



Tam kalınlıkta kırıldak defektlerinin tedavisinde mikrokırık ve periost transplantasyon tekniklerinin birlikte kullanımı

Combination of microfracture and periosteal transplantation techniques for the treatment of full-thickness cartilage defects

Taner GÜNEŞ,¹ Cengiz ŞEN,¹ Mehmet ERDEM,¹ Reşid Doğan KÖSEOĞLU,² Nurper ONUK FİLİZ²

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, ²Patoloji Anabilim Dalı

Amaç: Kırıldak defekti tedavisinde mikrokırık ve periost transplantasyon teknikleri birlikte kullanılarak tamir kalitesinin artırılması amaçlandı.

Çalışma planı: Kırk adet Yeni Zelanda türü olgun tavşanın sağ femoral medial kondillerinin yük binme yüzeyinde 4 mm çapında tam kalınlıkta kırıldak defekti oluşturuldu. Denekler rastgele yöntemle eşit sayıda dört gruba ayrıldı. Kontrol grubunda sadece defekt yaratılıp, herhangi bir işlem uygulanmadı. İki gruba periost flebi transplantasyonu veya mikrokırık uygulandı. Son grupta ise mikrokırık ve periost flebi birlikte uygulandı. Ameliyat sonrasında tüm tavşanlara iki hafta immobilizasyon uygulandı. Ameliyat sonrası 12. haftada tüm hayvanların yaşamı sonlandırılarak, çıkarılan örnekler ICRS (International Cartilage Repair Society) skalasına, yeni oluşan kırıldak alanına ve canlı kondrosit sayısına göre değerlendirildi.

Sonuçlar: Kombine tedavi grubu, subkondral kemik ölçütü dışında, ICRS skalasının tüm ölçütlerinde (yüzey, matriks, hücre dağılımı, hücre canlılığı, kartilaj mineralizasyonu) diğer gruplara göre anlamlı farklılık gösterdi. Ayrıca, ortalama canlı kondrosit sayısı ve yeni oluşan kırıldak alanı bu grupta diğer tüm gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.0001$).

Çıkarımlar: Mikrokırık veya periost flep tekniklerinin tek başına kullanımıyla karşılaştırıldığında, tamir kalitesinde daha belirgin artış meydana getiren kombine tekniğin kırıldak defektlerinin tedavisinde daha etkin olduğu görülmektedir.

Anahtar sözcükler: Kırıldak, eklem/yaralanma/transplantasyon; kondrosit; kondrojeniz; periost/transplantasyon; tavşan; rejenerasyon; cerrahi flep; yara iyileşmesi/fizyoloji.

Objectives: Microfracture and periosteal transplantation techniques were combined in order to enhance the quality of repair for the treatment of full-thickness cartilage defects.

Methods: In 40 mature New Zealand white rabbits, a full-thickness cartilage defect of 4 mm was induced on the weight-bearing surfaces of the medial condyles of the right femur. The rabbits were randomly divided into four groups equal in size. Control animals remained untreated following defect induction. Two groups were either treated with periosteal transplantation or the microfracture technique, while the fourth group underwent combination of the two techniques. All the animals were immobilized for two weeks postoperatively. At the end of 12 weeks, the animals were sacrificed and the specimens were removed for evaluation according to the criteria of the ICRS scale (International Cartilage Repair Society), and with respect to newly regenerated cartilage areas and the number of viable chondrocytes.

Results: Specimens treated with the combination of the two techniques exhibited significant differences from the other groups in all criteria of the ICRS scale (surface, matrix, cellular distribution, cell viability, and cartilage mineralization) except for subchondral bone criteria. In addition, the mean number of viable chondrocytes and newly regenerated cartilage areas were the highest in this group ($p=0.0001$).

Conclusion: Due to markedly improved quality of repair, the combination of the microfracture and periosteal flap techniques seems to be more effective than either of the techniques used alone in the treatment of cartilage defects.

Key words: Cartilage, articular/injuries/transplantation; chondrocytes; chondrogenesis; periosteum/transplantation; rabbits; regeneration; surgical flaps; wound healing/physiology.

Günümüzde fokal kırıkta defektlerinin tedavisinde, kırıkta dokusunun fonksiyonları ve rejeneratif yetersizliği nedeniyle çözülmesi gereken sorunlar vardır. Rejenerasyonu sağlayan birçok tedavi yöntemi olmasına karşın, uzun dönemde dejeneratif sorunlar söz konusudur. Tedavide amaç, eklem biyomekanik özelliklerini devam ettirecek ve günlük streslere karşı eklemi koruyacak yeterlilikte uzun dönemde sağlıklı kalabilen hiyalin kırıktağın elde edilerek defektin giderilmesidir.

Kırıkta defektlerinin tamirlerinde başarısızlık, kırıktağın avasküler doğası, kondrositlerin düşük mitotik aktiviteleri ve sayısal olarak yetersizliklerine bağlanmaktadır.^[1-3] Aslında, bir kondrosit tek başına metabolik olarak oldukça aktiftir.^[3,4] Ancak, sayısal olarak doku içindeki miktarı azdır ve kırıkta doku kitlesinin %1'ini meydana getirir.^[4] Ayrıca, normal koşullarda erişkin eklem kırıktağın anlamlı proliferasyon göstermez.^[5] Bu nedenle, kırıkta hasarının tamir işlemi için ortamda mümkün olduğunca çok kondrosit bulunması gerekir.^[6] Otolog kondrosit transplantasyonunun özellikle büyük defektlerde başarılı olması, kondrosit kültürü ile canlı kondrosit sayısının artırılarak defekt alanına yerleştirilmesi ve ayrıca kondrojenik öncü hücreleri içeren periostun üzerine kapatılması sonucu kondrosit sayısının daha da artırılmasına bağlıdır; bu nedenle, bu teknik "iki-ki kondrojenik işlem" olarak adlandırılmaktadır.^[6]

Preklinik çalışmalar temel olarak eklem yüzeyinin yeniden oluşturulması ile ilgilidir.^[1,7,8] Bu çalışmalar, ağrısız fonksiyonel eklem elde etmeyi amaçlayan klinik çalışmalardan farklıdır. Herhangi bir hayvan modeli insana doğrudan uygulanamasa da, insanda yapılabilecek uygulamaların temellerinin oluşmasını sağlayabilir.^[1,7] Anahtar özellik, araştırılacak ve test edilecek hipoteze uygun hayvan modelinin seçilmesidir.^[7] Klinikte görülen kırıkta sorunlarında genellikle subkondral kemik penetrasyonu olmadığından, hayvan modellerinde de subkondral kemiğin penetre olmadığı defektler kullanılmaktadır.^[9] Tavşan modeli için 4 mm çapında ve tam kalınlıktaki defektin kendiliğinden iyileşmesi söz konusu değildir.^[10]

Defekt bölgesine daha fazla hücre getirilmesinin tamir kalitesini artırmasından yola çıkılarak, bu çalışmada iki ayrı stratejiden köken alan ve bir arada kullanılması ve uygulanması mümkün olan mikrokırık ve periost transplantasyonu teknikleriyle sinov-

yal eklemlerde meydana gelen kırıkta defektlerinin tedavisinde tamir dokusunun kalitesinin artırılması hedeflenmiş ve bu yolla oluşan tamir dokusu histopatolojik olarak incelenmiştir.

Gereç ve yöntem

Çalışma, Yeni Zelanda tipi 3-4 kg ağırlığında altı aylık olgun tavşanlar üzerinde yapıldı. Tavşanlar rastgele numaralandırılarak 10'arlı dört gruba ayrıldı. Tüm tavşanlarda tam kat kalınlıkta kırıkta defekt oluşturuldu. Kontrol grubunda (K) defekt için herhangi bir tedavi uygulanmadı. Periost grubundaki (P) tavşanlara tedavi amacıyla periost flebi, mikrokırık grubundaki (MK) tavşanlara mikrokırık uygulandı. Son grupta (MK-P) ise iki yöntem birlikte uygulandı. Ameliyat sonrasında periost fleplerinin korunması amacıyla iki hafta immobilizasyon uygulandı. Bu iki haftalık immobilizasyon dışında, tavşanlar herhangi bir kısıtlama uygulanmadan standart tavşan yemi ve su ile ad libitum beslendi, 12 saat ışık-12 saat karanlık döngüsünde 60x40x40 cm'lik kafeslerde bekletildi. Çalışma, etik kurul onayı alındıktan sonra (Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Tıbbi-Cerrahi-İlaç Araştırmaları Etik Kurulunun 03-GEKTIP-016 nolu onayı), Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi.

Cerrahi teknik

Anesteziye intramusküler ketamin 10 mg/kg ve xylazin 8 mg/kg kullanıldı. Profilaksi amacıyla sefazolin sodyum 20 mg/kg intramusküler uygulandı. Her bir tavşanın sağ alt ekstremitesi traşlandı. Steril boyama ve örtme işlemi sonrasında, anterior orta hattan uzunlamasına insizyonla sağ dize girildi. Medial parapatellar artrotomi sonrasında patella laterale lukse edilerek tüm diz ortaya kondu. Tüm tavşanlarda dermal *punch* ve özel bir küret kullanılarak, medial femoral kondilin yük binme yüzeyinde, subkondral kemiğe zarar vermeden, büyütme altında, 4 mm çapında tam kat kalınlıkta kırıkta defekt meydana getirildi. Defekt oluşturulurken subkondral kemik korundu ve defekt tabanından kanamanın olmamasına özen gösterildi. Kontrol grubundaki tavşanlara ek bir girişim yapılmadı.

Mikrokırık grubunda, defekt bölgesine 0.5 mm kalınlığında ve 1-2 mm derinliğinde, defektin periferinden merkeze doğru, her bir delik arasında sağlam

doku kalacak şekilde mikrokırık uygulandı. Her bir delikten kanamanın olmasına özen gösterildi.

Periost grubunda, insizyon distale doğru uzatılarak, tibia anteromedialinden 10x5 mm'lik periost flebi, literatürde önerildiği şekilde^[11] keskin uçlu periost elevatörü kullanılarak alındı. Flep 5x5 mm'lik iki parçaya ayrıldı. Parçalardan biri kambiyum tabakasının alınıp alınmadığının anlaşılması amacıyla histolojik incelemede kullanıldı. Diğer parça ise, kenarları yuvarlatılarak kambiyum tabakası defekte karşılık gelecek şekilde defekt içine yerleştirilerek, cerrahi mikroskop altında sağlam kıkırdak kenarlarına 10/0 Vicryl (Ethicon, San Angelo, TX, ABD) ile

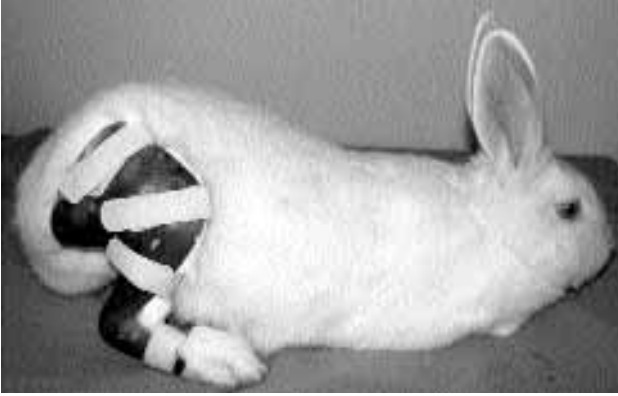
tek tek aralıklı dikişlerle dikildi. Her flep için ortalama dört adet dikiş kullanıldı.

Mikrokırık-periost grubunda ise, yukarıda anlatıldığı şekilde mikrokırık uygulandıktan sonra üzerine periost flebi eklendi (Şekil 1).

Her işlem sonrasında diz serum fizyolojik ile yıkandı. Artrotomi 4/0 Vicryl, cilt 3/0 ipek ile devamlı dikişlerle kapatıldı. Periost flebi uygulanan gruplarda flebin erken dönemde korunması amacıyla, tavşanın oturma pozisyonuna uygun olacak şekilde iki hafta eksternal immobilizasyon uygulandı. Bu nedenle, gruplarda homojenlik sağlanması için diğer gruplara da iki hafta immobilizasyon



Şekil 1. Cerrahi işlem basamakları. (a) 4 mm dermal *punch* ile defekt sınırlarının belirlenmesi. (b) Tam kat defektin görüntüsü. (c) Mikrokırık uygulanması. (d) Proksimal tibia anteromedialinden periostun alınması. (e) Alınan periostun defekt üzerine yerleştirilmesi. (f) Flebin aralıklı dikişlerle çevre kıkırdak dokuya dikildikten sonraki görüntüsü.



Şekil 2. Ameliyattan sonra iki haftalık immobilizasyon için kullanılan breys.

yon uygulandı. Immobilizasyon için özel yapım breys kullanıldı (Şekil 2).

Ameliyat sonrası işlemler

Analjezi için tüm tavşanların içme suyu içine 100 ml'de 1-2 mg/kg olacak şekilde asetaminofen eklendi. Ayrıca, beş gün süreyle sefazolin sodyum 20 mg/kg intramusküler uygulandı. Kullanılan breys sayesinde günlük yara kontrolü yapıldı. İki hafta sonunda immobilizasyona son verildi. Bu aşamadan sonra tavşanlara herhangi kısıtlama uygulanmadı.

Ameliyat sonrası 12. haftada, yüksek doz anestezi (pentotal sodyum) ile tüm tavşanların yaşamı sonlandırıldı. Yapılan muayenede hiçbir tavşanın dizinde hareket kısıtlılığı olmadığı gözlemlendi. Daha sonra distal femur, diz eklemi korunarak ve bir miktar distalde tibiayı da içerecek şekilde rezektü edildi. Rezeksiyon materyalinde diz eklemi anatomisi korunarak yumuşak dokular temizlendikten sonra, diz eklem kapsülü anatomi korunarak açıldı. Distal femur kısmı, anatomiye zarar vermeden diz ekleminden kondil yüzeyleri korunarak ayrıldı.

Histolojik hazırlık

Distal femur rezeksiyon materyali 48 saat formalin fiksasyonuna alındı. Fiksasyon sonrası her iki kondili içeren distal femur materyalleri tamponlu hızlı dekalsifikasyon solüsyonunda 48 saat tutuldu. Dekalsifikasyon işlemi sonrasında, distal femur, medial kondil yüzeyinde deneysel kırık defekt alanı ortalanarak frontal planda kesildi. Medial kondilin kırık defekt alanını içeren her iki yarımı doku takip işlemine alındı. Kırık sekiz saat formalin fiksasyonu sonrasında, alkol ile dehidratasyon, ksilen ile şeffaflaşım ve parafin ile infiltrasyon basamaklarını takiben kesitler parafine gömüldü. Her bir medial

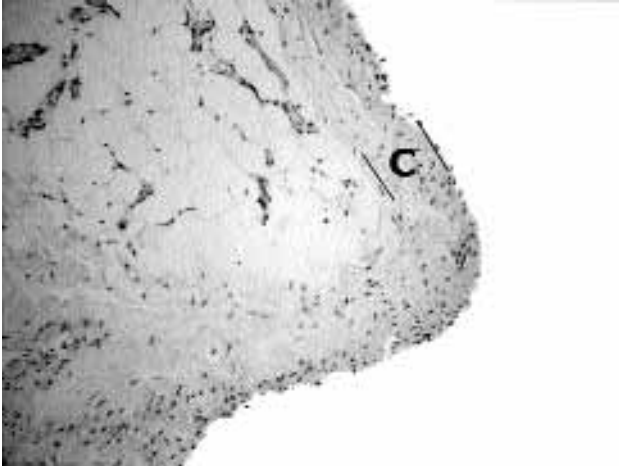
Tablo 1. ICRS (International Cartilage Repair Society) skalası

| Özellik | Skor |
|----------------------------------|------|
| I Yüzey | |
| Düzenli/devamlı | 3 |
| Düzensiz/devamsız | 0 |
| II Matriks | |
| Hyalin | 3 |
| Karışık: Hyalin/fibrokartilaj | 2 |
| Fibrokartilaj | 1 |
| Fibröz doku | 0 |
| III Hücre dağılımı | |
| Kolon | 3 |
| Karışık: kolon/küme | 2 |
| Küme | 1 |
| Tek tek/organize değil | 0 |
| IV Hücre canlılığı | |
| Çoğunlukla canlı | 3 |
| Bir kısmı canlı | 1 |
| %10'un altında canlı | 0 |
| V Subkondral kemik | |
| Normal | 3 |
| Artmış yeniden şekillenme | 2 |
| Kemik nekrozu/granülasyon dokusu | 1 |
| Ayrılmış/kırık/tabanda kallus | 0 |
| VI Kartilaj mineralizasyonu | |
| Normal | 3 |
| Anormal/uygun olmayan yerde | 0 |

kondil yarımından 4 mikrometre kalınlığında beşer adet seri kesit alındıktan sonra kesitler hematoxilen-eozin ile boyandı.

Histomorfometri

Hematoxilen-eozin boyalı kesitlerde, ICRS (International Cartilage Repair Society) skalasına^[12] (Tablo 1) göre, kırık tamiri histolojik olarak değerlendirildi. Ayrıca, defekt alanında tamir süreci ile oluşan yeni kırık doku alanı milimetrekare cinsinden hesaplandı. Yeni oluşmuş kırık doku alanları, kırık defekt alanını içeren medial kondilin her bir yarımından hazırlanan beşer adet kesitte (toplam 10 seri kesitte) oküler kareli mikrometre yardımıyla hesaplandı ve ortalaması alındı. Çıkan değer her bir deney hayvanında yeni gelişmiş ortalama kırık doku alanı olarak kabul edildi. Öte yandan, hematoxilen-eozin boyalı kesitlerde yeni gelişmiş kırık doku alanlarındaki canlı kondrositler sayıldı. Kondrosit sayımı 10 seri kesitin herbirinde ayrı



Şekil 3. Kambiyum tabakasını içeren periost flebi. C; kambiyum tabakası (H-E x 10).

ayrı yapıldıktan sonra bunların ortalama değeri hesaplandı. Kondrosit sayımı bilgisayar yazılımı (ImageJ V1.33, National Institute of Health, ABD) kullanılarak yapıldı.

Periost flebi uygulamak üzere alınmış olan greftin periost parçasında kambiyum tabakası varlığının gösterilmesi için rutin doku takip işlemleri uygulandı ve 4 mikrometrelik kesitler alınarak hematoksilen-eozin ile kesitler boyandı. Kambiyum tabakası açısından her bir örnek değerlendirildi (Şekil 3). Kambiyum tabakası izlenmeyen greftlerin alındığı denekler histolojik ve histomorfometrik değerlendirme dışında bırakıldı. Buna göre, periost ve kombine teknik gruplarında birer denek değerlendirmeye alınmadı.

Yapılan tüm değerlendirmeler, çalışmanın grup tasarımını bilmeyen ve birbirinden bağımsız çalışan iki ayrı patolojik tarafından yapıldı.

İstatistiksel değerlendirmeler

Kıkırdak alanı ve hücre sayısı parametrelerinin değerlendirilmesi için, grupların tümünün değeri

dirilmesinde Kruskal-Wallis varyans analizi, grupların kendi aralarında değerlendirilmesinde Mann-Whitney U-testi (Bonferroni correction) kullanıldı. ICRS skalasına göre yapılan değerlendirmelerde ise ki-kare analizi (likelihood ratio) kullanıldı. Yapılan hesaplamalar sonrasında p değerinin 0.00833'den küçük olması anlamlı kabul edildi.

Sonuçlar

On ikinci haftanın sonunda, kontrol grubunda dört tavşan (1 dizde septik artritis gelişmesi, 3 nedeni bilinmeyen ölüm); periost grubunda üç tavşan (2 flep ayrılması, 1 alınan periost flebinde kambiyum tabakasının olmaması); mikrokırık grubunda üç tavşan (1 enfeksiyon, 2 nedeni bilinmeyen ölüm); kombine tedavi grubunda ise iki tavşan (1 flep ayrılması, bir flepte kambiyum tabakasının olmaması) değerlendirilmeye alınmadı.

On ikinci haftanın sonunda tavşanların hiçbirinin dizinde hareket kısıtlılığı saptanmadı. Tüm gruplara ait histolojik incelemeler Şekil 4'de gösterildi.

Kıkırdak alanı

Defekt içinde meydana gelen tamir veya rejenerasyon dokusunun ortalama alanı kontrol grubunda $0.18 \pm 0.02 \text{ mm}^2$, periost grubunda $0.36 \pm 0.03 \text{ mm}^2$, mikrokırık grubunda $0.39 \pm 0.12 \text{ mm}^2$, kombine tedavi grubunda $0.64 \pm 0.03 \text{ mm}^2$ ölçüldü. Ölçüm değerlerine göre, mikrokırık ile periost grupları arasında anlamlı fark ortaya çıkmazken ($p=0.209$), iki grup ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı idi ($p=0.001$). Kombine tedavi grubu ise diğer tüm gruplarla anlamlı farklılık gösterdi ($p=0.0001$).

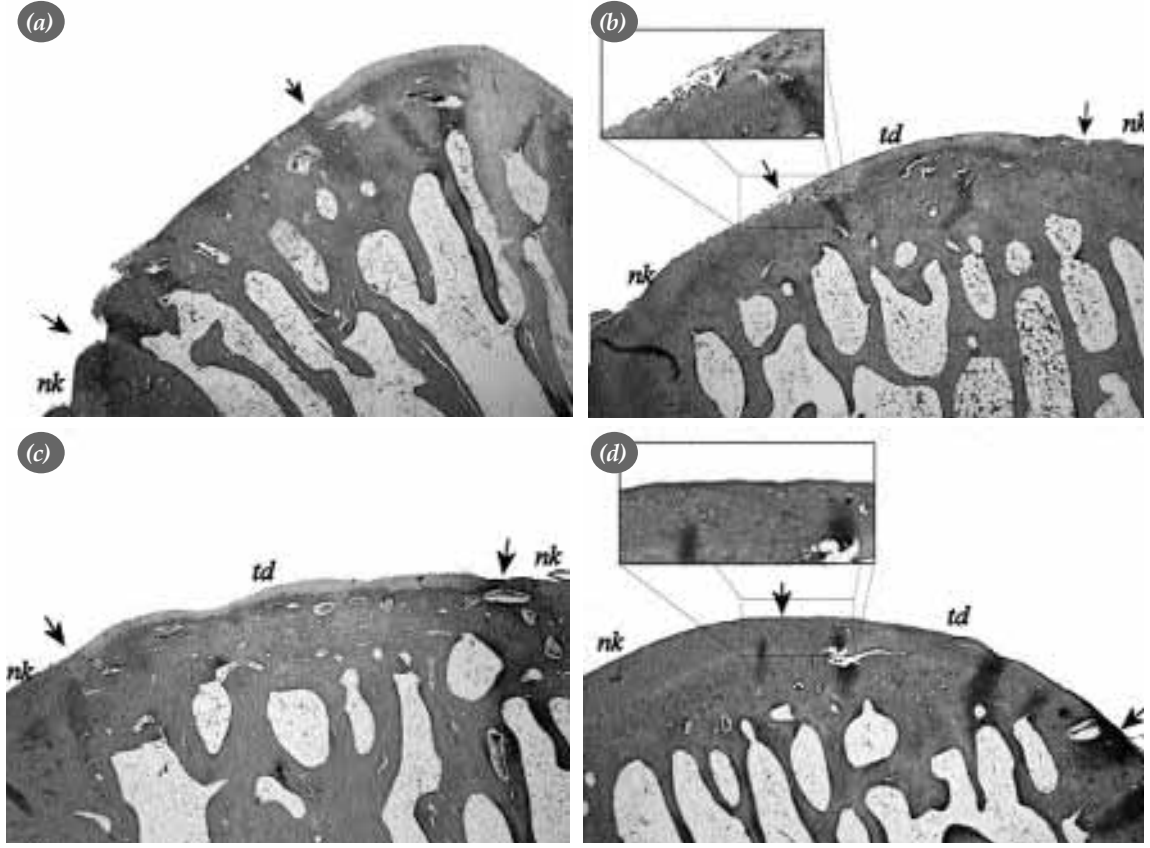
Canlı hücre sayısı

Defekt içinde meydana gelmiş olan yeni tamir dokusu içindeki canlı kondrosit sayısı ortalaması kontrol grubunda 44.67 ± 5.85 , periost grubunda 102.86 ± 20.33 , mikrokırık grubunda 120.86 ± 14.00 ,

Tablo 2. Gruplarda ICRS skalası ölçütlerine göre bulunan değerler

| | Yüzey | Matriks | Hücre dağılımı | Hücre canlılığı | Subkondral kemik | Kartilaj mineralizasyonu |
|----------------|-----------|-----------|----------------|-----------------|------------------|--------------------------|
| Kontrol | 0+0.00 | 0.67+0.52 | 0.67+0.52 | 1+0.00 | 0.67+1.21 | 0+0.00 |
| Periost | 0.86+1.46 | 2+0.58 | 1.71+0.95 | 2.14+1.46 | 2.14+1.07 | 1.71+1.60 |
| Mikrokırık | 0+0.00 | 1.86+0.69 | 1.43+0.79 | 2+1.29 | 0.86+1.07 | 1.29+1.60 |
| Kombine tedavi | 2.63+1.06 | 2.63+0.52 | 2.5+0.53 | 2.5+0.93 | 2+0.93 | 2.63+1.06 |
| p değeri* | 0.0001 | 0.0001 | 0.001 | 0.001 | 0.056 | 0.003 |

ICRS: International Cartilage Repair Society. *p değeri, kombine tedavi grubunun diğer gruplarla karşılaştırılmasına ait değerdir.



Şekil 4. Deney gruplarına ait histolojik kesitler. (a) Kontrol grubu; (b) periost grubu; (c) mikrokırık grubu; (d) kombine tedavi grubu. Oklar tamir dokusunun sınırlarına işaret ediyor. *nk*: normal komşu kırık; *td*: tamir dokusu. (a) Kontrol grubunda kırık tamir dokusunun neredeyse hiç gelişmediği görülüyor. (b) Periost grubuna ait bir deneğin histolojik görüntüsünde, defekt alanının hemen tamamen kırık tamir dokusu ile kaplanmış olduğu; ancak, komşu kırık ile bütünleşmenin iyi olmadığı gözleniyor (büyütme). (c) Mikrokırık grubunda kırık tamir dokusunun gelişimi diğer tamir gruplarına göre ince kalmış görünümde ve yüzey düzensizliği dikkat çekmektedir. (d) En iyi sonuçlara ulaşılan mikrokırık-periost grubuna ait bir deneğin histolojik görüntüsünde, normal kırık dokusu ile aynı kalınlıkta izlenen kırık tamir dokusunun yüzeyi oldukça düzenli görünümde ve sağlam kırık örtüsü ile devamlılık göstermektedir. Ayrıca, oluşan tamir dokusunun komşu kırık ile bütünleşmesinin iyi olduğu gözlenmektedir (büyütme) (H-E x 4).

kombine tedavi grubunda 172.75 ± 30.47 bulundu. Tüm tedavi gruplarında tamir dokusu içinde canlı hücre sayısı kontrol grubuna göre daha fazlaydı. Mikrokırık grubunda periost grubuna göre daha fazla canlı hücre saptanmasına karşın, iki grup arasındaki fark anlamlı değildi ($p=0.128$). Kombine tedavi grubunda ise ortalama canlı hücre sayısı tüm gruplara göre daha fazlaydı ($p=0.0001$).

ICRS skalası

Tüm gruplardaki defektler hematoksilen-eozin boyalı kesitlerde ICRS skalasının yüzey, matriks, hücre dağılımı, hücre canlılığı, subkondral kemik ve kalsifiye kırık mineralizasyonu ölçütlerine göre değerlendirildi (Tablo 2). Skalanın subkondral ke-

mik ölçütü dışında, yüzey, matriks, hücre dağılımı, hücre canlılığı ve kırık mineralizasyonu açısından gruplar arasında belirgin farklılık vardı. Kontrol grubu ile mikrokırık grubunda tamir dokusunun yüzeyi düzensiz idi. Periost grubunda bu iki gruba göre tamir dokusu yüzeyi daha iyi olmasına rağmen, bu açıdan en iyi grup kombine tedavi grubu idi ($\chi^2=20.761$, $p=0.0001$). Skalanın matriks değerlendirilmesinde de en iyi grup kombine tedavi grubu idi ve diğer gruplarla arasında anlamlı farklılık vardı ($\chi^2=31.054$, $p=0.0001$). Hücre dağılımının kombine tedavi grubunda yer yer küme ve yer yer kolumnar tipte olduğu, diğer gruplarda ise küme ve yer yer tek yerleşim gösterdikleri gözlemlendi ($\chi^2=27.421$, $p=0.001$). Kombine tedavi grubunda hücre canlılığı

($x^2=21.966$, $p=0.001$) ve normale yakın kalsifiye kıkırdak mineralizasyonu gösteren denek sayısı daha fazlaydı ($x^2=13.666$, $p=0.003$). Skalanın subkondral kemik ölçütüne göre tüm gruplarda benzer sorunlar vardı ($x^2=16.567$, $p=0.056$).

Tartışma

Kıkırdak defektlerinin tam rejenerasyonu bildirilmemiştir.^[1,13,14] Kıkırdak defekt tedavisinde birçok yöntem geliştirilmiş olmasına karşın, uzun süreli çözüm getiren bir teknik yoktur. Birçok tekniğin ana sorunu, oluşan tamir dokusu veya rejeneratın yetersiz biyomekanik özellikte olmasıdır.^[15] Kıkırdak defekt tedavisi ucuz, geri döndürülebilir olmalı ve en önemlisi, uzun süre osteoartrit gelişimini engelleyebilmelidir.^[2]

Kıkırdak tamirinin iki ana hedefi vardır: (i) Klinik olarak ağrının giderilmesi ve eklem fonksiyonlarının geri kazandırılması; (ii) osteoartritin engellenmesi ve/veya başlangıcının geciktirilmesi.^[7-9]

Pratik olarak bir diğer beklenti de, protez replasmanının anlamlı derecede uzun süre geciktirilmesi.^[8] Uzun dönemde kıkırdak tamirinin başarısını etkileyen birçok faktör vardır. Ancak, tamir dokusunun defekt bölgesine tutunması ve varlığını sürdürebilmesi kritik önem taşır.^[9] Bir diğer önemli faktör de defekt bölgesine getirilen hücrelerin sayısıdır. Bütün kıkırdak tamir yöntemleri, kondrojenik hücrelerin hasarlı bölgeye getirilmeleri ile ilgilidir. Mezenşimal hücrelere bağlı tamir, bu hücrelerin ortamda bulunmasına bağlıdır; bu nedenle, uygulanacak tedavi ile ortama bu hücrelerden mümkün olduğunca fazlasının getirilmesi gerekir.^[6]

Eklem yüzeyinin restorasyonu ve defekt tamir girişimleri temel olarak iki stratejiye dayanır:^[8,16] (i) İyileşmeyi sağlamak için kıkırdağın ve subkondral kemiğin intrinsik kapasitesinin artırılması; (ii) yeni kıkırdak oluşturma potansiyeli olan kondrojenik hücrelerin veya kondrositlerin transplantasyonu ile yeni eklem yüzeyinin oluşturulması.

Lavaj ve debridman,^[16] subkondral drilleme,^[2,17] abrazyon,^[2] mikrokirik^[2,18,19] gibi teknikler intrinsik kapasitenin artırılmasına yönelik girişimlerdir.^[16] Periosteal artroplasti,^[16,17,20] perikondral artroplasti,^[16,17,21,22] otolog osteokondral transplantasyon^[1,15] ve otolog kondrosit transplantasyonu^[2,6,16,23] ise yeni kondral yüzey oluşturulmasına yönelik girişimlerdir.^[16] Bu teknikler içinde otolog kondrosit transplan-

tasyonu, yukarıda belirtilen iki temel stratejinin bir arada kullanılması nedeniyle diğer yöntemlerden ayrılmaktadır. Günümüzde otolog kondrosit transplantasyonu özellikle büyük defektler için önerilmektedir.^[2] Bu yöntemin uygulanabilmesi için doku kültürü işleminin yapılabildiği yeni laboratuvarların kurulması ve standardize edilmesi veya mevcut laboratuvarlar ile çalışılması gereklidir. Ayrıca, bu teknik iki seanslı girişim gerektirir. Bu teknik ile yapılan tamir sonrasında defekt içinde %87 oranında yeni tamir dokusu olduğu gözlenmiş^[23] ve klinik olarak beş yıllık takiplerde %90 civarında başarılı sonuçlar bildirilmiştir.^[17,24] Buna karşın, yapılan randomize bir çalışmada, iki yıllık takip sonrasında otolog kondrosit transplantasyonu ile mikrokirik arasında makroskobik ve histolojik açıdan önemli fark görülmediği ve histolojik bulgularla klinik arasında anlamlı ilişki olmadığı bildirilmiştir.^[25]

Mikrokirik yöntemi, kemik iliği elemanlarının kıkırdak defektli olan bölgede birikerek “süper pıhtı” oluşturmalarını ve pıhtı içindeki kemik iliği kaynaklı mezenşimal kök hücrelerin kondrosite diferansiyasyonu olarak hiyalin kıkırdak oluşturulması temeline dayanmaktadır.^[2,18,19] Bu yöntem, defektli alanda dokunun rejenerasyonu ve vücudun iyileşme kapasitesini artıracak zengin bir ortam, yani yeni bir yüzey oluşturma işlemidir.^[18] Mikrokirik sonrası oluşan dokunun fibrokıkırdak olduğu ve hiyalin kıkırdak olmadığı ileri sürülmesine^[26] karşın, Steadman ve ark.^[19] mikrokirik tedavisiyle oluşan dokunun hiyalin ve fibrokıkırdak kombinasyonu olduğunu ve birinci yıl sonunda tamir dokusunun tip 2 kollajen içeriğinin %70 olduğunu bildirmişlerdir. Mikrokirik sonrası birinci yılda belirgin iyileşme olmasına rağmen, asıl iyileşme 2-3 yıl sonra meydana gelmektedir.^[19] Sürenin bu kadar uzun olması rejeneratın fizyolojik olarak yeniden şekillenmesine bağlanmakta ve sürenin kısaltılması için ek işlemler gerektiği düşünülmektedir.^[9,19] Çalışmamızın sonuçları, mikrokirik işlemiyle birlikte periost transplantasyonu uygulanmasının bu fizyolojik yeniden şekillenme süresini kısaltabileceğini düşündürmektedir.

Periostun kondrogenез özelliği uzun zamandan beri bilinmektedir.^[27] Periostun kambiyum tabakasındaki mezenşimal öncü hücreler eklem içindeki lokal faktörlerin etkisiyle farklılaşarak kondrosite dönüşmekte ve kondrogenезi sağlamaktadırlar.^[20,28] Yapılan çalışmalarda, periost transplantasyonu sonrası oluşan tamir dokusundaki kondrositlerin periost

kaynaklı olduğu gösterilmiştir.^[28] Ayrıca, periost kırıldak tamiri açısından hücre kaynağını, hücreleri ihtiva eden matriks ve doku formasyonunu etkileyen biyoaktif faktörler içerir.^[28] Ancak, periostun kondrojenik potansiyeli yaşlanma ile birlikte azalmaktadır.^[29] Transplantasyon sonrasında 1-10. gün arasında flep kaynaklı hücre proliferasyonu olurken, 7-28 gün arasında hücresel farklılaşma ve 10-42 günler arasında matriks sentezi başlamaktadır.^[28] Bir çalışmada, periost flebi sonrasında oluşan rejeneratın kalınlığı 12. haftada normal kırıldaktan fazla ve normal kırıldak ile entegrasyonu iyi; 24. haftada ise tamir dokusunun kalınlığının normale yaklaştığı bulunmuştur.^[10] Anılan çalışmada flebin tespiti için doku yapıştırıcısı kullanılmıştır. Biz dikişle tespit yaptığımız periost fleplerinde 12. haftada flepte kalınlaşma gözlemedik. Periost transplantasyonunun klinik uygulanımı ile ilgili en büyük seri Lorentzon ve ark.na^[30] aittir. Bu yazarlara göre, tek başına periost transplantasyonu, eklem kırıkdağının rejenerasyonunu ve klinik olarak tatminkar sonuç sağlayan iyi bir yöntemdir. Öte yandan, tek başına periost transplantasyonunun kırıldak tamirine anlamlı katkısının olmadığını düşünen yazarlar da vardır.^[23]

Kırıldak tamirinin kalitesini belirleyen faktörlerden bir diğeri de tamir dokusu ile çevre sağlıklı kırıldak dokusu arasındaki entegrasyondur. Yapılan bir çalışmada, kültürde üretilmiş kondrositlerin tamir bölgesine yerleştirilmesi ile tamir dokusunun oluştuğu; ancak, tamir dokusu ile sağlıklı kırıldak dokusu arasındaki entegrasyonun iyi olmadığı, periost transplantasyonunun eklenmesiyle entegrasyonun sağlandığı görülmüştür.^[6] Yazarlar bunu periosttan salınan biyoaktif faktörlere bağlamışlardır. Tamir kalitesini artıran diğeri bir faktör ise işlem sonrasında uygulanan kontrollü pasif hareketi içeren rehabilitasyondur. Yapılan çalışmalarda mikrokırık^[18,31,32] ve periost transplantasyonu^[16,20,28] sonrası kontrollü pasif hareketin uygulanması ile oluşan dinamik kompresyonun kondrositlerin rejeneratif potansiyellerini düzenlediğini, yeni yüzey oluşumunun kalitesini artırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, mikrokırık için klinik olarak kontrollü pasif hareket uygulanması ile sıradan rehabilitasyon arasında fark olmadığını düşünenler de vardır.^[33]

İngilizce yayınlarda, mikrokırık ve periost transplantasyonunun birlikte uygulandığı tek bir çalışmaya rastladık.^[34] Siebold ve ark.^[34] humerus başı defektlerinde bu tekniği uyguladıkları sınırlı

sayıda hastalarında klinik ve radyografik olarak tatminkar sonuç elde etmişlerdir. Ancak, histolojik değerlendirme yapmadıklarından bu teknik sonrasında meydana gelen tamir dokusunun içeriği açıklanamamıştır.

Çalışma sırasında ameliyat sonrası dönemde tavşanlara kontrollü pasif hareket yaptırılmaması, tavşan kırıldak kalınlığının ince olması (yaklaşık 0.5 mm^[1,8]) nedeniyle periost flebinin dikilmesinin zor olması, takip sırasında immobilizasyona rağmen flep ayrılması sorunlarının yaşanması ve takip süresinin kısa olması bu çalışmanın eksiklikleridir. Bu eksikliklere rağmen, çalışmamızda kombine teknik uygulanan defektlerde, mikrokırık ve periost transplantasyonu işlemlerine göre daha fazla tamir dokusu ve tamir alanı içinde daha fazla canlı kondrosit bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, ICRS skalasında, subkondral kemik ölçütü dışında kombine teknikte daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Bütün bu bilgiler ışığında, kombine mikrokırık ve periost transplantasyonu tekniği, bu tekniklerin tek başlarına kullanımlarına göre daha fazla ve kaliteli tamir dokusu oluşturmuştur. Burada araştırılan kombinasyon ucuz ve tek seansta uygulanabilir olduğundan klinik olarak alternatif bir yöntem olarak düşünülebilir.

Kaynaklar

1. Breinan HA, Hsu HP, Spector M. Chondral defects in animal models: effects of selected repair procedures in canines. Clin Orthop Relat Res 2001;(391 Suppl):S219-30.
2. Sgaglione NA, Miniaci A, Gillogly SD, Carter TR. Update on advanced surgical techniques in the treatment of traumatic focal articular cartilage lesions in the knee. Arthroscopy 2002;18(2 Suppl 1):9-32.
3. Sandell LJ, Aigner T. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. Arthritis Res 2001;3:107-13.
4. Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions. Instr Course Lect 1998; 47:477-86.
5. Rosier RN, O'Keefe RJ. Autocrine regulation of articular cartilage. Instr Course Lect 1998;47:469-75.
6. Brittberg M. Autologous chondrocyte transplantation. Clin Orthop Relat Res 1999;(367 Suppl):S147-55.
7. O'Driscoll SW. Preclinical cartilage repair: current status and future perspectives. Clin Orthop Relat Res 2001;(391 Suppl):S397-401.
8. Reinholz GG, Lu L, Saris DB, Yaszemski MJ, O'Driscoll SW. Animal models for cartilage reconstruction. Biomaterials 2004;25:1511-21.
9. Frisbie DD, Oxford JT, Southwood L, Trotter GW, Rodkey WG, Steadman JR, et al. Early events in cartilage repair after subchondral bone microfracture. Clin Orthop Relat Res 2003;(407):215-27.

10. Carranza-Bencano A, Garcia-Paino L, Armas Padron JR, Cayuela Dominguez A. Neochondrogenesis in repair of full-thickness articular cartilage defects using free autogenous periosteal grafts in the rabbit. A follow-up in six months. *Osteoarthritis Cartilage* 2000;8:351-8.
11. O'Driscoll SW, Fitzsimmons JS. The importance of procedure specific training in harvesting periosteum for chondrogenesis. *Clin Orthop Relat Res* 2000;(380):269-78.
12. Mainil-Varlet P, Aigner T, Brittberg M, Bullough P, Hollander A, Hunziker E, et al. Histological assessment of cartilage repair: a report by the Histology Endpoint Committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS). *J Bone Joint Surg [Am]* 2003;85 Suppl 2:45-57.
13. Jackson DW, Lalor PA, Aberman HM, Simon TM. Spontaneous repair of full-thickness defects of articular cartilage in a goat model. A preliminary study. *J Bone Joint Surg [Am]* 2001;83:53-64.
14. Prakash D, Learmonth D. Natural progression of osteochondral defect in the femoral condyle. *Knee* 2002;9:7-10.
15. Hangody L, Feczko P, Bartha L, Bodo G, Kish G. Mosaicplasty for the treatment of articular defects of the knee and ankle. *Clin Orthop Relat Res* 2001;(391 Suppl):S328-36.
16. O'Driscoll SW. The healing and regeneration of articular cartilage. *J Bone Joint Surg [Am]* 1998;80:1795-812.
17. Menche DS, Vangness CT Jr, Pitman M, Gross AE, Peterson L. The treatment of isolated articular cartilage lesions in the young individual. *Instr Course Lect* 1998;47:505-15.
18. Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ. Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. *Clin Orthop Relat Res* 2001;(391 Suppl):S362-9.
19. Steadman JR, Briggs KK, Rodrigo JJ, Kocher MS, Gill TJ, Rodkey WG. Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up. *Arthroscopy* 2003;19:477-84.
20. O'Driscoll SW. Articular cartilage regeneration using periosteum. *Clin Orthop Relat Res* 1999;(367 Suppl):S186-203.
21. Amiel D, Coutts RD, Abel M, Stewart W, Harwood F, Akeson WH. Rib perichondrial grafts for the repair of full-thickness articular-cartilage defects. A morphological and biochemical study in rabbits. *J Bone Joint Surg [Am]* 1985;67:911-20.
22. Bombaci H, Turkmen IM, Aker F, Bombaci E. The use of chondral rib in the treatment of articular cartilage defects. [Article in Turkish] *Acta Orthop Traumatol Turc* 2000;34:403-11.
23. Brittberg M, Nilsson A, Lindahl A, Ohlsson C, Peterson L. Rabbit articular cartilage defects treated with autologous cultured chondrocytes. *Clin Orthop Relat Res* 1996;(326):270-83.
24. Peterson L, Minas T, Brittberg M, Lindahl A. Treatment of osteochondritis dissecans of the knee with autologous chondrocyte transplantation: results at two to ten years. *J Bone Joint Surg [Am]* 2003;85 Suppl 2:17-24.
25. Knutsen G, Engebretsen L, Ludvigsen TC, Drogset JO, Gronthvedt T, Solheim E, et al. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomized trial. *J Bone Joint Surg [Am]* 2004;86:455-64.
26. Robinson D, Nevo Z. Articular cartilage chondrocytes are more advantageous for generating hyaline-like cartilage than mesenchymal cells isolated from microfracture repairs. *Cell Tissue Bank* 2001;2:23-30.
27. 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 continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg [Am]* 1986;68:1017-35.
28. O'Driscoll SW, Fitzsimmons JS. The role of periosteum in cartilage repair. *Clin Orthop Relat Res* 2001;(391 Suppl):S190-207.
29. O'Driscoll SW, Saris DB, Ito Y, Fitzsimmons JS. The chondrogenic potential of periosteum decreases with age. *J Orthop Res* 2001;19:95-103.
30. Lorentzon R, Alfredson H, Hildingsson C. Treatment of deep cartilage defects of the patella with periosteal transplantation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1998;6:202-8.
31. Salter RB, Simmonds DF, Malcolm BW, Rumble EJ, MacMichael D, Clements ND. The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg [Am]* 1980;62:1232-51.
32. Kim HK, Moran ME, Salter RB. The potential for regeneration of articular cartilage in defects created by chondral shaving and subchondral abrasion. An experimental investigation in rabbits. *J Bone Joint Surg [Am]* 1991;73:1301-15.
33. Marder RA, Hopkins G Jr, Timmerman LA. Arthroscopic microfracture of chondral defects of the knee: a comparison of two postoperative treatments. *Arthroscopy* 2005;21:152-8.
34. Siebold R, Lichtenberg S, Habermeyer P. Combination of microfracture and periosteal-flap for the treatment of focal full thickness articular cartilage lesions of the shoulder: a prospective study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2003;11:183-9.