otogreft transplantasyonu ile

(1) Diyarbakır Üniv. Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Yard. Doç. Dr.

(2) İstanbul Üniv. İst. Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Uzman Dr.

(3) Diyarbakır Üniv. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Doç. Dr.

(4) Diyarbakır Üniv. Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi

tedavi etmeyi başarmışlardır (7, 8, 9). Periost greftlerinin kırık defektini onarımında kullanılması ile ilgili olarak Salter, Rubak, O'Driscoll, Zarnett gibi araştırmacılar tarafından detaylı incelemeler yapılmış ve yöntemin etkinliği üzerinde eklem hareketinin de önemli bir rol oynadığı fikrinde birleşmiştir (3, 4, 9, 10, 11, 12,13).Yapılan literatür incelemelerinde kırık defektlerinin onarımı amacıyla genellikle serbest periost otogreftlerinin kullanıldığı belirlenmiştir. Pediküllü periost otogreftleri ile yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle dolaşım bozulmaksızın transfer edilecek periostun kondrojenik potansiyelinin araştırılması bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.

Gereç ve yöntem

Dicle Üniversitesi araştırma laboratuvarlarında yapılan bu çalışmada 10 adet Yeni Zelanda tipi albino tavşan (ortalama ağırlık 2.2 kg) kullanıldı. Hazır yem, havuç yeşil sebze ile beslenen tavşanların su içmeleri serbest bırakıldı. Deney özelliği nedeniyle hayvanların oda (8 m²) içerisinde serbestçe dolaşmalarına izin verildi.

Genel anestezi altında (sodyum pentobarbital, 25 mg/kg, İV) sağ diz bölgesi traş edildikten sonra ve steril şartlar altında parapateller median insizyonla girildi. Katlar geçildi. Longitudinal lineer insizyonla eklem kapsülü açıldı. Diseksiyona femur distal uç anterior bölge periostuna dek devam edildi. Patella laterale devredildi. Pateller oluğun tam ortasından ve proksimalinden 3.2'lik dril aracılığı ile 4x8 mm boyutlarında spongioza ortaya çıkacak şekilde kırık defekt oluşturuldu. Femur distal 1/3 anteriorundan distal kenarı intakt kalacak biçimde 4x8 mm periost sıyrıldı. Böylece patellar oluğun proksimalinde, eklem kırıkdağına komşu pediküllü olan dikdörtgen şeklinde periost grefti hazırlanmış oldu. Hazırlanan periost pediküllü üzerinden ters çevrilerek (kambiyum tabakası eklem boşluğuna bakacak biçimde) daha önce oluşturulan kırık defekt üzerine örtüldü. Greftin distal ucu anterior krusiat ligaman proksimaline 5/0 vicryl ile suture edildi. Kanama kontrolundan sonra kapsül ve diğer katlar usulüne uygun olarak kapatıldı.

Deneyde kullanılan tavşanların sol dizleri kontrol grubu olarak alındı. Aynı seansta karşı tarafa benzer kırık defektleri oluşturuldu. Bu dizlere herhangi bir periost transferi işlemi yapılmadı.

Postoperatif dönemde dizlerine herhangi bir tespit yapılmayan tavşanlar kendilerine tahsis edilen 8 m² odalarda serbest olarak hareket ettiler.

Ameliyattan sonra 6. haftada beş tavşan, 9. haftada kalan beş tavşan rastgele seçilerek öldürüldü. Diz eklemleri açıldı ve patellar oluşumlar makroskopik olarak incelendi. Dekalsifikasyondan sonra patellar oluklardan sagittal planda kesitler alınarak (5-7 mikron) Hematoxylin-Eosin Toluidin, mavisi ve Safranin-O boyaları ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

Klinik, makroskopik ve mikroskopik olarak yapılan incelemelerde elde edilen subjektif bulgular skorlandırmayı takiben Mann-Whitney U testi ile analiz

edildi ve gruplar arasındaki istatistik farklılıklar araştırıldı. Değerlendirme kriterlerine ilişkin bilgiler toplu olarak Tablo 1, 2 ve 3'de sunulmuştur.

- Aktif hareket
- Eklem hareket genişliği
- Kontraktür veya deformite varlığı

Tablo 1: Klinik değerlendirme kriterleri

- Yeni oluşan doku özelliği
 - Kırık benzerlik
 - Kemige benzerlik
 - Fibröz veya granülasyon dokusuna benzerlik
- Parlaklık ve şeffaflık derecesi
- Renk (sedef beyazı)
- Yüzey düzgünlüğü
- Sertliği (kırıkdağına benzerlik)

Tablo 2: Makroskopik değerlendirme kriterleri

- Bölgeye hakim olan doku
 - Kırık
 - Kemik
 - Fibröz veya indifferansiyel doku
- Neokondrogenesis
- Kemik formasyonu
- Greftin
 - Damarlanması
 - Yüzey düzgünlüğü
 - Altındaki spongiöz doku ile ilişkisi
 - Kalınlığı
 - Glikozaminoglikan ihtivası (Safranin-o ile boyanma)
 - Kondrosit morfolojisi

Tablo 3: Mikroskopik değerlendirme kriterleri

Bulgular

Hiçbir tavşanda infeksiyon veya patellar dislokasyon görülmedi.

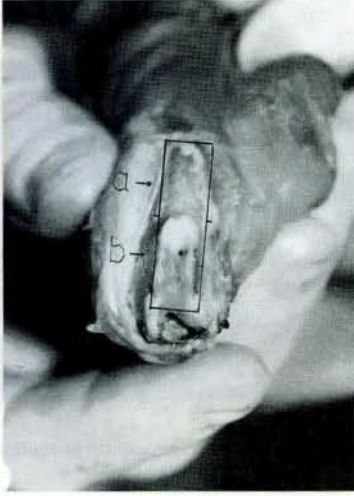
Klinik: 6 hafta takip edilen grupta bir tavşanda sağ dizde 30° fleksiyon kontraktürü gelişti. Dizde 30°-45°'ler arasında hareket vardı ve tavşanın topallamasına yol açmıştı. Diğer tavşanların tümü klinik olarak normaldi. Yaşamlarına aktif olarak devam ettiler. Hangi bir kontraktür, deformite gelişmeksizin eklem hareketleri normal sınırlarını korudu.

Makroskopi: 6 ve 9 haftalık takiplerde, deney grubunu oluşturan sağ dizlerde patellar olukta yaratılan defektin tamamen kapandığı, olgun eklem kırıkdağı görünümünde ve özelliklerinde yeni gelişen doku ile örtüldüğü belirlendi. Yeni oluşan kırıkdağı dokunun yüzeyi parlak ve pürüzsüzdü (Resim 1 a).

Bu grupta 6 haftalık takiplerde dizinde fleksiyon kontraktürü gelişen tavşanlarda dizde yapışıklık geliştiği, kırıkdağı defektinin düzensiz olarak kerarlardan kapatılmaya çalışıldığı gözlemlendi.

Kontrol grubunda (sol dizler) 6 ve 9 haftalık takiplerde kırıkdağı defektlerinin olduğu şekilde devam ettiği, defektlerin zemininin düzensiz granülasyon dokusu ile doldurulduğu belirlendi (Resim 1 b).

Yapılan istatistik analizde deney ve kontrol grupları arasında anlamlı düzeyde farklılığa rastlandı (Z=0.6266, p< 0.001).



Resim 1 a: Pediküllü periost transferinden 9 hafta sonra sağ dizdeki kıkırdak lezyonunun iyi şekilde onarımı (a). Periost donör sahası (b), onarılmış kıkırdak defekti bölgesi



Resim 1 b: Patellar olukta sadece kıkırdak lezyonu yapıldıktan sonra kontrol olarak değerlendirilen sol dizin postop. 9 hafta sonraki makroskopik görünümü

Mikroskopi: Deney grubunu oluşturan sağ femur patellar oluklardan yapılan sagittal kesit incelemelerinde, 6 haftalık birisi hariç diğerlerinde oluşturulan kıkırdak defektlerinin yeni gelişen kıkırdak doku ile tamamen onarıldığı belirlendi. Periost grefti transplante edilen bölgelerde meydana gelen neokondrojenезin normal eklem kıkırdağından daha kalın olduğu (periostun kalın olması nedeniyle) ve yüzeyinin pürüzsüzlüğü dikkat çekmekteydi. Yeni oluşan bu kıkırdağın yüzeyel kısımlarında, çevredeki normal kıkırdağa benzer şekilde eklem boşluğunun döşendiği görüldü. Bu bölgelerde kondrositler yassılaştı. Derin bölgelere ilerledikçe matriks içinde seyrekleşen daha iri kondrositlerin oval veya yuvarlak nükleus bulunduğu ve ayrıca lakunalarında şişkinliğin fazlaştığı belirlendi. Kıkırdak altındaki spongiöz bölgede ise



Resim 2: Kıkırdak defektine pediküllü olarak transfer edilen periostun, aktif hareket etkisi altında gelişen kıkırdak doku ve histokimyasal olarak safranin boyasının tutulduğu. Postop. 9. hafta Safranin-0, X 22

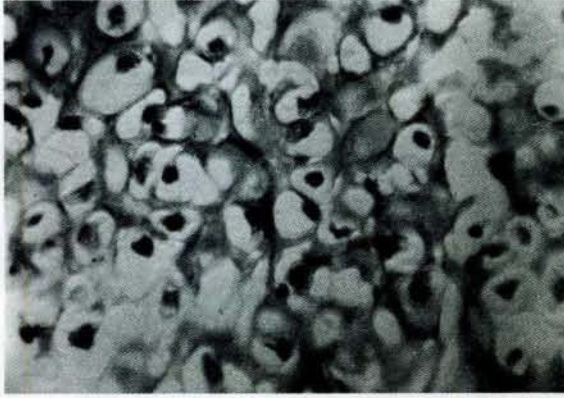


Resim 3: Yeni gelişen kıkırdak doku ve hemen altındaki spongiöz doku ile yakın ilişkisi. Postop. 9. hafta, H+E, X 63



Resim 4: Spongioza üzerinde gelişen ve safranin ile boyanma özelliği gösteren yeni kıkırdak doku ile trabeküller arasındaki kıkırdak metaplazisi. Postop. 9. hafta, Safranin-, X 252

steoblastlar sayıca artmıştı. Yer yer kalsifikasyonlar görülen bu spongioza ile yeni oluşan kıkırdak doku iyi bir sınırla birbirlerinden ayrılmaktaydı. Defekti dolduran kıkırdak doku içerisinde başkaca hiçbir gelişim (damarlanma, kemik, nekroz, fibroz doku, indifferansiyel mezenkimal) bulunmamaktaydı (Resim 2, 3, 4). Dizinde fleksiyon kontraktürü gelişen 6 haftalık bir tavşanda defektin onarılmadan kaldığı ve bölgenin granülasyon dokusu ile doldurulduğu görüldü. Yer yer kıkırdak doku yapımı izlendi.



Resim 5: Yeni gelişen kırık döküdeki yoğun kondrosit gelişimi, postop. 9. hafta, toluidin mavisi, X 252



Resim 6: Kırık dökü matrisi ve geniş lakunaları ile kondrositler, postop. 9. hafta, H+E, X 252

Değerlendirme kriterleri	Deney grubu			Kontrol grubu		
	6. haf.	9. haf.	Top.	6. haf.	9. haf.	Top.
KLİNİK						
Aktif hareket varlığı	4	5	9	5	5	10
Eklem hareketi (tam)	4	5	9	5	5	10
Kontraktür, deformite	1	0	1	0	0	0
MAKROSKOPİK BULGULAR						
Yeni oluşan doku görünümü						
Kırık dökü	4	5	9	0	0	0
Kemik	0	0	0	0	0	0
Fibröz doku	1	0	1	0	0	0
Parlaklık ve şeffaflık	3	4	7	0	0	0
Renk (sedef)	3	4	7	0	0	0
Yüzey düzgünlüğü	3	4	7	0	0	0
Sertlik (gevreklik)	4	5	9	0	0	0
HİSTOLOJİK BULGULAR						
Bölgeye hakim olan doku						
Kırık dökü	4	5	9	0	0	0
Kemik	0	0	0	0	0	0
Fibröz veya indiferansiye mezenkimal doku	1	0	1	2	3	5
Neokondrogenesis	4	5	9	0	1	1
Kemik formasyonu	0	0	0	0	0	0
Greftin						
Damarlanması	0	0	0	-	-	-
Yüzey düzgünlüğü	4	5	9	-	-	-
Spongioza ile ilişkisi	4	5	9	-	-	-
Kalınlık	4	5	9	-	-	-
Safranin-0 ile boyama	4	5	9	-	-	-
Morfolojik olarak hyalen kırık döküğe benzerlik	4	5	9	-	-	-

Tablo 4: Bulgular*

* Her iki grup toplam verilerinin Mann-Whitney U testi ile istatistik olarak değerlendirilmesi sonucunda deney ve kontrol grupları arasında anlamlı düzeyde farklılık olduğu belirlendi (U= 57, Z= 0.6266, p< 0, 001, S)
= Rakamlar diz sayılarını ifade etmektedir

Histokimyasal incelemelerde deney grubunda yeni oluşan kırık dökü dokunun safranin ile daha koyu boyanması sonucunda glikozaminoglikan ihtiva ettiği, dolayısıyla hyalen kırık dökü yapısında olduğu saptandı (Resim 5, 6). Kontrol grubuna ait dizlerde (sol) ise defektlerin granülasyon dokusu ile tamir edilmeye çalışıldığı, kırık dökü dokusu gelişimi olmadığı belirlendi.

Her iki gruba ait bulgular ve istatistik analizleri Tablo 4'te toplu olarak bildirilmiştir.

Tartışma

Bugüne değin yapılan araştırmalarda rejenerasyon yeteneği düşük olan kırık dökü defektlerinin biyolojik materyellerle onarımına ilişkin önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Özellikle serbest periost otogreftleri ile full-thickness kırık dökü defektlerinin devamlı pasif hareket etkisi altında hyalen kırık döküğe benzer bir doku tarafından onarılabileceği gösterilmiştir (2, 3, 8). Yazarlar neokondrogenesisin gerçekleşebilmesi için devamlı pasif hareket gerekliliği üzerinde birleşmektedirler (5, 6, 10, 11, 12). Delanay (1) ise neokondrogenesis etkileyen faktörler arasında hareketin yanında greft damarlanması ve sinovial sıvı ortamı-

nın önemine işaret etmiştir. Aynı yazara göre serbest periost otogreftlerinin transplantasyon öncesindeki devaskularizasyonu onun metabolik aktivitesini etkilemekte, ayrıca yegane beslenme kaynağı olan sinovial sıvı varlığı da pluripotansiyel hücre diferansiasyonunda söz sahibi olmaktadır.

Bu çalışmada transplante edilecek periost greftinin beslenmesinin bozulmaması gerektiği düşüncesinden yola çıkılarak pediküllü periost greft modeli geliştirilmeye çalışılmıştır. Genel ilkeler ışığında pedikül bir, greft boyu da iki birim uzunlukta olacak şekilde planlama yapılmıştır. Pediküllü greft kullanılması amaç da Delaney (1) ile paralellik göstermektedir ve greftin, dolayısıyla kambiyum tabakasının beslenmesinin bozulmaması gerektiği düşünülmektedir. Böylece başlangıç dönemlerinde mezenkimal dokuda bulunan pluripotansiyel hücrelerin kondrositlere diferansiasyonu kolaylaştırılacaktır. Sonuçlarımız bu düşünceleri doğrular niteliktedir. Deneyimizde transplante edilen periostlar neredeyse tamamen kırık dokuya dönüşmüştür.

Çalışmamıza dahil edilen gruplara intermitan aktif hareket uygulaması yapılmıştır. Gerek literatür ile ve gerekse kendi içerisinde sağlıklı karşılaştırma yapabilmek için deneyimizdeki modele ilave olarak alçılı immobilizasyon ve devamlı pasif hareket gruplarının ilave edilmesinin gerekli olduğu düşünülmektedir.

Kırık defektlerinin serbest periost otogreftleri ile onarımına ilişkin yapılan araştırmalarda, gözlenen greft vaskularizasyonunun kemiksel transformasyonun bir habercisi olduğu bildirilmektedir (1, 4, 5). Çalışmamızda ise greft vaskularizasyonuna ilişkin herhangi bir histolojik bulguya rastlanılmamıştır. Ayrıca transplante edilen greftin defekti tamamen doldurması ve aynı ölçülerde kırık dokuya dönüşmesi uygulanan yöntemin başarılı olduğu şeklinde yorumlanmaktadır.

Sonuç

Pediküllü periost otogreftleri ile full-thickness kırık defektlerinin başarılı biçimde onarılabileceği makro ve mikroskopik incelemelerle gösterilmiş ve ayrıca yöntemin geliştirilmesi amacıyla ileri çalışmalar yapılmasının faydalı olacağı kanısı edinilmiştir.

Kaynaklar

1. Delaney, J. P., O'Driscoll, S. W., Sayter, R. B.: Neochondrogenesis in free intraarticular periosteal autografts in an immobilized and paralyzed limb. Clin Orthop and Related Res 248: 278-82, 1989.
2. Esemeli, T., Güven, O., Küllü, S.: Kobaylarda intraartiküler serbest periost otogreftlerinin kondrojenik potansiyeli. Acta Orthop et Traum Turc 23: 212-15, 1989.
3. O'Driscoll, S. W., Keeley, F. W., Salter, R. B.: The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of major full-thickness defects in joint surface under the influence of continuous passive motion. J Bone Joint Surg. 68 A: 1017, 1986.
4. O'Driscoll, S. W., Keeley, F. W., Salter, R. B.: Durability of regenerated articular cartilage produced by free autogenous periosteal grafts in major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continue passive motion: A follow up report at one year. J Bone Joint Surg. 70-A: 595-606, 1986.
5. O'Driscoll, S. W., Salter, R. B.: The induction of neochondrogenesis in free intraarticular periosteal autografts under the influence of continuous passive motion: An experimental investigation in the rabbit. J Bone Joint Surg. 66-A: 1248-57, 1984.
6. O'Driscoll, S. W., Salter, R. B.: The repair of major osteochondral defects in joint surfaces by neochondrogenesis with autogenous osteoperiosteal grafts stimulated by continue passive motion: An experimental investigation in the rabbit. Clin Orthop 208: 131, 1986.
7. Rubak, J. M.: Reconstruction of articular cartilage defects with free periosteal grafts: An experimental study. Acta Orthop. Scand. 53: 181, 1982.
8. Rubak, J. M., Poussa, M., Ritsila, V.: Chondrogenesis in repair of articular cartilage defect by free periosteal grafts in rabbits. Acta Orthop. Scand. 53: 181, 1982.
9. Rubak, J. M., Poussa, M., Ritsila, V.: Effects of joint motion on the repair of articular cartilage with free periosteal grafts. Acta Orthop. Scand. 53: 187, 1982.
10. Salter, R. B., Minster, R. R., Clements, N., Bogoch, E. E., Bell, R. S.: Continuous passive motion and the repair of full-thickness defects: A one year follow-up. Orthop. Trans. 6: 226, 1982.
11. Salter, R. B., Ogilvie-Harris, D. J.: The healing of intraarticular fractures with continue passive motion. In Cooper, R. R. (ed): AAOS instructional Course Lectures, vol. 28. St. Luis. C. V. Mosby, p. 102, 1979.
12. Salter, R. B., Simmonds, D. F., Malcolm, B. W., Rumble, E. J., MacMichael, D., and Clements, N. D.: The biological effect of continue passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage: An experimental investigation in the rabbit. J Bone Joint Surg. 62-A 1232, 1980.
13. Zarnett, R., Delaney, J. P., O'Driscoll, S. W., Salter, R. B.: Cellular origin and evolution of neochondrogenesis in major surface treated by free autogenous periosteal grafts and subjected to continuous passive motion in rabbits. Clin Orthop 222: 274, 1987

Yazışma adresi

Yard. Doç. Dr. Bener Şen

Diyarbakır Üniv. Tıp Fakültesi

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

Diyarbakır, Türkiye