

Eklem kıkırdak defektlerinin liyofilize kollajen ile onarımı

(Tavşanlarda deneysel çalışma)

Osman U. Çalpur⁽¹⁾, Şeref Aktaş⁽²⁾, Gülara Hüseyinova⁽³⁾, Gülhan Aktaş⁽⁴⁾

Bu çalışmada serbest periost grefti ile liyofilize kollajenin kondrojenik potansiyelleri araştırıldı. Her iki femur distal eklem yüzeylerinde oluşturulan 3.2 mm. çapında kıkırdak defektlerinden sol taraftakine aynı taraf tibia kemiğinden alınan serbest periost grefti transplante edilirken sağ distal femur eklem yüzeyindeki defekt liyofilize kollajen ile dolduruldu. 3. haftada yapılan histolojik ve elektron mikroskopik incelemelerde; sol tarafta periostun kambium tabakasında kondrogenezis görülürken, sağ tarafta liyofilize kollajenin etrafında organize olan granülasyon dokusu görüldü. Sağ tarafta multipotansiyel fibroblastik hücrelerin kondrositlere diferensiyasyonu olduğu ve böylece kıkırdak dokusunun geliştiği saptandı. Bu bulgularla liyofilize kollajenin eklem kıkırdak defektlerinin onarımında serbest periost uygulamasına göre daha iyi bir alternatif yöntem olacağı sonucuna varmakla birlikte; bu konunun biomekanik çalışmalarla da desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Eklem kıkırdak defektleri, serbest periost grefti, liyofilize kollajen

The repair of articular cartilage defects with lyophilized collagen (Experimental study in rabbits)

The purpose of this study was to compare the chondrogenic potentials of free periost grafts and lyophilized collagen. 3.2 mm diameter defects were made in the articular surfaces of both femora. Free periosteal graft from ipsilateral tibia was transplanted to the left side, whereas, the defect in the right side was filled with lyophilized collagen. Histologic and electronmicroscopic examinations were done at three weeks. Histologic and Electronmicroscopic examinations of the left side revealed chondrogenesis in the cambium layer of the periosteum. In the right side after the organization of the granulation tissue around the lyophilized collagen multipotential fibroblastic cells differentiated to chondrocytes and so, young cartilage tissue was formed in this side. In the repair of articular cartilage defects the use of lyophilized collagen is an alternative and possible better way than free periosteal graft. But further biomechanic studies must be done to advocate the histologic and electronmicroscopic results.

Keywords: Articular cartilage defects, free periosteal graft, lyophilized collagen

Artroskopi kullanımının yaygınlaşması ile eklem kıkırdak defektleri daha sık teşhis edilmeye başlamıştır. Campbell (3) kıkırdak defektlerinin kendiliğinden iyileşme göstermediğini belirtmiştir. Kıkırdak dokusunun kendini yenileme yeteneğinin olmaması, kıkırdak defektlerinin onarımı konusunda çalışmaların yapılmasına yol açmıştır (13). Bu konuda yapılan birçok çalışmada periostun kambium tabakasının kondrojenik potansiyeli olduğu gözlenmiştir. Pediküllü ve serbest periost greftleri kıkırdak defektlerinin onarımında kullanılmaktadır (5, 12, 15, 16, 17). Açık yaralarda kullanılan liyofilize kollajenin, (Şekil 1) yara iyileşmesini hızlandırdığı bilinmektedir (1, 9). Bu çalışmada kemotaksis ve yara iyileşmesi üzerine etkileri bilinen liyofilize kollajenin kıkırdak defektlerinin iyileşmesine etkisi, serbest periost greftleri ile karşılaştırılmalı olarak araştırılmıştır.

Gereç ve yöntem

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Laboratuvarlarında yapılan bu çalışmada ortalama 2300 gram ağırlığında 10 adet ada tavşanı kullanıldı. Tavşanların sağ dizleri serbest periost grefti uygulaması, sol dizlerinde liyofilize kollajen uygulaması grubunu oluşturdu. Genel anestezi (ketalar + eter inhalasyonu) ve cerrahi hazırlığı tekiben medial parapatellar kesi ile tavşanların sağ diz eklemine ve insizyon distale uzatılarak tibia proksimaline ulaşıldı. Femur interkon-



Şekil 1: Liyofilize kollajen peti

diler bölge kıkırdağında 3,2 mm'lik defekt oluşturuldu. Tibia anteromedialinden alınan 4-5 x 10 mm'lik serbest periost grefti kambium tabakası eklem yüzeyine bakacak şekilde implante edildikten sonra 5/0 prolene ile tespit edildi. Kapsül ve katlar anatomik uygunlukla kapatıldı. Daha sonra sol diz eklemine medial parapateller kesi ile girildi. Yukarıda anlatılan şekilde hazırlanan defekt liyofilize kollajen ile doldurulduktan sonra kapsül ve katlar anatomik uygunlukta kapatıldı.

Tavşanlara operasyonda 30 dakika önce ve postoperatif 5 gün süresince 100 mg/kg gün Seftriakson ile antibiyotik profilaksisi yapıldı. Postoperatif devrede tavşanların dizlerine herhangi bir tespit uygulanmadı.

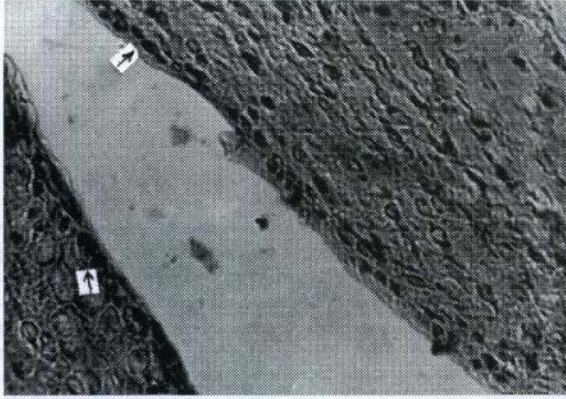
(1) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Doç. Dr.

(2) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Yrd. Doç. Dr.

(3) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Uzman Dr.

(4) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi

*SICOT Bölgesel ve 14. Milli Türk Ortopedi ve Travmatoloji Kongresi, 29 Eylül - 4 Ekim 1995, İzmir (Poster olarak Sunulmuştur)



Şekil 2: Serbest periost grefti uygulaması (→) kırıkta hücreleri (H+E, X20)

Tavşanlar mevsim sebze ve meyveleri ile beslendiler. Postoperatif 3. haftada tavşanlar sakrifiye edilerek biyopsi örnekleri alındı. Rutin işlemleri takiben ışık mikroskopisi örnekleri Hematoxylin - Eosin ile boyandı. Elektron mikroskopu örnekleri önce %2,5 gluteraldehid, sonrada %1'lik OsO₄ solüsyonları ile tesbit edildi. Alkol dehidratasyonlarını takiben Epon 8112 ile blokları. Kesitler uranyl asetat ile kontrastlandırıldı ve JEM - 100 B elektron mikroskopu ile incelendiler.

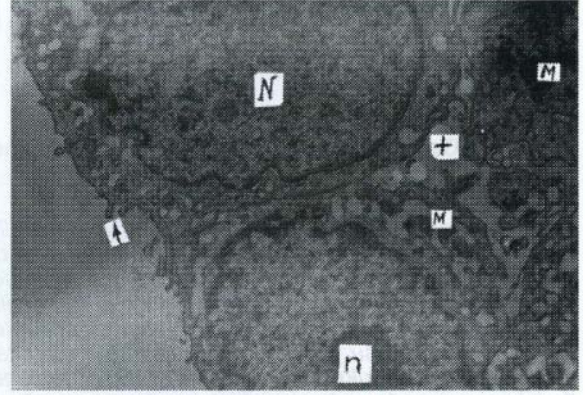
Bulgular

Serbest periost grefti uygulaması grubunun ışık mikroskopik incelemesinde transplante edilen periost çevresinde lökosit, lenfosit ve genç bağ dokusundan oluşan reaktif değişiklikler görüldü. Fibroblastlar yuvarlaklaşırken etraflarında kapsül benzeri oluşumların geliştiği gözlemlendi. Fibroblastlar, muhtemelen bu şekilde kırıkta hücrelerine dönüşmekteydiler (Şekil 2). Serbest periost grefti grubunun elektron mikroskopik incelenmesinde genç kırıkta hücrelerinin genelde büyük çekirdekli oldukları sitoplazmanın kenara itilerek hacminin azaldığı görüldü. Nükleoplazmada ince kromatinler vardı. Dar bir alanda yer alan sitoplazmada organeller görüldü. Hücre çevresinde ve sitoplazmada az miktarda kollajen fibriller ve hücreler arasında boşluklar saptandı (Şekil 3).

Liyofilize kollajen tarafının ışık mikroskopik incelemesinde; transplante olan kollajen çevresinde granülasyon dokusu meydana gelmekteydi. İnce kapillerler, lökositler, lenfositler, makrofajlar ve yeni bağ dokusu görüldü (Şekil 4). Liyofilize kollajen uygulanan sol ta-



Şekil 4: Liyofilize kollajenin çevresindeki granülasyon dokusu (H+E, X10)



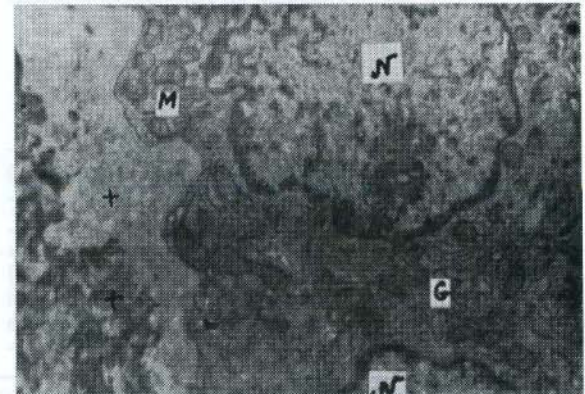
Şekil 3: Serbest periost grefti uygulaması elektromikroskopik inceleme. Genç kırıkta hücreleri. N. Çekirdek, n. çekirdekçik (→). Dar sitoplazmanın çıkıntıları, M. mitokondrium, +. hücrelerarası mesafe (X8000)

rafta elektron mikroskopik olarak fibroblastlardan oluşan genç kırıkta hücrelerinin aktivitesi, saptandı. Bu hücreler iki çekirdekliydi. Sitoplazmada organellerin mitokondrium, granüler endoplazmik retikulum, golgi aparatı, lizozom ve diğerlerinin belirgin proliferasyonu vardı. Sitoplazmada ve hücre çevresinde yoğun şekilde yeni kollajen fibriller izlendi. Bu da genç kırıkta hücrelerinin kollajen sentez ve sekresyonunu göstermekte idi (Şekil 5).

Tartışma

Campbell ile Rich ve ark. (3, 14) kırıkta dokusunun kendiliğinden rejenerasyon olmadığını, belirtmişlerdir. Kırıkta dokusunun bu özelliği nedeniyle eklem kırıkta defektlerinin onarımı konusunda birçok çalışma yapılmıştır (8, 12, 15, 16, 17). Serbest ve pediküllü periost greftlerinin kullanıldığı çalışmalarda; periostun kambium tabakasından yeni kırıkta dokusu gelişimi belirtilmiştir (8, 12, 15, 16, 17). Bizim çalışmamızda da serbest periost grefti kullanılan tarafta periostun kambium tabakasından genç kırıkta dokusu gelişimi olduğu saptanmıştır.

Chvapil ve ark. (4) kollajen petleri tavşanlarda 2. derece, domuzlarda 3. derece yanıklarda, kobaylarda ve sıçanlarda yüzeysel ve tüm tabaka yaralarda kullanmışlardır. Kollajenin belirgin debridman etkisi ile



Şekil 5: Liyofilize kollajen kullanılması kromblastların aktivitesi. N. Çekirdek, M. Mitokondrium, G. Golgi aparatı ve diğer organellerin proliferasyonu, +. Hücre çevresinde çok miktarda yeni kollajen fibriller (x10000)

bakteri sayımlarında bir azalma ile ve yüzeysel yaralarda epitelizasyon alanında bir artışla iyileşme sürecini etkin olarak hızlandırdığını belirtmişlerdir. Yazarlar kollajen petin onarım dokusu tarafından tanındığı ve bunun sonucunda bağ dokusu oluşumunu güçlendirdiği ve kollajen örtünün inflamatuvar fagositer hücreleri aktive ettiği ve onarılmış dokunun damarlanmasının arttığı sonucuna varmışlardır.

Açık yaralarda, bağ dokusu gelişimini hızlandırmada kullanılan liyofilize kollajen, fibroblast hareketini artırarak bağ dokusu gelişiminde substrat olarak rol alma özelliğinin yanısıra bölgeye lökosit ve makrofajları çekerek yara iyileşmesini hızlandırmaktadır (2, 7, 9, 10, 11, 13). Aktaş (1) Uzmanlık tezinde, Aşil tendon defektlerinin onarımında liyofilize kollajeni kullanmış ve liyofilize kollajen kullanılan tarafta bölgeye iltihabi hücre yöneliminin diğer tarafa kıyasla arttığı fibrin ile liyofilize kollajenin birleştiğini vaskülarizasyonun arttığını belirtmiştir. Bizim çalışmamızda liyofilize kollajen kullanılan tarafta, granülasyon dokusunun geliştiği ve bu dokudaki fibroblastlardan kondroblastlar ve kondrositlerin oluştuğu saptanmıştır.

Elektron mikroskopik bulgulara göre her iki tarafta da oluşan genç kıkırdak hücrelerinin aktivasyonunda artış görülmüştür. Bu aktivasyon ultrastrüktürel olarak endoplazmik retikulum, mitokondri ve ribozom miktarlarında artma ile saptanmıştır. Kollajen greftin kullanıldığı tarafta hücrelerdeki aktivasyon daha belirgin olmuştur. Hücre sitoplazmasında ve matriksinde kollajen liflerin izlenmesi hücre ile matriks arasındaki ilişkiyi göstermekteydi.

Çalışmamızda her iki tarafta da rejenerasyon tespit edilmiştir. Liyofilize kollajenin kullanıldığı tarafta histolojik ve elektron mikroskopik inceleme ile genç kıkırdak dokusu gelişimi ve kıkırdak hücrelerinin daha fazla aktive olarak matriksi de oluşturdukları saptanmıştır. Liyofilize kollajenin kullanılmasının kıkırdak defektlerinin onarımında periost greftlerine alternatif bir tedavi metodu olacağını düşünmekteyiz. Ancak bu konu biyomekanik çalışmalarda da desteklenmelidir.

Kaynaklar

1. Aktaş Ş. Liyofilize kollajenin polipropilen ağ ile onarılmış Aşil tendon defektlerinin iyileşmesine etkisi (Tavşanlarda deneysel çalışma) *Uzmanlık* Edirne 1995.
2. Beghe F, Menicagli C, Neggiani P: Eet al; Liyophized non - de-naturated type - 1 collagen extracted from bovine Achilles tendon and suitable for clinical use. *Int J Tiss Reac 14 (Suppl):* 9, 1992.
3. Campbell CJ: The healing of cartilage defect. *Clin Orthop* 64: 15-63, 1969.
4. Chvapil M, Chvapil TA, Owen JA: Reaction of various skin wounds in the rat to collagen sponge dressing *J Surg Res* 41: 410-416, 1986.
5. Esemeli T, Küllü S: Kobaylarda ihtraartiküler serbest periost allogreftlerinin kondrojenik potansiyeli. *Acta Orthop Traumatol Turc* 24: 104-7, 1990.
6. Homminga GN, Bulstra SK, Bonwmeester PSM, Van Der Linden AJ: Perichondral grafting for cartilage lesions of the knee. *J Bone Joint Surg* 42B: 1003-7, 1990.
7. Marzin L, Rouveix B: An evaluation of collagen in chronic leg ulcers. *Praxis* 71: 1373-81, 1962.
8. Messner K: Hydroxylapatite supported Dacron plugs for repair of isolated full thickness defects of the rabbit femoral condyle, *40 th Annual Meeting Orthopaedic Research Society*: February New Orleans Louisiana 21-24, 1994.
9. Mian F, Martini P, Beconcini D, Mian M: Healing of open skin surfaces with collagen foils. *Int J Tiss Reac 14 (Suppl):* 1992.
10. Mian F, Mian M, Beghe F: Lyophilized collagen and chronic leg ulcers. *Int J Tiss Reac* 13 (5): 257-69, 1991.
11. Mian M, Beghe F, Mian F: Collagen as a pharmacological approach in wound healing. *Int J Tiss Reac 14 (Suppl):* 1-9, 1992.
12. O'Driscoll SW, Keeley FW, Salter RB: The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of major full thickness defects in joint surfaces under the influence of continous passive motion (An experimental investigation in the rabbit). *J Bone Joint Surg* 68A (7): 1017-35, 1986.
13. Palmieri B. Heterologous collagen in wound healing; A clinical study. *Int J Tiss Reac 14 (Suppl):* 21-5, 1992.
14. Rich D, Johnson F, Zhon J, Grande D: The use of periosteal celi polymer tissue constructs for the repair of articular cartilage defect. *40 th Annual Meeting Orthopaedic Research Society* February New Orleans Louisiana 21-24, 1991.
15. Rubak JM: Reconstruction of articular cartilage defects with free periosteal grafts (An experimental study). *Acta Orthop Scand* 53: 175 - 80, 1982.
16. Rubak JM, Poussa M, Ritsila V: Chondrogenesis in repair of articular cartilage defects by free periosteal grafts in rabbits. *Acta Orthop Scand* 53: 181-6, 1982.
17. Şen B, Aşık M, Döner K, Arslan A, Kapukaya A, Ertay A: İntermittan aktif hareket etkisi altında full thickness kıkırdak defektlerinin pediküllü periost otogreft transferi ile onarımı (Tavşanlar üzerinde deneysel araştırma). *Acta Orthop Traumatol Turc* 26:125-9, 1992.

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Osman U. Çalpar
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı,
22030 Edirne, Türkiye