

Kobaylarda İntrartiküler Serbest Periost Allogreftlerinin Kondrojenik Potansiyeli

Tanıl Esemeli (1), Sevgi Küllü (2)

Bu çalışma eklem içine transplante edilen serbest periost allogreftlerinin kondrojenik potansiyelini araştırmak amacı ile yapıldı. Çalışmada kapalı bir kolonide üretilmiş 15 adet albino ve aynı bir kapalı kolonide üretilmiş 5 adet renkli kobay kullanıldı. Albinolar kendi aralarında her renkli kobay da 1 albino ile eşlenerek iki grupta beşer çift oluşturuldu. Tibiadan alınan periost greftleri kambiyum tabakaları dışta kalacak şekilde kendi üstüne katlanarak dikildi. Hazırlanan greftler eşler arasında karşılıklı olarak diz eklemleri içine transplante edildi. 6 hafta sonra yapılan histolojik incelemede rejeksiyon bulgusuna rastlanılmadı. 1 grupta %100, 2. grupta %25 oranında yeni kırık oluşumu görüldü. Her iki grupta da sahaya ilkel mezenkimal hücrelerin ve genç kondrositlerin hakim olduğu saptandı. Bu çalışmada gözlenen bulgularla serbest periost allogreftlerinin eklem içi transplantasyonlarda rejeksiyona uğramadığı, kondrojenik potansiyelinin olduğu, doku uyumsuzluğunun sonuçları olumsuz yönde etkilediği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Serbest periost allogrefti, kondrojenik potansiyel

The chondrogenic potential of intraarticular free periosteal allografts in guinea pigs

The purpose of this study was to determine the chondrogenic potential of free intraarticular allografts of periosteum. 15 albino and 5 coloured guinea pigs selected from two different closed colonies were used in this study. Two groups consisting of 5 pairs in each were formed. Group 1 was composed solely of albinos, group 2 was composed of mixed pairs of albino and coloured guinea pigs.

A graft of periosteum was taken from the tibia and folded back on itself so that the cambium layer faced outward on interval of 6 weeks there were no histological findings pertaining to graft rejection.

The percentage of neochondrogenesis varied between 100% and 25% in groups 1 and 2 respectively. Primitive mesenchymal tissue was the predominant tissue in both groups histologically. It is concluded that free periosteal allografts are not rejected, have chondrogenic potential and histocompatibility seems to be an important factor in the chondrogenic potential of periosteum.

Key words: Free periosteal allograft, chondrogenic potential

Eklem kırıkdağını ilgilendiren hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan metal protezler küçük kırıkdağ lezyonlarında ve genç hastalarda geç komplikasyonları nedeniyle uygulanmamaktadır. Bu nedenle birçok araştırmacı tarafından eklem kırıkdağının biyolojik dokular ile onarımı üzerinde çalışmalar yapılmış, bu amaçla çeşitli dokular denenmiştir. (1-6,8,9,11-16,21) 1982'de Rubak (18,19) kondrojenik potansiyeli nedeni ile periost dokusunu eklem kırıkdağı onarımında kullanmış ve başarılı sonuçlar bildirmiştir. Daha sonra O'Driscoll ve Salter (13-16,20,21) tarafından yapılan çalışmalarda periostun kambiyum tabakasındaki progenitör kimyasal özelliklerinin hiyalin eklem kırıkdağı ile yakın benzerlikler gösterdiği bildirilmiştir. Serbest periost otogreftleri ile arkadaşları daha sonra aynı amaç için serbest periost allogreftlerini kullanmışlar ve kondrojenesis bakımından iki grup arasında önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir (20).

Bu çalışma serbest periost allogreftlerinin kondrojenik potansiyelini ve doku uyumsuzluğunun kondrojenesis üzerindeki etkilerini araştırmak amacı ile yapılmıştır.

Gereç ve yöntem

Araştırma İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezi (DETAM)'nde yapıldı. Çalışmada kapalı bir kolonide üretilmiş 15 adet albino ve aynı bir kapalı kolonide üretilmiş 5 adet renkli kobay olmak üzere toplam 20

adet erişkin erkek kobay kullanıldı. Kobaylar 2 gruba ayrılarak albinolar kendi aralarında, her renkli kobay da bir albino ile eşlenerek iki grupta toplam beşer çift oluşturuldu. Aşağıda tarif edilen yöntemle hazırlanan serbest periost greftleri karşılıklı olarak eşlerin diz eklemleri içine transplante edildi. (Şekil 1).

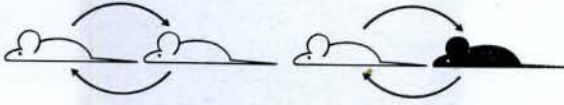
Cerrahi yöntem

Eter anestezisi altında gerekli saha temizliği yapılarak medial parapatellar kesi ile kobayların diz eklemi ve tibia üst ucuna ulaşıldı. Tibia üst ucunun medialinden 3-4x8-10 mm. boyutlarında bir periost parçasının alt ve üst uçları kemikten kaldırılarak kambiyum tabakası dışta kalacak şekilde kendi üstüne katlandı ve serbest uçları 5-0 prolene ile birbirine dikildi. Hazırlanan greftler eşler arasındaki karşılıklı olarak diz eklemleri içine yerleştirildi. (Şekil 2) Eklem kapsülü 4-0 vicryl ve cilt 5-0 ipek ile kapatılarak kobaylar rahatça dolaşabilecekleri tel kafesler içerisine alındılar.

Araştırma boyunca taze sebze ile beslenen kobayların diz eklemleri 6. haftada açılarak greftler çıkartıldı. Histolojik inceleme için rutin takibe alınan greftlerden hazırlanan kesitler Hematxylin-Eosin Toluidin mavisi ve Safra-nin ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelendi.

(1) Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Yard. Doçenti

(2) Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Doçenti



5 çift
GURUP 1

5 çift
GURUP 2

Şekil 1: Çalışmamızda 1. ve 2. grupta greftlerin transplantasyonu



Şekil 2: Kobayda periost greftinin hazırlanması ve diz eklemi içine yerleştirilmesi

Bulgular

Makroskopik incelemede 1. gruptaki greftlerin parlak beyaz bir görünüm aldıkları ve yer yer çevre yumuşak dokuya yapışıklık gösterdiği görüldü. 2. gruptaki greftlerden 2 tanesi çevre yumuşak dokulardan ayırdedilemediği için değerlendirilemedi. Bu gruptaki diğer greftlerin 1. gruptakilere oranla çevre yumuşak dokulara yapışıklık gösterdiği, daha mat ve sarı bir görünüm aldıkları tespit edildi.

Mikroskopik bulgular

1. gruptaki greftlerin hepsinde sahaya ilkel mezenkimal hücrelerin hakim olduğu görüldü. 1. grupta bu hücrelerin oluşturduğu doku alanları olgun kıkırdak doku ile devamlılık göstermekte idi. İki doku arasındaki geçiş alanında başlangıçta matriks içinde seyrek olarak dizilmiş genç kıkırdak hücreleri yer alıyordu. Geçiş alanının diğer tarafında bu hücrelerin giderek daha büyük, şişkin ve oval bir görünüm aldığı, safranin ve toluidin mavisi ile koyu boyanan matriks içinde yoğun şekilde dizildikleri görülmekte idi (Resim 1-2).

2. gruptaki greftlerin histolojik incelenmesinde sahaya ilkel mezenkimal hücrelerin hakim olduğu görüldü. Bu gruptaki iki greftte küçük hyalin kıkırdak adacıklarının olduğu tespit edildi. (Resim 3-4).

Her iki grupta da greftlerin sinoviyal dokuya yapışıklık gösterdiği ve bu dokudan greft içine damarların ilerlediği görüldü. Histolojik inceleme sonucunda her iki grupta da belirgin bir lenfosit infiltrasyonuna rastlanılmadı. Çalışmamızda gözlenen histolojik bulgular tablo-1'de özetlenmiştir.

| | Grup I | | Grup II | |
|------------------------|--------|-----|---------|-----|
| | no | % | no | % |
| Greftin damarlanması | 10 | 100 | 8 | 100 |
| Lenfosit infiltrasyonu | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kıkırdak oluşumu | 10 | 100 | 2 | 25 |
| Sahaya hakim olan doku | | | | |
| Kıkırdak | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Mezenkimal | 10 | 100 | 8 | 100 |

Tablo 1: Çalışmamızda elde edilen histolojik bulgular

Tartışma

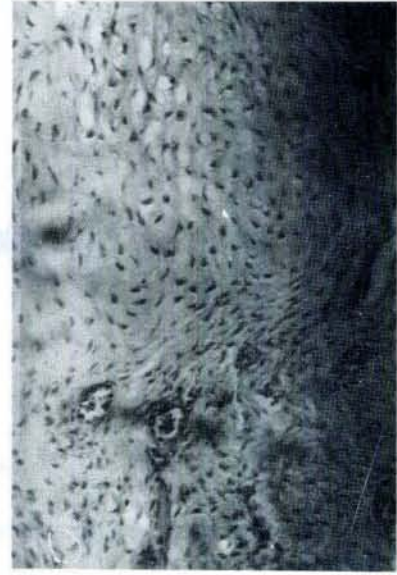
Kondrojenik potansiyeli nedeniyle eklem kıkırdığı onarımlarında serbest periost greftleri ile birçok çalışma yapılmıştır (12-17,19,20). Buna karşın bu dokunun allogreftleri üzerinde pek durulmamıştır. Literatürde bu konuda Salter'in yaptığı çalışma dışında bir araştırmaya rastlanılmamıştır (19).

Doku uyumsuzluğunun çeşitli organ transplantasyonlarında sonucu belirleyen en önemli etkenlerden biri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızda iki deney grubu oluşturulmuştur. Birinci grupta aynı kolondan, ikinci grupta ise fenotipleri farklı aynı kolondan alınan kobaylar arasında transplantasyonlar yapılarak doku uyumsuzluğunun sonuçları üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmamızda subkondral kemikten gelişebilecek kıkırdak dokusunun sonuçları etkileyebileceği düşünülerek kıkırdak lezyonu oluşturulmamış ve bu nedenle Zarnette tarafından tarif edilen deney modeli kullanılmıştır (20).

Mikroskopik inceleme sonucunda 1. grupta % 100, 2. grupta ise % 25 oranında yeni kıkırdak yapımı tespit edilmiştir. Bu bulgu makroskopik bulgular ile uyumlu olup serbest periost allogreftlerinin kondrojenik potansiyeli olduğunu göstermektedir.



Resim 1: Gurupta bir greftin 6. hafta sonunda aldığı histolojik görünüm ilkel mezenkimal hücrelerin genç kondrositlere ve koyu boyanan matris içinde yer alan kondrositlere dönüştüğü görülmektedir. (H.E. x 100)



Resim 3: 6. hafta sonunda 2. guruptaki bir greftin aldığı görünüm: sahaya ilkel mezenkimal hücrelerin ve genç kondrositlerin hakim olduğu görülmektedir. (H.E. x 100)



Resim 2: 1. gurupta yeni oluşan kırık dokusunun görünümü: Koyu boyanan matris içinde kondrositlerin şişkin ve oval bir görünüm aldığı görülmektedir. (H.E. x 100)



Resim 4: 2. guruptaki bir greftin 6. hafta sonunda aldığı görünüm: yeni kırık dokusunu görülmektedir. (H.E. x100)

Farklı kolonilere ait kobaylar arasında yapılan allotransplantasyonlarda neokondrogenesinin diğer gruba oranla daha sınırlı kalması, bu farkın doku uyumsuzluğundan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Hek iki grupta da histolojik inceleme sonucunda lenfosit infiltrasyonu görülmemiştir. Bu bulgu Salter'in çalışması ile uyumlu olup eklem içine trasplante edilen periost allogreftlerin zayıf bir immün yanıtı neden olduğunu göstermektedir (19). Ayrıca genç kırıldak hücrelerinin oluşturduğu matriksin kırıldak allogreftlerinde olduğu gibi rejeksiyonu engellediği söylenebilir (9).

Daha önce serbest periost otogreftleri ile kobaylarda aynı motel üzerinde yaptığımız çalışmada greftlerin %66'sında sahaya yeni oluşan kırıldak dokusunun hakim olduğu tespit edilmiştir (7). Allogreft kullanılarak yaptığımız bu çalışmada ise bazı greftlerde yeni kırıldak oluşumu tespit edilmesine karşın hiçbir grefte kırıldak dokusunun sahaya hakim olduğu görülmemiştir.

Bu bulgu serbest periost otogreftleri ile allogreftlerin kondrojenik potansiyelleri arasında belirgin bir fark olmadığını bildiren Salter'in (19) bulguları ile uyumlu değildir.

Salter çalışmasında kemiği ilgilendiren kırıldak lezyonlarını periost allogreftleri ile onarmış ve postoperatif dönemde devamlı pasif hareket uygulamıştır. Kemiği ilgilendiren kırıldak lezyonlarının devamlı pasif hareket altında hyalin kırıldak dokusu ile iyileşebileceği bilinmektedir (18). Salter ve tarafımızdan yapılan çalışmalarda alınan farklı sonuçların bu nedenle ortaya çıktığı söylenebilir.

Çalışmamızda histolojik inceleme sonucunda 6. haftada mezenkimal hücrelerin büyük oranda genç kırıldak hücrelerine farklılaştığı görülmüştür. Ancak bu farklılaşmanın olgun kırıldak dokusu yetersiz kaldığı tespit edilmiştir. 6. haftada tespit edilen bu görünüm daha önceki çalışmalarda 3. haftada periost otogreftlerinin aldığı görünüme benzemektedir. Rejeksiyon olmamasına rağmen mezenkimal hücrelerin olgun kırıldak hücrelerine dönüşmesini engelleyen veya geciktiren nedenler açıklanabildiği takdirde periost allogreftlerinin eklem kırıldak onarımlarında kullanılabileceği öne sürülebilir. Bu durumda periost otogreftleri hazırlamak için geniş insizyonlara gerek kalmayacaktır. Ayrıca kondrojenik potansiyeli daha fazla olan genç periost dokusu eklem onarımlarında kullanılabilecektir.

Özetlenecek olursa bu çalışmada serbest periost allogreftlerinin intraartiküler trasplantasyonlarda

1. rejeksiyona uğramadığı
2. kırıldak dokusuna dönüşebildiği
3. kondrojenik potansiyellerinin otogreftlere oranla daha sınırlı olduğu
4. doku uyumsuzluğunun sonuçları kötü yönde etkilediği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar:

- 1) Aston, J. E., Bentley, G.: Repair of articular surfaces by allografts of articular and growth plate cartilage. *J. Bone Joint Surg.*, 68:29-34, 1986.
- 2) Bentley, G., Greer, R.B.: Homotransplantation of isolated epiphyseal and articular cartilage chondrocytes into joint surfaces of rabbits. *Nature*, 230:385-388, 1971.
- 3) Bentley, G., Smith, A. U., Mukerjee, R.: Isolated epiphyseal chondrocyte allografts into joint surfaces. *Ann Rheum. Dis.*, 37:449-458, 1978.
- 4) Dutoit, G., Sweet, B.: Arthroplasty by osteocartilaginous graft in primates. *Clin. Orthop.*, 165: 49-63, 1982.
- 5) Enquist, O., Skoog, T., Pastacaldi, P., Yormuk, E., Juhlin, R.: The cartilagenous potential of the perichondrium in rabbit ear and rib. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, 13: 275-280, 1979.
- 6) Enjuist, O.: Reconstruction of Patellar articular cartilage with free autologous perichondrial grafts. An experimental study in dogs. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, 13:361-369, 1969.
- 7) Esemeli, B.T., Güven, O., Küllü, S.: Kobaylarda intraartiküler periost otogreftlerinin kondrojenik potansiyeli. *Acta Ortopedica Turcica*. (Yayında).
- 8) Gibson, T.: Cartilage and bone trasplantation. *Transpl. Proc.* 1(1): 246-250, 1969.
- 9) Gülman, B., Karagöz, F.: Artiküler kırıldak lezyonlarının serbest periost greftleri ile onarımı. *Ortopedi Travmatoloji ve Rehabilitasyon dergisi.*, 2(1): 1-7, 1988.
- 10) Heyner, s.: The significance of the intercellular matrix in the survival of cartilage allografts. *Trasplantation*. 8(5): 666-677, 1969.
- 11) Hvid, I., Andersen, I. B.: perichondrial autograft in traumatic chondromalacia patellae. *Acta Orthop. Scand.*, 52: 91-93, 1981.
- 12) Meyers, M.H., Chatterjee, S.N.: Osteochondral transplantation. *Surg. Clin. North Am.*, 58 (2): 429-434, 1978.
- 13) 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.*, 68-A: 1017-1035, 1986.
- 14) O'Driscoll, S.W., Keeley, F.W., Salter, R.B.: The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. *J. Bone Joint Surg.*, 68-A: 1017-1035, 1986.
- 15) O'Driscoll, S.W., Salter, R. B.: The repair of major osteochondral defects in joint surfaces by neochondrogenesis continuous passive motion. *Clin. Orthop.*, 208: 131-140, 1986. 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. on
- 17) Rubak J.M.: Recustruction of articular cartilage defects with free periosteal grafts. *Acta Orthop. Scand.*, 53: 175-180, 1982.
- 18) Rubak, J.M., Poussa, M., Ritsila, V.: Chondrogenesis repair of articular cartilage defects by free periosteal grafts in rabbits. *Acta Orthop. Scand.*, 53: 181-186, 1982.
- 19) Salter, R. B., Simmonds, D. F., Malcolm, B. W., Rumble, E. J., MacMishael, D.: The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. *J. Bone Joint Sur.* 62-A: 1232-1242, 1980.
- 20) Salter, R. B.: The biological concept of continuous passive motion of synovial joints: The first 18 years of basic research and its clinical application. *Clin. Orthop.*, 242: 12-25, 1989.
- 21) Zarnett, R., Delaney, J. P., O'Driscoll, S.W., Salter, R. B.: Cellular origin and evolution of neochondrogenesisin major full-thickness of a joint surface treated by free autogenous periosteal grafts and subjected to continuous passive motion in rabbits. *Clin. Orthop.*, 222: 267-274, 1987.

Yazışma Adresi :
Dr. Tanil Esemeli
Marmara Üniv. Tıp Fak.
Ortopedi ve Trav. ABD
Koşuyolu - İstanbul