

Kortikal defektlerde kemik iyileşmesine serbest periost greftinin etkisi

(Deneyisel çalışma)

Kenan Sarıdoğan⁽¹⁾, Hakan Gürbüz⁽²⁾, Selçuk Bilgi⁽³⁾, Levent Akkaya⁽⁴⁾

Bu çalışmada, 14 erişkin tavşanın tibialarında serbest periost greftinin osteokondrogenik potansiyelini araştırmak amaçlandı. Sol tibialar deney (Grup 1), sağ tibialar kontrol grubu (Grup 2) olarak seçildi. Her iki tibia'nın medialinden periost sıyrıldı ve 3.2 mm'lik matkap ucuyla periosttan arınmış bölgeye tek korteksi içeren bir defekt oluşturuldu. Medüller kanal ve endosteum tahrip edildi. Serbest periost grefti sol tibialardaki defektlere yerleştirildi. Serbest periost greftlerinin osteokondrogenik kapasiteleri kemik sintigrafisi, radyogram ve histolojik yöntemlerle incelendi ve kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Kemik dokusuyla iyileşme, Grup 1'de 8 haftalık deneklerin tümünde (%100) gerçekleşirken, Grup 2'de %40 oranında gerçekleşti. Bu bulgular, serbest periost greftinin, periosteum, endosteum ve medüller bölge gibi çevre dokuların harap edilmesine karşın kortikal defektlerde osteogenesisi hızlandırmaya devam ettiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Serbest periost grefti, transplant, kortikal defekt iyileşmesi

The influence of the free periosteal grafts on bone healing in cortical defects (Experimental study in rabbits)

The purpose of this study was to investigate the osteochondrogenic potential of free periosteal grafts within the tibial defects in 14 adult rabbits. As a experimental group (Group 1) left tibiae and as a control group (Group 2) right tibiae were selected. The periosteum was stripped from medial side of the both tibia and then with a 3.2 mm drill bit cortical defects were produced in the zone of free of periosteum. Medullary canal and endosteum was also destroyed. Free periosteal grafts were only introduced through the defects on the left tibiae. The osteochondrogenic capability of free periosteal grafts were studied by bone scan, radiograms and by histological methods and also compared to control group. After 8 weeks, healing with osseous tissue appeared in all the defects in Group 1 (100%), but only 40% in Group 2. These results revealed that, free periosteal grafts continue to accelerate the osteogenesis in cortical defects even in the disturbance of surrounding tissues such as periosteum, endosteum and medullary canal.

Key words: Free periosteal grafts, transplant, healing of cortical defects

Kemik iyileşme prosesinde bilinen lokal ve sistemik faktörler yanında henüz açıklığa kavuşmamış faktörler de bulunmaktadır (4, 6). İyileşmede, uyarıcı faktörler, osteogenik hücreler ve çevre şartlarının da etkili olduğu ve bunlar içinde en önemli yapının periost olduğu bildirilmiştir (2, 11, 12, 13, 14).

Periostun kambiyum tabakasında orijini tam olarak bilinmeyen fakat osteogenik kapasiteleri olan fibroblast benzeri hücreler olduğu ve bu osteogenik hücrelerin osteoblasta, kondroblasta ve çevre şartlarına göre osteoklastlara dönüşebileceği bilinmektedir (2, 10). Periostun, serbest veya vaskülarize greft olarak, değişik ortamlarda osteogenesis veya kondrogenise olumlu katkıda bulunduğu yapılan deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (1, 3, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16). Mekanik olarak stabil bir ortamda kemik iyileşmesi, primer kemik iyileşmesi şeklinde kırık dokusu safhasına geçmeden ve eksternal ve internal kallos dokusu oluşmadan gerçekleşmektedir (8).

Bu çalışmada, mekanik olarak stabil bir ortamda periosteum endosteum ve medullar kanal tahrip edilerek, serbest periost greftinin kemik iyileşme sürecine katkısını araştırmak amaçlandı.

Gereç ve yöntem

Bu çalışma, ağırlıkları ortalama 2100 gr olan 14 erişkin albino tavşan üzerinde yapıldı. Her tavşanın sol tibiası deney (Grup 1), sağ tibiası kontrol (Grup 2) grubu olarak seçildi. Premedikasyon, diazepam (3mgr/kg/İM) ile yapıldı. Cerrahi girişime ketamin hidroklorür (50mgr/kg/İM) ile başlandı ve açık eter anestezi ile devam edildi.

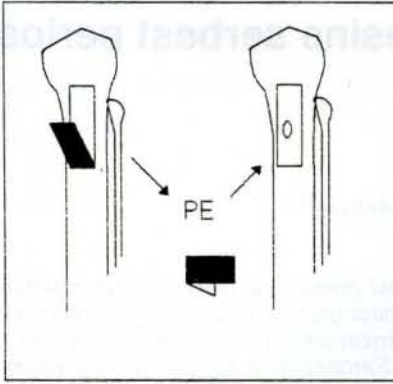
Cerrahi girişim aseptik şartlarda uygulandı. Proximal cruris medial yüzüne uzunlamasına kesiyile girilerek periosta ulaşıldı. Tibianın anteromedialinden yaklaşık 7x15 mm boyutlarında periost kemik yüzeyden kaldırıldı. Periostsuz alanda, 3.2 mm'lik matkap ucu ile tek korteksi içeren bir defekt oluşturuldu. Küretle defektin içi oyularak endosteum ve intramedüller damarlanma harap edildi. Sol tibialarda oluşturulan kortikal defektlere tibia anteromedialinden alınan ve kambiyum tabakası dışarda kalacak şekilde katlanmış serbest periost grefti yerleştirildi. Greftin yer değiştirmemesi için üzerindeki doku 4-0 prolene ile dikildi (Grup 1) (Şekil 1). Sağ tibialara ise aynı cerrahi işlem yapılmakla beraber oluşturulan defektlere serbest periost grefti konmadı (Grup 2). Cerrahi girişim sırasın-

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

(2) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Araştırma görevlisi

(3) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Araştırma görevlisi

(4) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Araştırma görevlisi



Şekil 1: Deneyin şematik görüntüsü

da ve sonrasında sodyum seftizoksim (250 mgr/İM) ile profilaksi yapıldı. Cerrahi girişim sonrası, 1. haftada 3, 2. haftada 1, 3. haftada 1 deney hayvanına, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda sintigrafik tetkik yapılarak, Grup 1 ve Grup 2'deki defektlerin zaman aktivite eğrileri ve radyoaktif madde tutulumları karşılaştırıldı. Bu işlem için, deney hayvanları, açık eter anestezisi uygulandıktan sonra gamma kamerada (Philips, NPS R. 5. 0) LEHR (low energy-high resolution) kolimatör altında posterior pozisyonda zoomlu çekim için hazırlandılar. Kulak venasından hızlı olarak 3 mci TC99m-MDP (metilen difosfanat) verildi ve 3 fazlı kemik sintigrafileri çekildi. 1. fazda her iki ekstremitenin arteriyel perfüzyonları 1 dakika boyunca izlendi. 2. fazda her iki ekstremitenin kan havuz görüntüleri alındı. 2 saat sonra statik sintigrafileri çekildi. Bilgisayara kayıtlar yapıldıktan sonra, her iki ekstremitenin simetrik bölgeleri belirlenerek 1. ve 3. fazdaki görüntüler bilgisayar yardımıyla kalitatif ve kantitatif olarak ölçüldü.

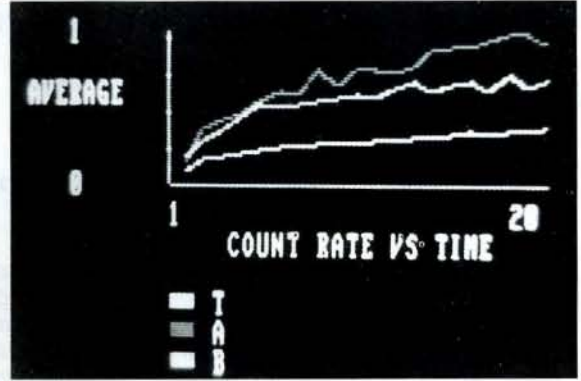
Deney hayvanları 1.2.3.4 ve 8. haftalarda öldürüldü. Her iki tibianın radyografileri büyütmeyle çekildi. Makroskopik gözlem sonuçları kayıt edildi. Dekalsifikasyon işlemi için %10'luk nitrik asit uygulandı. Defekti içine alan aksiyel kesitler alındı ve parafine gömüldü. 5 mikronluk kesitler, hematoksilen eosinle boyandı. Preparatlar ışık mikroskopunda incelendi.

Bulgular (Tablo 1)

Sintigrafik bulgular:

1. haftada 3 deney hayvanında yapılan dinamik sintigrafik tetkiklerde, çizilen zaman aktivite eğrileriyle, arteriyel kanlanmanın, deney grubunda kontrol grubuna oranla daha fazla olduğu görüldü (Resim 1). 2. ve 3. haftada 2 deney hayvanında çizilen aktivite eğrilerinde ise kanlanmanın deney ve kontrol grubunda eşit olduğu saptandı.

1. ve 2. haftalarda deney hayvanında yapılan statik incelemede radyoaktif madde tutulumunun her iki ekstremitede eşit olduğu gözlemlendi (Resim 2). 3. haftada 1 deney hayvanında yapılan statik incelemede ise serbest periost greftinin bulunduğu ekstremitede karşı ekstremiteye oranla radyoaktif madde tutulumunun artmış olduğu saptandı (Resim 3).



Resim 1: 1. hafta tavşanda dinamik kemik sintigrafisi ile zaman aktivite eğrileri. Sol tibia (A), sağ tibia (B), normal kanlanma (T), zaman aktivite eğrileri



Resim 2: 1. hafta tavşanda statik kemik sintigrafisi. Radyoaktif madde tutulumunun her iki defekte eşit olduğu görülmektedir



Resim 3: 3. hafta tavşanda statik kemik sintigrafisi. Radyoaktif madde tutulumunun serbest periost grefti konulmuş sol tibiada artmış olduğu görülmektedir

Radyolojik bulgular:

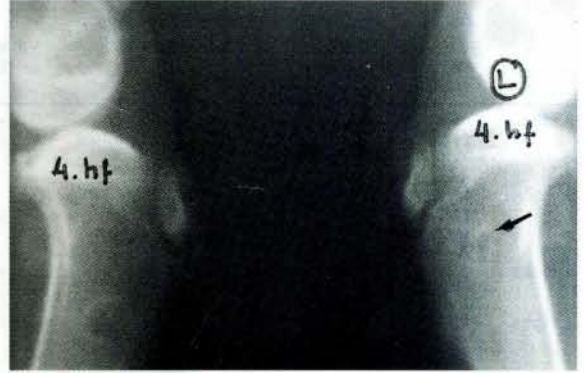
Radyolojik olarak serbest periost grefti konulmuş defektlerde (Grup 1) sklerotik bir halkanın 3. haftada, kontrol grubunda (Grup 2) ise 4. haftada belirdiği gözlemlendi. Defektlerin Grup 1'de 4. haftada radyolojik olarak kaybolduğu tespit edildi (Resim 4, 5).

Makroskopik bulgular:

2. haftada her iki grupta defektin kapanmadığı ve fibrotik dokuyla örtülmüş olduğu görüldü. 8. haftada,



Resim 4: 3. hafta tavşanda kıyaslamalı diz radyografisi. Serbest periost grefti konulmuş, sol tibiadaki defekte sklerotik bir halkanın oluştuğu gözlenmektedir.



Resim 5: 4. hafta tavşanda kıyaslamalı diz radyografisi. Serbest periost grefti konulmuş, sol tibiadaki defektin kaybolmakta olduğu görülmektedir.



Resim 6a: 2. hafta tavşanda aksiyel kesit ve oluşturulan kortikal defekt (CD)



Resim 6 b: Serbest periost grefti uygulanan defekte fibröz ve olgunlaşmamış kıkırdak doku

Grup 1'de tüm deneklerde (%100) defektlerin makroskopik olarak kapanmasına karşın Grup 2'de deneklerinin 2'sinde (%40) defektin kapandığı, diğer 3'ünde (%60) ise fibrotik dokuyla örtüldüğü gözlemlendi.

Mikroskopik bulgular:

Vasküler dokunun, Grup 1'de 1. haftada, Grup 2'de 3. ve 4. haftada yoğunlaştığı dikkati çekti. Granülasyon doku oluşumu, Grup 1'de 1. haftada, Grup 2'de 2. haftada gözlemlendi.

Grup 1'de 2. haftadan sonra tabloya kıkırdak dokunun hakim olduğu gözlemlendi (Resim 6a, 6b). Grup 2'de kıkırdak dokunun sadece 2 denekte az yoğunlukta geliştiği dikkati çekti (Resim 6c).

Grup 1'de 3. haftada kemik doku oluşumu başlarken Grup 2'de ancak 8. hafta deneklerinde başladı (Resim 7a, 7b). Kemik doku oluşumu 8. haftada Grup 1'deki tüm deneklerde (%100) saptanırken, Grup 2'de 8. hafta sonunda deneklerin 1'inde az yoğun ve olgunlaşmamış diğer 2'sinde olgunlaşmış kemik doku saptandı (%40).

Tartışma

Gerek kırık gerekse osteotomi sonrasında kemik iyileşmesinin hemen başladığı, vaskülarizasyon ve mekanik stabilitenin de iyileşme için gerekli olduğu

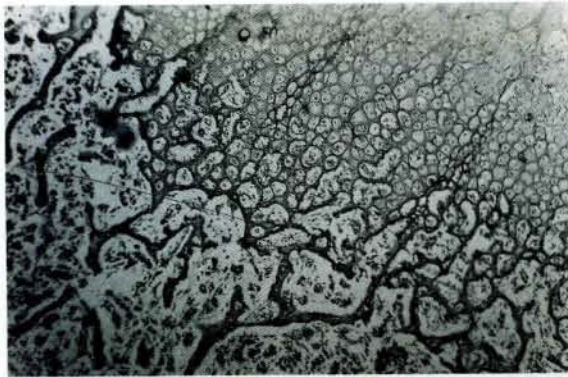


Resim 6 c: Aynı tavşanın serbest periost grefti uygulanmamış defektinde, vaskülarizasyonu bol fibröz doku ve az yoğunlukta kıkırdak doku gelişimi izlenmektedir (HE X160)

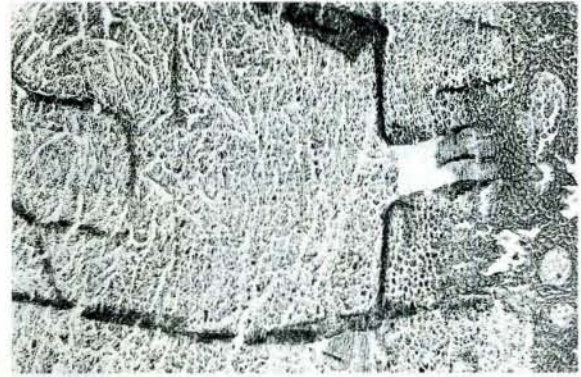
belirtilmiştir (6, 16). Poussa (11) 32 deney hayvanında, serbest periost ve osteoperiosteal greftlerle yaptığı kıyaslamalı deneysel çalışmada, serbest periost greftlerin, osteoperiosteal greftlerden daha kısa sürede (post-op 1. günde) vaskülarize olduğu ve ilk kapillerin periostun kambiyum tabakasında oluştuğu mikroangiografik olarak göstermiştir. Hughes ve ark. (5), Tc99m-MDP ile uyguladıkları dinamik kemik sintigrafilerinde, iyileşme bölgesinde kanlanmanın arttığını saptamışlardır. Bizim yaptığımız dinamik kemik sin-

	Denek No.	Radyolojik bulgular sklerotik halka	Makroskopik olarak defektin varlığı	Mikroskopik bulgular (*)				
				Vaskülerize doku	Granülasyon dokusu	Kıkırdak doku	Kemik doku	
GRUP 1	1. Hafta	9	-	var	+++	+	-	-
		11	-	var	+++	+	-	-
		4	-	fibrosis	+	-	+++	-
	2. Hafta	13	-	fibrosis	++	++	+++	-
		14	-	fibrosis	+++	+	+++	-
		10	+	fibrosis	++	+++	+++	+
	3. Hafta	7	+	fibrosis	+++	+	+++	+
		1	+	yok	++	+++	+++	++
	4. Hafta	12	+	fibrosis	++	+++	+++	++
		2	+	yok	++	+++	+++	++
		3	+	yok	++	+++	-	+++
		8. Hafta	5	+	yok	++	+++	-
		8	+	yok	+	-	-	+++
		6	+	yok	+	-	-	+++
GRUP 2	1. Hafta	9	-	var	+	-	-	-
		11	-	var	+	-	-	-
		4	-	var	+	-	-	-
	2. Hafta	13	-	fibrosis	+++	++	+	-
		14	-	fibrosis	+	-	-	-
		10	-	fibrosis	++	+++	-	-
	3. Hafta	7	-	var	+++	++	-	-
		1	+	var	++	+++	-	-
	4. Hafta	12	+	fibrosis	+++	++	-	-
		2	+	fibrosis	++	+++	-	+
		3	+	fibrosis	++	+++	++	-
		8. Hafta	5	+	fibrosis	++	+++	-
		8	+	yok	+	-	-	+++
		6	+	yok	++	+++	-	+++

Tablo 1: Deney (Grup 1) ve kontrol grubunun (Grup 2) radyolojik, makroskopik ve mikroskopik bulguları
 (*): -, yok; +, az yoğun; ++, orta yoğunlukta, +++ çok yoğun



Resim 7a: 3. hafta tavşanda serbest periost grefti uygulanmış defekte yoğun kıkırdak dizileri ve trabeküler kemik oluşumu



Resim 7b: Aynı tavşanın serbest periost grefti uygulanmamış defektinde, yoğun fibröz doku görülmekte ancak kıkırdak ve kemik doku görülmemektedir (HE X160)

tigrafilerinde, 1. hafta deneklerinde her iki grupta kanlanmanın normal kemik dokuya oranla artmış olduğu, bu artışın periost grefti konulmuş deney grubunda kontrol grubuna oranla daha da fazla olduğu görülmüştür. Mikroskopik incelemelerimizde, vaskülarizasyonunun 1. hafta deneklerinde, Grup 1'de Grup 2'ye oranla daha yoğun olması sintigrafik bulgularımızı desteklemekte ve periost greftinin canlılığını devam ettirdiğini düşündürmektedir.

Delaney ve ark. (3), immobilize ettikleri tavşan dizlerine uyguladıkları serbest periost greftinin 21 günde, Rubak ve ark. (15), kriza iliakada oluşturdukları defekte implate ettikleri periost greftinin 5-8. gün-

lerde kıkırdak dokuya dönüştüğünü göstermişlerdir. Rubak (15), Aitasolo ve ark. (1), nın serbest periost grefti ile yaptıkları deneysel çalışmalarda kıkırdak dokunun 14-21. günlerde kemik dokuya dönüştüğünü bildirmişlerdir. Deney grubumuzun (Grup 1) histolojik incelemelerinde, kıkırdak dokunun 2. haftada yoğunlaştığı ve 3. haftadan itibaren kemik dokuya dönüştüğü saptanmış ve bu bulguların radyografi ve statik kemik sintigrafileri ile uyumlu olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda (Grup 2) ise, kıkırdak doku oluşumu hem az sayıda denekte hem de deney grubuna oranla daha geç sürede oluşmuştur.

Shapiro ve ark (16), rigid internal fiksasyon gibi

tespitte mekanik stabilite sağlandığında, kemik iyileşmesinin kırıkta safhaya geçmeden (primer kemik iyileşmesi) gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Grup 2'de kırıkta dokunun geç devrede ve az yoğunlukta olması, mekanik stabilite nedeniyle primer kemik iyileşmesinin söz konusu olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca çevre periostun olmaması, medüller kanal ve endosteumun harap edilmesi defektlerin kemik dokusuyla iyileşmesini geciktirdiği söylenebilir. Aynı çevre şartlarındaki Grup 1 deneklerinde ise kırıkta dokunun kontrol grubuna oranla daha yoğun olması ve kemik iyileşmesinin 8. haftada tüm deneklerde gerçekleşmesi; serbest periost grefti nedeniyle sekonder kemik iyileşmesine bağlanabilir.

Sonuç olarak; mekanik olarak stabil bir ortamda, periosteum endosteum ve medüller kanalı tahrip edilmiş kortikal defektlerde serbest periost grefti osteokondrogenik potansiyelini devam ettirmekte ve kemik iyileşme süresini kısaltmaktadır. Klinik uygulamada eksternal fiksator veya vidaların çıkarılması sonrasında oluşan kemik defektlere, serbest periost grefti uygulanmasıyla iyileşme süresinin kısaltılabileceği düşünülebilir.

Kaynaklar

1. Aitasalo, K., Lehtinen, R.: The influence of a free periosteal transplant on bone healing in the irradiated tibia. *Scan J Plast Reconstr Surg.* 19: 237-244, 1985.
2. Brook, ALE: The periosteum: its function reassessed. *Clin Orthop.* 189: 300-307, 1983.
3. Delaney, JP., O'Driscoll, SW., Salter, RB.: Neochondrogenesis in Free Intraarticular periosteal Autografts in an Immobilized and Paralyzed Limb: An Experimental Investigation in the Rabbits. *Clin Orthop.* 248: 278-282, 1989.
4. Frost, HM.: The Biology of Fracture Healing-An overview for Clinicians. Part 1. *Clin Orthop.* 248: 283-294, 1989.
5. Hughes, S., Khan, R., Davies, R., Lavender, P.: The Uptake by the Canine Tibia of the Bone-Scanning Agent 99m Tc-MDP Before and After an Osteotomy. *J Bone Joint Surg.* 60-B: 579-582, 1978.
6. Hulth, A.: Current Concept of Fracture Healing. *Clin Orthop.* 249: 265-284, 1989.
7. Moutsouris, C., Karayannakos, P., Kairis, M., Dontas, I., Skalkas, G.: Reversed Free Periosteal Grafting of Extensive Tracheal Defects in Dogs. *J Pediatr Surg.* 24: 570-572, 1989.
8. Müller, ME., Allgöwer, M., Schneider, R., Willenegger, H.: *Manual of Internal Fixation 3rd ed*, pp 70, Springer Verlag Berlin, 1991.
9. O'Driscoll, SW., Salter, RB.: The Indication 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: 1248-1257, 1984.
10. Poussa, M., Rubak, J., Ritsila, V.: Differentiation of the Osteochondrogenic Cells of the Periosteum in Chondrotrophic environment. *Acta Orthop Scand.* 52: 235-239, 1981.
11. Poussa, M.: Vascularisation of Free Periosteal and 100 Micron Thick Osteoperiosteal Grafts in Muscle Tissue Environment. *Acta Orthop Scand.* 51: 197-204, 1980.
12. Rubak, JM.: Reconstruction of Articular Cartilage Defects with Free Periosteal Grafts: An Experimental Study. *Acta Orthop Scand.* 53: 175-180, 1982.
13. Rubak, JM., Poussa, M., Ritsila, V.: Chondrogenesis in Repair of Articular Cartilage Defects by Free Periosteal Grafts in Rabbits. *Acta Orthop Scand.* 53: 181-186, 1982.
14. Rubak, JM., Poussa, M., Ritsila, V.: Effects of Joint Motion on the Repair of Articular Cartilage with Periosteal Grafts. *Acta Orthop Scand.* 53: 187-191, 1982.
15. Rubak, JM.: Osteochondrogenesis of Free Periosteal Grafts in the Rabbit iliac Crest. *Acta Orthop Scand.* 54: 826-831, 1983.
16. Shapiro, F.: Cortical Bone Repair. *J Bone Joint Surg.* 70-A: 1067-1081, 1988.
17. Van Den Wildenberg FAJM., Goris RJA., Tutein, MBE.: Free Revascularised Periosteum Transplantation: An Experimental Study. *J Plast Surg. (Br)* 37: 226-235, 1984.

Yazışma adresi

Yard. Doç. Dr. Kenan Sarıdoğan
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı
Edirne, Türkiye