

# Kobaylarda intraartiküler serbest periost otogreftlerinin kondrojenik potansiyeli

Tanıl Esemeli<sup>(1)</sup>, Osman Güven<sup>(1)</sup>, Sevgi Küllü<sup>(2)</sup>

Bu çalışmada kobayların diz eklemlerine, kambium tabakları dışta kalacak şekilde kendi üstüne katlanmış serbest periost otogreftleri yerleştirilerek bunların aktif hareket altındaki kondrojenik potansiyelleri incelendi. 6 hafta sonunda yapılan makroskopik ve histolojik inceleme sonucunda değerlendirmeye alınan greftlerde kırkırdak dokunun geliştiği görüldü. Sonuçlar tavşanlarda aynı teknikle, devamlı pasif hareket kullanılarak yapılan çalışmanın sonuçları ile uyumlu bulundu.

Bu bulgularla, daha önce tavşanlarda tarif edilen araştırma modelinin daha ileri çalışmalarda kobaylarda da uygulanabileceği sonucuna varıldı.

## Chondrogenic potential of free intraarticular autografts of periosteum in Guinea pigs.

*The purpose of this study was to determine the chondrogenic potential of free intraarticular autografts of periosteum under the influence of active motion in guinea pigs. A graft of periosteum was taken from the tibia and folded back on it self so that the cambium layer faced outward on both sides. The folded graft was transplanted as a free body in to each corresponding knee joint in adult male guinea pigs. The animals were then allowed to their daily activities. 6 weeks postoperatively the grafts had taken on the appearance of normal articular cartilage and had become contoured to the apposing femoral condyles with which they were articulating. Histological examination revealed neochondrogenesis, in all of the grafts. Cartilage was the predominant tissue in 77 % of the grafts. This investigation demonstrated the chondrogenic potential of free intraarticular periosteal autografts under the influence of active motion in guinea pigs.*

Periost'un çevresel faktörlere bağlı olarak hem kemik hem de kırkırdak dokusuna dönüşebileceği eskiden beri bilinmektedir.<sup>(12)</sup>

Bozulmuş eklem yüzlerinin biyolojik dokular ile tamiri konusunun gündeme gelmesi ile bu alanda son zamanlarda yoğun çalışmalar yapılmıştır.<sup>(3,5,10,12)</sup> Rubak, 1982'de tavşanların diz eklemlerinde oluşturduğu kırkırdak defektlerini tibiadan aldığı serbest periost greftleri ile tamir etmiş ve defektlerin 4 hafta sonra hiyalin kırkırdak benzer bir doku ile dolduğunu bildirmiştir.<sup>(9)</sup>

Bu çalışmadan sonra yapılan araştırmalarda, oluşan yeni kırkırdak dokusunun kaynağı üzerinde durulmuş ve bu dokunun subkondral kemikten değil, periosttan geliştiği gösterilmiştir.<sup>(10)</sup>

Zernett, yeni gelişen kırkırdak hücrelerinin kaynağının periostun kambium tabakasındaki progenitör hücreler olduğunu bildirmiştir.<sup>(12)</sup> Rubak'a göre periostun kırkırdak oluşmasında en önemli çevresel faktör harekettir. Hareketin önemi O'Driscoll ve Salter'in çalışmalarında da gösterilmiştir.<sup>(5,8)</sup>

Bunlardan 1984 yılında yapılan bir araştırmada tavşanların diz eklemlerine yerleştirilen serbest periost greftlerinin kondrojenik potansiyelleri incelenmiş ve sonuçların devamlı pasif hareket uygulananlarda, alçı içinde hareketsiz bırakılanlara oranla daha iyi olduğu gösterilmiştir.<sup>(5)</sup> Ancak bu çalışmada aktif hareketin etkileri araştırılmamıştır. Periostun kondrojenik potansiyelini araştırmak için yapılan bu çalışmaların hepsinin tavşanlarda yürütüldüğü görülmektedir. Bu konuda değişik hayvanlarda yapılmış bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır.

Bu çalışma kobayların diz eklemi içine serbest ola-

rak yerleştirilen periost greftlerinin aktif hareket altında kondrojenik potansiyelini araştırmak ve yeni bir deneysel araştırma modeli oluşturmak amacı ile planlanmıştır.

## Gereç ve yöntem

Araştırma, İstanbul Üniversitesi Deneysel ve Tıbbi Araştırma Merkezi'nde (DETAM) gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlıkları 550-680 gr. arasında değişen 15 adet erişkin albino erkek kobay kullanıldı. Kobaylar çalışma boyunca hazır yem, taze sebze ve musluk suyu ile beslendiler.

## Cerrahi yöntem

Eter anestezisi altında gerekli saha temizliği yapıldıktan sonra sol diz ve proksimal tibia ortaya çıkacak şekilde cilt ve cilt altı medial kesi ile açıldı. Deri fasya kesilip ekarte edildi. Tibianın üst kısmının medialinden, yaklaşık 3-4x8-10 mm. boyutlarında dikdörtgen bir periost parçasının her iki ucu, keskin diseksiyon ile altındaki kemikten kaldırıldı. Serbest uçlar 5-0 polypropylene dikiş ile birbirine dikildi. (Resim 1,2). Parçanın ortadaki kısmı da kemikten ayrılarak kambium tabakası dışta kalacak şekilde kendi üzerine katlanmış ve serbest uçları birbirine dikildi. Parapatellar 1 cm. lik bir insizyon ile kapsül açılarak diz eklemine girildi ve serbest greft eklem içine yerleştirildi. (Resim 3)

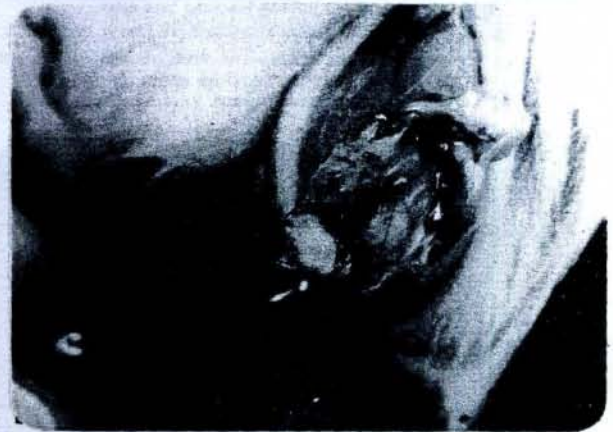
Diz eklemi 4-0 vicryl ve cilt, 5-0 ipek ile kapatılarak kobaylar serbestçe dolaşabilecekleri metal kafeslere konuldu.

6 hafta süre ile takip edilen kobaylar 6. haftada öl-

(1) Marmara Üniv. Tıp Fak. Ortopedi ve Trav. Anabilim Dalı Yrd. Doçenti

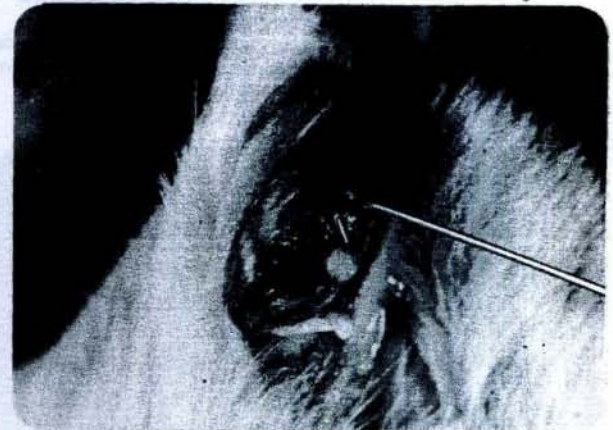
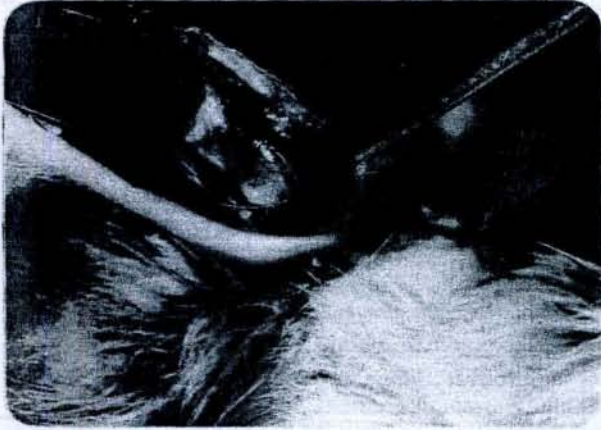
(2) Marmara Üniv. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı Doçenti.





Resim 1-2; Proksimal tibia ve diz eklemlerinin medialden görünümü. Tibia medialinden kaldırılan periost greftinin hazırlanışı.

Resim 4-5: 6 hafta sonra greftin görünümü. Greftin eklem bakan yüzünün kondillere uygun olarak şekillendiği ve eklem kırıkdağı gibi parlak, beyaz bir görünüm aldığı görülmektedir.



Resim 3: Hazırlanan periost greftinin diz eklemi içine yerleştirilmesi.

Resim 6: Başka bir greftin eklem yüzünün 6 hafta sonraki görünümü.

dürülerek diz eklemleri açıldı. Greftler makroskopik olarak incelendi. Daha sonra Hematoxylin-eozin, toluidin mavisi ve safranin-o kullanılarak ışık mikroskobu altında histolojik incelemeye alındı.

### Bulgular

2 kobay ölüm, 3 kobay diz septik artritisi nedeni ile çalışma dışı bırakıldı. Kalan 10 kobay değerlendirmeye alındı.

### Makroskopik Bulgular:

1 kobayda patella laterale disloke bulundu. Bunda femurun eklem yüzünde kırıkdağta matlaşma, yumuşama olduğu, patellanın, kondilin lateralinde kendine yeni bir eklem yüzü oluşturduğu görüldü. Bu kobayda konulan greft bulunamadı.

Diğer kobaylarda ise greftlerin sinovyal zara yapışık olduğu, femur kondillerine bakan yüzünün eklem kırıkdağı gibi parlak ve beyaz bir görünüm aldığı ve kondillere uygun olarak şekillendiği tesbit edildi. (Resim 4,5,6).





Resim 7: Mezenkimal hücrelerin ve kıkırdak dokusunun görünümü. Sahanın sol tarafında yer alan mezenkimal hücrelerin kondrositlere farklılaşması görülmektedir. (H.E.x100)



Resim 10: Yeni gelişen kıkırdak dokusundaki kondrositlerin kolonlar halinde dizildikleri ve bu bölgedeki endokondral ossifikasyon görülmektedir. (H.E.x40)



Resim 8: Yeni oluşan kıkırdak dokusunun görünümü. Geçiş alanında kondroid hücrelerin giderek büyük, şişkin ve oval bir hal alarak kondrositleri oluşturduğu görülmektedir. (H.E.x100)



Resim 9: Greftin sinoviyal dokudan damarlandığı görülmektedir. (H.E.x100)

### Mikroskopik Bulgular:

Greftlerin hepsinde mezenkimal hücrelerden oluşan doku alanları kıkırdak dokusu ile devamlılık göstermekte idi. (Resim 7). Kıkırdağın greftlerin büyük bir kısmında sahaya hakim olan doku olduğu dikkat çekmekte idi.

Bu geçiş alanında başlangıçta matriks içinde daha seyrek dizilmiş kondroid seri hücreleri yer alıyordu. (Resim 8). Geçiş alanının diğer tarafında bu hücrelerin giderek daha büyük, şişkin ve oval bir hal aldığı ve yoğun bir dizilim gösterdikleri görülmekte idi. (Resim 8). Matriks bu bölgede safranin ve toluidin mavisi ile koyu boyanıyordu.

Greftlerin çevresindeki sinoviyal dokuda kan damarlarının arttığı dikkat çekmekte idi. (Resim 9). Bazı kesitlerde kıkırdak hücrelerinin büyüme plağını andıran şekilde dizildiği ve bu bölgelerde küçük adacıklar halinde kemik yapımı olduğu saptandı. (Resim 10).

Bir greftin kesitlerinde kıkırdak dokusunda geniş nekroz alanları görüldü.

Çalışmada tespit edilen histolojik bulgular Tablo 1'de özetlenmiştir.

	Greft sayısı	%
Greftin damarlanması	9	100
Kemik oluşumu	7	77
Kıkırdak oluşumu	9	100
Doku nekrozu	1	11
Sahaya hakim olan doku cinsi		
Kemik	0	0
Kıkırdak	6	66
Fibröz-Mezenkimal	3	33

Tablo 1: Histolojik bulgular

### Tartışma ve sonuç

Kıkırdak dokusunun rejenerasyon ve tamir potansiyelinin zayıf olduğu bilinmektedir.<sup>(2,4)</sup> Bu nedenle bozulmuş eklem yüzleri çeşitli dokular ile tamir edilmeye çalışılmıştır.<sup>(1,9,11)</sup> Ancak bunların içinde normal eklem kıkırdağına, histolojik ve kimyasal yapısı ile en çok benzeyen dokuyu periostun oluşturduğu ve bu özelliğini uzun süreler koruyabildiği bildirilmiştir.<sup>(7,8)</sup>

Periostun kıkırdağa dönüşmesindeki en önemli çevresel faktörün hareket olduğu bilinmektedir.<sup>(9)</sup> O'Driscoll'un 1984'de yaptığı bir çalışmada devamlı pasif



hareketin, periostdan yeni kırıldak yapımı yönünden, hareketsizliğe üstün olduğu mükemmel bir model üzerinde gösterilmiştir.<sup>(5)</sup> Ancak bu çalışmada aktif hareket gurubunun olmadığı dikkat çekmektedir.

Bu çalışma intraartiküler serbest periost otogreftlerinin aktif hareketlerindeki kondrojenik potansiyellerini incelemek amacı ile yapılmıştır. Bu potansiyelin tavşandan başka hayvanlarda da olup olmadığını göstermek için çalışmada kobay tercih edilmiştir. O'Driscoll tarafından tavşanlar için tarif edilen cerrahi yöntem diz eklemleri küçük olmakla birlikte bütün kobaylarda özel bir alete gereksinim duyulmaksızın gerçekleştirilmiştir.

Bu araştırmada 1 kobayda patella dislokasyonu tespit edilmiştir. Bu, tavşanlarda da diz artrotomisi sonrası sıklıkla rastlanılan bir komplikasyondur.<sup>(7)</sup> Bu dizde gözlenen makroskopik bulgular O'Driscoll'un bulguları ile uyumludur. Burada dize yerleştirilen greftlerin bulunamaması kırıldak oluşumunda hareketin ve sinoviyal sıvının önemini göstermesi açısından önemli bir bulgudur. Bu araştırma kobaylarda eklem içine yerleştirilen serbest periost otogreftlerinin aktif hareket altında yeni kırıldak dokusuna dönüşebildiğini göstermiştir. Kesitlerde mezenkimal hücrelerin ve kondrositlerin bir geçiş bölgesi ile birbirlerini takip edecek şekilde dizilmiş olmaları, kondrositlerin periostun kambium tabakasındaki progenitor hücrelerden geliştiğini bildiren çalışmalarını desteklemektedir.<sup>(3,12)</sup> Kesitlerin tamamında kırıldak oluşumu görülmekle birlikte % 33'ünde alana fibröz dokunun hakim olduğu saptandı. Bunda periostun kambium tabakasının kemikten tam ayrılmamış olması gibi teknik nedenler rol oynamış olabilir.

Sinoviyal dokunun bütün greftlerde yapışıklık göstermiş olması greftin damarlanması ve dolayısı ile daha önce gösterildiği gibi ossifikasyona neden olabilmesi açısından önem taşımaktadır.<sup>(5)</sup> Bu nedenle % 77 vaka da endokondrat ossifikasyona benzer bir tablonun ortaya çıkması literatür ile uyumlu bir bulgu olarak görülmektedir.

Greftlerin büyük bir kısmında saptanmasına karşın hiç bir vakada ossifikasyonun alana hakim olduğu görülmemiştir. Oysa O'Driscoll'un çalışmasında, pasif hareket uygulanan tavşanlarda greftlerin % 16.5'inde kemik dokusunun ön planda olduğu bildirilmiştir.<sup>(5)</sup> Çalışmada bir greftte görülen kırıldak nekrozu daha önceki çalışmalarda görülmeyen bir bulgu olarak dikkat çekmektedir. Bundan, hızlı büyümeye bağlı olarak kırıldak dokusunun beslenmesinin yetersiz kalması sorumlu olabilir. Bu bulgularla kobaylardan eklem içine yerleştirilen

serbest periost otogreftlerinde kırıldak yapımını aktif hareketin olumlu yönde etkilediği ve devamlı pasif hareketle tavşanlarda bildirilenlerle uyumlu sonuçlar verdiği ileri sürülebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada;

1- Kobaylarda intraartiküler serbest periost otogreftlerinin aktif hareket altında kırıldak dokusuna dönüşebildiği ve,

2- Daha önce tavşanlarda tarif edilen araştırma modelinin teknik olarak kobaylarda da uygulanabildiği gösterilmiştir.

## Kaynaklar

1. Bentley, G., Greer, R.B.: Homotransplantation of isolated epiphyseal and articular cartilage chondrocytes in to joint surfaces of rabbits. *Nature*. 230:338, 1971.
2. Furukawa, T., Eyre, D.R., Koide, S., Glimcher, M.J.: Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee. *J. Bone Joint Surg.* 62-A: 79-89, 1980.
3. Gülman, B., Karagöz, F.: Artiküler kırıldak lezyonlarının serbest periost greftleri ile onarımı. *Ortopedi Travmatoloji ve Rehabilitasyon Dergisi* 2 (1): 1-7, 1988.
4. Mankin, H.J.: The response of articular cartilage to mechanical injury. *J Bone Joint Surg* 64-A: 460-466, 1982
5. O'Driscoll, S.W., Salter, R.B.: The induction of neochondrogenesis in free intraarticular periosteal autografts under the influence of continuous passive motion. *J. Bone Joint Surg.* 66-A: 1248-1257, 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 continuous passive motion. *Clin Orthop.* 208:13-140, 1984.
7. O'Driscoll, S.W., Keely, F.W., Salter, R.B.: The Chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. *J. Bone Joint Surg.* 68-A: 1017-1034, 1986
8. O'Driscoll, S.W., Keely, 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 continuous passive motion. *J. Bone Joint Surg.* 70-A: 595-606, 1988.
9. Rubak, J.M. Reconstruction of articular cartilage defects with periosteal grafts. *Acta Orthop Scand.* 53: 175-180, 1982
10. Rubak, J.M., Poussa, M., Riitsila, V.: Chondrogenesis in repair of articular cartilage defects by free periosteal grafts in rabbits. *Acta Orthop Scand.* 53:181-186, 1982
11. Skoog, T., Johansson, S.H.: The formation of articular cartilage from free perochondrial grafts. *Plast. Reconstr. Surg.* 57:1-6, 1976
12. 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