132237

T. C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

PERİKONDRİUM VE PERİOST GREFTLERİNİN KIKIRDAK OLUŞTURMA KAPASİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI VE OKSİDE SELÜLOZUN REJENERASYONA ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

DR. ALPER SARI

132237

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. OSMAN LATİFOĞLU

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ANKARA-2003

ÖNSÖZ

Bu tezin hazırlanmasında her zaman desteğini hissettiğim, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Osman Latifoğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışma süresince değerli fikirsel katkılarını, destek ve hoşgörülerini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. M. Cemalettin Çelebi'ye, Sayın Prof. Dr. Kenan Atabay'a, Sayın Prof Dr. Seyhan Çenetoğlu'na, Sayın Yrd. Doç. Dr. Reha Yavuzer'e ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Sühan Ayhan'a, yardımları ve iş gücü ile çalışmanın yürütülmesine destek olan Dr. Serhan Tuncer'e, sağladığı teknik destek ile katkıları olan Dr. Yavuz Başterzi'ye, Cerrahi Araştırma Laboratuarı'nın olanaklarından faydalanmamı sağlayan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuarı ve Cerrahi Komisyonu üyelerine, çalışmamın histolojik boyutunun ortaya konulmasında katkılarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Candan Özoğul'a ve Sayın Dr. Çiğdem Elmas'a, istatistiksel incelemelerde yardımlarından dolayı Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan Sayın Dr. Seçil Özkan'a ve Dr. Elif Durukan'a, Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda her konuda yardımlarını esirgemeyen Sayın Vet. Dr. Şeyda Diker'e ve Kutay Coşkun'a, Sayın Teknisyen Osman Uçakçıoğlu'na ve Murtaza Baştuğ'a ve yardımlarıyla her zaman destek olan tüm Plastik Rekonstrükif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

3. GEREÇ ve YÖNTEM 19

4. BULGULAR 32

5. TARTIŞMA ve SONUÇ 47

6. ÖZET 59

10. KAYNAKLAR 61

GİRİŞ

Kıkırdak, mekanik strese dayanabilen özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kemikler gibi, iskelet sisteminin vücuda destek sağlayan bileşenlerinden birisidir. Kıkırdak doku, kondrosit adı verilen hücreler ve bu hücrelerin sentezleyip salgıladıkları matriksten oluşur. Matrikste bulunan kollajen liflerinin tipine göre başlıca 3 tip kıkırdak vardır. Bunlar hyalin kıkırdak, elastik kıkırdak ve fibröz kıkırdaktır.[26] Perikondrium adı verilen bağ dokusu kıkırdak dokusunun çevresini sarar ve klasik bilgi olarak 2 tabakadan oluşur. Bunlardan dıştaki, fibröz yapıda olup kondrojenik potansiyel taşımazken, içte yer alan proliferatif tabaka ise yeni kıkırdak oluşturma potansiyeline sahiptir. Proliferatif tabaka ile altındaki kıkırdak dokusu arasında net bir histolojik sınır yoktur ve bazı araştırmacılar tarafından, proliferatif tabakanın en derin kısmı transisyonel tabaka olarak da tanımlanmıştır.[9]

Rekonstrüktif girişimlerde, kıkırdak dokusuna çeşitli nedenlerle ihtiyaç duyulan durumlarda bu dokuyu sağlamanın en kolay ve güvenilir yolu bireyin kendisinden kıkırdak grefti almak ve gerekli şekillendirmeler ile bu kıkırdağı kullanmaktır. Kıkırdak greftleri burun, kulak, kraniofasyal iskelet ve eklem rekonstrüksiyonlarında kullanılmaktadır.[7,4,36,37,77] Kıkırdak vericisi olarak kulak konkası, nazal septum ve kostal kıkırdaklar seçilebilir, ancak tüm bu bölgelerden fonksiyonel ve estetik kayıplara yol açmadan elde edilebilecek kıkırdak miktarı kısıtlıdır.[14,22,50] Bu nedenle kıkırdağı başka yollarla elde etmenin çeşitli alternatifleri aranmıştır. Kadavra kökenli kıkırdak dokusu kullanımı buna örnektir, fakat kıkırdağın bu şekilde kullanılmadan önce bir dizi işlemden geçirilmesi gerekmektedir.[42]

Perikondriumun serbest kıkırdak greftlerinin üzerinde bırakılmasının, greftlerin canlı kalma ve komşu kıkırdak yüzeyi ile interkartilajinöz iyileşebilme şanslarını arttırdığı rapor edilmiştir.[16] Aynı zamanda perikondriumun doğurgan olan iç tabakasının yeni kıkırdak oluşturma potansiyeli de uzun yıllardır bilinmektedir.[43,57,71]

Endokondral kemikleşmede, kemik dokusunun kıkırdak model üzerinden gelişimi göz önüne alınarak, periostun da kıkırdak doğurganlık kapasitesi araştırılmış ve özellikle eklem kıkırdaklarının rekonstrüksiyonu amacıyla greft olarak kullanımı üzerinde çalışılmıştır.[38,39]

Perikondrium ve periost greftleri ile yapılan çalışmalarda, kıkırdak oluşumunu etkileyen faktörler incelenmiş, değişik otojen ve sentetik materyallerin kullanımı ile gelişen kıkırdak doku miktarı arttırılmaya çalışılmıştır.[56,65,74,78] Yine perikondriumdan oluşacak kıkırdağa uygun şekil verebilmek için de değişik kalıplar denenmiş ve biyolojik şekli en uygun kıkırdağın oluşturulmasına çalışılmıştır.[66,88]

Biz de bu çalışmada tavşan modelinde, kulak perikondrium ve kranyum periost greftlerini doğurgan tabakaları içe bakacak şekilde katlayıp cep haline getirdikten sonra, karında kas fasyası altı plana serbest olarak yerleştirip ortaya koyacakları kıkırdak oluşturma potansiyellerini karşılaştırmayı amaçladık.

Ayrıca, sentetik bir materyal olan ve klinikte esas olarak hemostatik amaçlı kullanılan, fakat periost altına yerleştirildiğinde kemik gelişimini olumlu yönde etkilediğine dair çalışmalar da bulunan, okside rejenere selülozu (Surgicel®) oluşturduğumuz perikondrium ve periost ceplerinin içerisine koyarak kıkırdak oluşumunu nasıl etkileyeceğini araştırdık.[24,25]

GENEL BİLGİLER

KIKIRDAK ve PERİKONDRİUM

Kıkırdak mezenkimal kökenli, damar içermeyen özelleşmiş bir bağ dokusudur. Kondroblast ve kondrosit isimli hücreler ile kondrositlerin sentezledikleri ara matriksten oluşur (Şekil 1). İskelet sisteminin bir parçası olarak yumuşak dokulara destek sağlama ve mekanik şoku emme görevleri vardır. Ayrıca eklem yüzeylerinde yer alarak düzgün yüzeyi ile kemikler arası hareketlerde sürtünmeyi engeller.



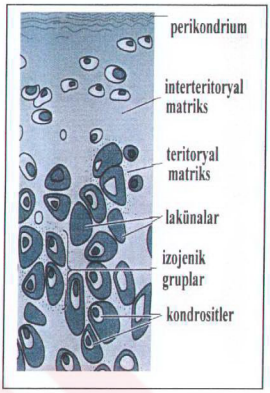
Şekil 1: Matür kıkırdak yapısının ışık mikroskopta görünümü. C: geniş ovoid kondrositler, P: perikondrium (Hematoksilen ve eozin boyama, x 270) (Gartner LP ve Hiatt JL. Color Textbook of Histology, 2nd ed., Gartner LP, Hiatt JL (eds.) W.B. Saunders, Philadelphia, s: 131, 2001).

Kondrositler matriks yapısı içerisinde, laküna adı verilen ufak kavitelerde bulunurlar. Matriks ise kondrositler tarafından sentezlenip salgılanan glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar ile kollajen ve elastik liflerden meydana gelir.[26,40] İn vivo canlı kıkırdakta matriks yapısının %80'ini su meydana getirirken, kuru kıkırdak ağırlığının %40'ı kollajenden oluşur. Matriksin fibröz ve amorf yapı taşları arası bağlantılar kondronektin adı verilen bir glikoprotein ile olur. Yapılarında bulunan matriks yapı taşlarının farklılığına göre üç tip kıkırdak oluşur:[26,40]

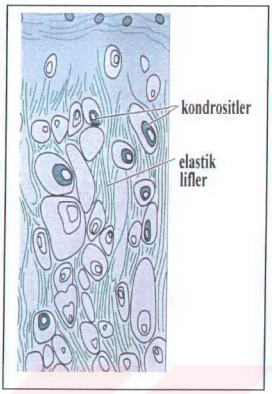
- **Hyalin Kıkırdak:** Basınca karşı son derece dayanıklıdır. Yapısında Tip II kollajen bulunur. Embriyonik hayatta uzun kemiklerin öncüsüdür, ayrıca erişkin hayatta hareketli eklemlerin yüzeylerinde, solunum yolu kıkırdak yapıları olan, burun, larinks, trakea ve bronşlarda, kostal kıkırdaklarda ve büyümekte olan kemiklerin epifiz plaklarında bulunur (Şekil 2). Matriksi kemikleşebilir.

- **Elastik Kıkırdak:** Basınca karşı hyalin kıkırdak kadar dayanıklı değildir, ancak bükülebilirliği fazladır. Yapısında Tip II kollajene ek olarak bol miktarda elastik lifler de içeren bu kıkırdak, kulak, dış kulak yolu duvarı, östaki tüpü, epiglot ve kuneiform kıkırdaklarının yapısında bulunur (Şekil 3). Matriksi kemikleşmez.

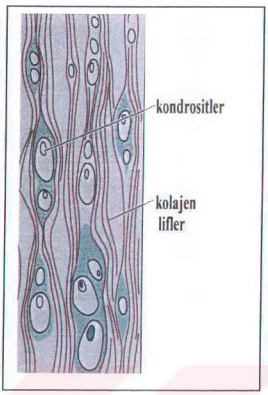
- **Fibröz Kıkırdak:** Basınca karşı son derece dayanıklıdır. Yapısında Tip I kollajen lifleri barındırır. İntervertebral disklerin yapısında, symphisis pubiste, sternoklavikular ve temporomandibular eklemlerin eklem disklerinde bulunur (Şekil 4).



Şekil 2



Şekil 3



Şekil 4

Şekil 2: Hyalin kıkırdağın şematik yapısı (Gartner LP ve Hiatt JL. Color Textbook of Histology, 2nd ed., Gartner LP, Hiatt JL (eds.) W.B. Saunders, Philadelphia, s: 130, 2001).

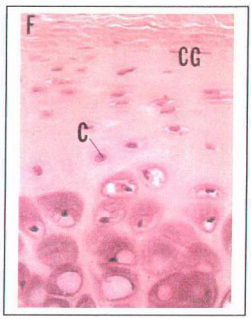
Şekil 3: Elastik kıkırdağın şematik yapısı (Gartner LP ve Hiatt JL. Color Textbook of Histology, 2nd ed., Gartner LP, Hiatt JL (eds.) W.B. Saunders, Philadelphia, s: 130, 2001).

Şekil 4: Fibröz kıkırdağın şematik yapısı (Gartner LP ve Hiatt JL. Color Textbook of Histology, 2nd ed., Gartner LP, Hiatt JL (eds.) W.B. Saunders, Philadelphia, s: 130, 2001).

Kıkırdağın yapısında kan damarları bulunmaz ve bu yüzdendir ki kondrositler düşük kısmi oksijen basıncı altında solunum yapar ve glukozu anaerobik olarak metabolize ederler. Besin maddeleri ve oksijen kondrositlere matriksten difüzyon yoluyla ulaşır.[30]

Kıkırdak dokusunun büyümesi iki şekilde olur. Bunlardan ilki 'interstisyel büyüme' olarak adlandırılır, ve mezenkimal kökenli öncü hücreler olan kondroblastların, kondrofikasyon merkezlerinde kondrositlere dönüşüp, daha sonra bölünerek, lakünalar içerisinde izojenik gruplar oluşturmaları ve bu sırada matriks sentez ve salgısına da başlamaları ile olur. İkinci büyüme tipinde ise, kıkırdağı çevreleyen perikondrium dokusunun iç tabakasında yer alan mezenkimal kökenli fibroblastlardan farklılaşan kondrojenik hücreler kondroblastlara dönüşürler ve matriks yapımına başlarlar. Bu şekilde kıkırdağın periferinden olan büyümeye de 'apozisyonel büyüme' adı verilir. Hyalin kıkırdak büyümesinin ilk evrelerinde ve epifiz plaklarının büyümesinde interstisyel büyüme izlenirken, diğer kıkırdak yapılarının büyümesi ve kıkırdak tamiri ise aposizyonel büyüme ile olur.[26,40]

Perikondrium, kıkırdak dokusunu çevreleyen ve gelişmekte olan kıkırdağın çevresindeki mezenkimal hücrelerin fibroblastlara farklılaşmasıyla oluşan bir bağ dokusudur. Eklem kıkırdağı hariç tüm hyalin kıkırdaklarda perikondrium bulunur. Fibroblastlar, fibrositler, multipotansiyel mezenkimal hücreler ve kıkırdağın beslenmesinde önemli olan damarsal yapılar perikondrium tabakasında yer alırlar. Makroskopik olarak incelendiğinde perikondrium iki tabaka olarak algılanır. Bunlardan dışta olanı cerrahi olarak kolayca ayrılan gevşek bir bağ dokusu yapısındadır. İçte olan tabaka ise kıkırdağa benzer beyazımsı parlak görünümdedir ve cerrahi olarak kıkırdaktan ayrılması daha zordur.[9] Mikroskopik olarak incelendiğinde de perikondriumun fibröz ve proliferatif tabakalar olmak üzere, 2 tabakadan meydana geldiği izlenmekle birlikte (şekil 5), daha önce de belirtildiği gibi, bazı yazarlarca proliferatif tabakanın kıkırdağın içerisine uzanan en iç kısmı transisyonel tabaka olarak da tanımlanmıştır.[9,20]



Şekil 5: Perikondrium tabakalarının ışık mikroskopta görünümü. F: fibröz tabaka, CG: kondrojenik tabaka, C: kondrosit. (Hematoksilen eozin boyama, x 270), (Gartner LP ve Hiatt JL. Color Atlas of Histology, 3rd ed., Gartner LP, Hiatt JL (eds.) W.B. Saunders, Philadelphia, s: 70, 2000).

Fibröz perikondrium, horizontal uzanımlı kollajen liflerinden ve seyrek yerleşimli, iğsi şekilli fibrositlerden oluşan gevşek bir bağ dokusu karakterindedir. Polarize ışık altında incelendiğinde liflerin kıkırdak yüzeyine paralel uzanım gösterdikleri izlenir.[9]

Proliferatif tabaka, birkaç hücre sırası kalınlığındadır ve fibröz tabakaya göre daha oval şekilli, geniş saydam sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Kıkırdak ve perikondriumun birbirleri ile iç içe oldukları ve kimi araştırmacılar tarafından transisyonel tabaka olarak da tanımlanan proliferatif tabakanın en derin kısımlarında ise, izojenik gruplar oluşturan kondroid şekilli hücreler izlenir. Proliferatif tabakanın yüzeyel kısımlarına göre, hücre yoğunluğu azalmış, matriksin hematoksilen & eozin boyası ile boyanabilirliği ise artmıştır. Kıkırdak ile, perikondriumun bu derin tabakası arasında morfolojik olarak bir sınır tespit edilemez. Bu nedenle cerrahi olarak bu tabakanın kıkırdaktan ayrılabilmesi zordur. Polarize ışık altında

yapılan incelemelerde kollajen lif yönlenmesinin kıkırdak yüzeyine dik olduğu görülür.[9] Proliferatif tabaka perikondriumun yeni kıkırdak oluşturabilen tabakasıdır ve apozisyonel kıkırdak yapımında rol alır.

KIKIRDAK KAYIPLARI

Vücutta bulunan kıkırdakların doğumsal ya da kazanılmış nedenlerle kayıpları, zedelenmeleri ya da yapılarının dejenere olmaları ve bunların tamirleri günümüzde rekonstrüktif cerrahinin önemli uğraşları arasındadır. En sık kulak, burun ve eklem kıkırdaklarının kayıpları ve zedelenmeleri ile karşılaşılmaktadır. Mason ve ark. tarafından Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda toplam beş yüz bin kıkırdak onarımının yapıldığı rapor edilmiştir.[45]

Kıkırdaklara yönelik girişimler arasında, kulak kıkırdağının doğumsal ya da kazanılmış eksikliklerinin onarılması, dejeneratif değişiklikler sonucunda yıpranan eklem kıkırdaklarının yenilenmesi, burun ve solunum yolu kıkırdaklarında kazanılmış kayıpların yerine konulmaya çalışılmaları sayılabilir. Kazanılmış deformiteler içerisinde en sık olarak, başta diz ve temporomandibular eklemler olmak üzere, eklem kıkırdaklarında oluşan dejenerasyonlara bağlı rekonstrüksiyon gerektiren durumlar klinisyenlerin karşısına çıkarlar. Aslında eklem kıkırdaklarında izlenen bu dejenerasyon yaşlanmaya bağlı ortaya çıkan doğal bir süreç olup, kondrositlerin ölüp matriksin kalsifiye olması ile meydana gelir.[26] Doğumsal olarak en sık ortaya çıkan kıkırdak anomalisi ise, kulak kıkırdağının kısmen ya da tümüyle eksikliği ile kliniğe yansıyan 'mikrotia'dır ve her 6000 doğumda bir görülür.[28] Yine estetik amaçla yapılan burun ve kulak ameliyatlarında da kontur düzeltmek için kıkırdaklara sıkça müdahale

edilmektedir. Tüm bu işlemler esnasında, kıkırdak dokuyu rekonstrükte ederken dikkat edilmesi gerekli en önemli nokta, kıkırdağın oldukça özelleşmiş, elastik ama mekanik strese çok dayanıklı bir doku olduğunun unutulmamasıdır.

Tüm bu farklı nedenler sonuç olarak geride rekonstrükte edilmesi gereken bir kıkırdak bırakmaktadırlar. Rekonstrüktif girişimler ile kıkırdak dokusunu yerine koymaya çalışmaktaki amaç ise, bazen kıkırdağa ait fonksiyonu geri kazanmak (eklem hareketlerini ya da solunum yolunun bütünlüğünü geri getirebilmek gibi), bazen de estetik bütünlüğü geri getirebilmektir (kulak ve burun kıkırdaklarındaki kayıplar gibi). Onarımlarda kıkırdak yerine kullanılması düşünülebilecek biyolojik ya da sentetik doku alternatiflerinin de mutlaka aynı özellikleri yansıtmaları gerekir, ki bunun sağlanması çok güçtür.

KIKIRDAK GREFTLERİ

Kıkırdak dokusunun taklit edilmesindeki güçlükler nedeniyle, kayıplarının yerine konmasında kullanılan başlıca seçenek bireyin kendisinden (otojen) kıkırdak grefti alınması ve uygun şekillendirme yapılarak kullanılması olmuştur.[8] Kıkırdak greftleri bu amaçla uzun zamandan beri kullanılmaktadırlar.[17,48,60] Hatta bazı durumlarda, kıkırdak olmayan bölgelerin rekonstrüksiyonunda dahi heterotopik olarak nakledilen kıkırdak greftleri kullanılabilmektedir. Bu şekilde meme başı ve burun kanadı rekonstrüksiyonunda kullanılmaları yaygındır.[6]

Kıkırdak dokusunun greft olarak kullanımında bazı avantajlar vardır. Biyolojik geçimliliği olan, strese dayanıklı, elastik ve şeklini koruyabilen bir doku ile onarım yapılmış olur. Ayrıca kolay şekil verilebilen bir doku olduğundan alıcı yatağa en uygun hale getirilebilir. Düşük metabolik aktivitesi sayesinde kıkırdak dokusunun hipoksiye dayanıklılığı diğer dokulardan fazladır. Kondrositlerin somatik ölüm sonrasında 48 saat canlılıklarını koruyabildikleri, böylelikle de kıkırdak greftlerinin vasküler bağlantıları olmadan alınıp nakledilmelerinde iskemik problemlerle karşılaşılmadığı bilinmektedir.[8,87] Literatürde otojen kıkırdak grefti uygulamaları sonucunda genç bireylerde, canlılığını koruyan kondrositlerin kıkırdağın büyümesini de sağladıkları bildirilmiştir.[17] Yine perikondrium tabakasının kıkırdağın üzerinde bırakılması konusunda çeşitli görüşler öne sürülmüştür. Perikondriumun varlığında rejenerasyon ve büyüme potansiyelinin optimalize olacağını gösteren çalışmalar olduğu gibi,[16] perikondriumun kıkırdak üzerinde bırakılmasının kıkırdak greftinin büyüme potansiyeli üzerinde ek bir fayda sağlamadığına işaret eden çalışmalar da yayınlanmıştır.[19]

Ancak, belirli estetik ve fonksiyonel morbiditeye yol açmadan, vücutta kıkırdak grefti alınabilecek çok fazla yer yoktur. En sık olarak kostal kıkırdaklar, kulak konka kıkırdağı ve burun septum kıkırdağı verici olarak kullanılır. Bu kıkırdakların alınmaları genelde teknik olarak kolay olsa da bazı verici alan morbiditeleri ortaya çıkabilir. Özellikle büyük kıkırdak defektlerinin onarımı gereken durumlarda otojen kıkırdak greftleri yeterli olamamaktadır. Uygunsuz yerden ya da aşırı büyük olarak alınan bir konka kıkırdağı kulak kepçesinde estetik bozukluğa neden olabilir. Yine burun septum kıkırdağının, destek fonksiyonunu bozacak şekilde alınması, hastada semer burun deformitesinin oluşmasına ya da nefes alma fonksiyonunda bozulmaya yol açabilir. Kosta kıkırdağının alınması aşamasında plevra zarının zedelenme riski ise pnömotoraks gibi daha ciddi morbiditelere yol açabilmektedir. Kıkırdak

greftlerinin bir diğer dezavantajı ise, bütün olarak uygulandıklarında, zamanla kontrol dışı bir şekilde kendi iç fiziksel ve biyomekanik özelliklerine bağlı olarak, şekillerinde bozulmaların olabilmesi, orijinal konfigürasyonlarına geri dönme eğiliminde olmalarıdır.[27] Bu problemin üstesinden gelebilmek için literatürde kıkırdak greftlerinin ezilerek ya da çok ufak parçalara kıyılarak kullanılmaları da bazı araştırmacılarca desteklenmiştir.[10,87]

Otojen kıkırdak greftlerine bir alternatif, taze ya da işlenerek saklanmış allojenik kıkırdak greftlerinin kullanımıdır. Allojenik kıkırdak kullanım fikri, kıkırdağın antijenitesinin düşük olduğu ve allogreftlerin rezorbsiyona uğramadan otogreftler gibi tolere edilebileceklerini ileri süren çalışmalarla heyecan uyandırmıştır. Taze kıkırdak allogreftlerinin en önemli dezavantajı enfeksiyon taşıma riskleri iken, işlenerek saklanmış ve ticari formları olan kıkırdak greftlerinin dezavantajları ise, maliyetlerinin yüksek olması ve yaşayan hücre içermemeleridir.[42,44] Her ne kadar kondrositler matriks içerisinde hapsedilmiş olmaları itibariyle immunolojik açıdan korunaklı olsalar da kıkırdak allogreftlerinde zaman içinde bir hacim kaybının izlendiği bilinmektedir. Bunun immunolojik bir redde mi yoksa yaşayan hücrelerin olmayışına mı bağlı olduğu ise tartışmalıdır. Bu gibi nedenlerden ötürü kıkırdak allogreftleri de kıkırdak rekonstrüksiyonlarında ideal seçenek olamamaktadırlar.

Günümüzde hızla gelişen doku mühendisliği ve gen tedavisi sayesinde değişik implant materyalleri de rekonstrüktif cerrahinin kullanım alanına girmişlerdir. Kıkırdak hücrelerinin izole edilip çoğaltılarak ya da mezenkimal kök hücrelerinin kıkırdak yapacak şekilde farklılaşmaları sağlanarak, polimer yapılı biyomateryaller aracılığıyla nakledilmeleri ve alıcıda kıkırdak oluşturmaları ile ilgili çalışmalar mevcuttur.[45,59,61,69] Doğal olarak bu tür bir teknolojiyi gerektiren rekonstrüktif işlemlerin maliyeti de oldukça yüksektir.

PERİKONDRİUM GREFTLERİ

Perikondrium dokusunun kondrojenik potansiyeli ilk olarak Lester tarafından, pektus ekskavatum deformitesi nedeniyle subperikondrial kostal kıkırdak rezeksiyonu yapılan hastalarda deformitelerin bir süre sonra tekrar oluşması üzerine fark edilmiş ve yayınlanmıştır.[43] Takip eden 10 yılı aşkın süreçte, perikondriumun kıkırdak oluşturma potansiyelinin klinik olarak kullanımı olabileceği düşünülmemiştir. Ancak 1972'de Skoog ve ark.[71] tarafından perikondrial flepler ile kaplanan kıkırdak defektlerinde 2 haftada immatür kıkırdak geliştiğinin gösterilmesi ile bu konuda birbirini izleyen çalışmalar hız kazanmıştır.

1975'te, yine Skoog ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada perikondrial fleplerin altında oluşturulan kıkırdak defektlerinin etrafına teflon halka yerleştirilmesiyle neokondrogenezin komşu kıkırdaktan değil, tümüyle perikondriumdan olduğu gösterilmiştir.[72] Yine aynı yıl, aynı ekip tarafından güreşçi kulağı deformitesinin patogenezinde de kulak kıkırdağından ayrılan perikondrium tabakasının altına biriken hematomun olduğu, perikondriumdan hematomun içerisine ilerleyip kondroblastlara farklılaşan mezenkimal hücreler tarafından yeni kıkırdak dokusunun yapıldığı açıklanmıştır.[54] Kanın, yeni gelişecek kıkırdağı yapacak olan hücrelerin mobilizasyonu için bir ortam oluşturmasının yanı sıra kondrogenez için gereken büyüme faktörlerini de sağladığı bildirilmiştir.[56,74]

Perikondrium fleplerinin yeni kıkırdak oluşturma kapasitelerinin ortaya konulmasından sonra, serbest olarak transfer edilen perikondrium greftlerinin de neokondrojenik kapasitelerinin olduğu gösterilmiş, hem vasküler yapısı korunarak hem de serbest olarak nakledilen perikondriumdan rejenere olan kıkırdağın normal kıkırdak ile aynı biyosentetik kapasiteye

sahip olduğu bildirilmiştir.[56,75,85] Hartig ve ark. tarafından daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda ise, kulak perikondriumunun vaskülarize ya da serbest olarak transfer edilmesi ile oluşacak yeni kıkırdak dokusunun alıcı bölgeye bağlı farklılık gösterebileceği rapor edilmiş, transferler subkutan dokuya yapıldığında perikondriumun vaskülaritesinin korunmasının önemsiz olduğu, fakat bu transferler hava yolu gibi steril olmayan ortamlara yapıldığında ise vaskülarize perikondrial fleplerin serbest greftlere göre kantitatif olarak daha fazla kıkırdak oluşturdukları gösterilmiştir.[32,33]

Literatürde, deneysel ya da klinik olarak uygulanan perikondrium greft ve flepleri ile yapılan kulak,[58] eklem,[73] trakea[55,75] rekonstrüksiyonları sonucunda başarılı sonuç bildiren çalışmalar mevcuttur. Brent ve ark. ise, kompozit olarak perikondro-kutan greft uygulamaları ile kulak, burun ve alt göz kapağının deri ve kıkırdağı birlikte içeren defektlerinde klinik başarılarını rapor etmişlerdir.[5] Bir diğer çalışmada ise, Gültan ve ark. büyüme çağındaki hayvanlarda perikondrium greftlerinin epifiz plağı yerine nakledildiklerinde kemik büyümesini sağlayabilecek düzeyde fonksiyon gösterdikleri rapor etmişlerdir.[29]

Rekonstrüktif girişimlerin bir ileri basamağı olarak, oluşturulan kıkırdak dokusunun alıcı yatakta duyulan ihtiyaca tam yanıt verebilmesi için prefabrike edilerek şekillendirilmesi amaçlanmış, bunun üzerine silikon kalıplar ya da eriyebilen poliglikolik asit kalıplar etrafına sarılarak perikondrium greftleri hazırlanıp, bunlardan trakea rekonstrüksiyonunda kullanılabilecek kıkırdak halkaları oluşturulmuştur.[41,66-68]

Perikondrium ile birlikte nakledilecek bazı biyolojik ya da sentetik materyaller ile, oluşacak kıkırdağın miktarının ve kalitesinin değiştirebileceği fikrinden yola çıkarak perikondrium

greftleri 'demineralize kemik matriksi'[78] ya da 'kollajen sünger'[46] ile birlikte nakledilmişler ve kondrogenezde olumlu sonuçlar alınmıştır.

Bildirilmiş olan tüm bu başarılı sonuçlara rağmen, perikondrium greftlerinin klinik kullanımı beklenilen ölçüde yaygınlaşmamıştır. Perikondrium greft uygulamalarının önemli bir dezavantajı, ne oranda ve ne kadar kıkırdak gelişeceğinin kestirilememesidir.[18,83] Gerçekten de benzer deney gruplarında benzer şartlar altında yapılan çalışmalar ile her zaman aynı sonuçların alınması mümkün olamamıştır. Perikondrium greftinin alınma yeterliliği, greftin hazırlanması, bireyin yaşı, alıcı yatağın vaskülaritesi ya da yük stresi altında oluşu gibi faktörler greftin kondrojenik potansiyeli üzerine etkilidir.[18] Gösterilmiştir ki, eklem mesafesinde bulunan ve kondrojenik büyüme faktörlerini içeren eklem sıvısı sayesinde bu ortama uygulanan perikondrium greftleri daha yüksek miktarda ve güvenilirlikte kıkırdak oluşturmaktadırlar.[74] Yine, tiroksin, testosteron ve somatotropin gibi anabolik hormonların ve epidermal büyüme faktörü, platelet kökenli büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü ve bunları içeren serumun kondrogenez üzerinde bilinen olumlu etkileri mevcuttur.[26,74]

Perikondrium dokusunun kendi histolojik yapısı nedeniyle kondrogenez üzerinde farklı etkileri olabileceği öne sürülmüş, dış fibröz tabakanın grefte dahil edildiği durumlarda kondrogenezin bu tabakadan gelişen fibrozis nedeniyle baskılandığı deneysel olarak da gösterilmiştir.[18] Aynı şekilde, perikondriumun içte bulunan doğurgan tabakası greftin alınması aşamasında kıkırdakta bırakılıp, grefte dahil edilemezse, yine bu perikondrium greftinin de kıkırdak oluşturmada yetersiz kaldığı bilinmektedir.[9,18]

PERİOST GREFTLERİ

Periost, eklem mesafeleri dışında kemiklerin dış yüzlerini kaplayan mezodermal kökenli bir dokudur. Dış tabakası yoğun fibroblast benzeri hücreler ve kollajen liflerinden, kambiyum tabakası da denilen iç katmanı ise osteoprogenitör hücreler olan preosteoblast ve fonksiyonel osteoblastlardan meydana gelir.[26,86] Bu histolojik özellikleri doğrultusunda periost, normal kemik oluşum ve büyümesi, kırık sonrası osteogenezi ve periost transplant osteogenezi fonksiyonlarına sahiptir.[86]

Serbest periostun osteojenik kapasiteye sahip olduğu ilk olarak Ollier tarafından 1867'de vurgulanmıştır.[65,76] Skoog ve ark.[70] maksiller periost fleplerini alveolar yarıkların primer onarımında, Ritsala ve ark.[64] ise tibial periost greftlerini primer damak onarımında başarı ile kullanmışlar ve yeni kemik dokusunun oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Endokondral kemikleşmenin kıkırdak model üzerinden olması (Şekil 6) ve iyileşen kırık kemiklerde kallus dokusunun öncelikle kıkırdak yapısında olup, bunun da periost tarafından yapılması, kondroprogenitör ve osteoprogenitör hücrelerin ortak bir kök hücreden geliştiklerinin düşünülmesini sağlamıştır.[35] Olgun periostun kondroblast progenitörleri içermesinin nedeni periostun perikondriumdan türemesi ile açıklanmış, bu şekilde hem uzun kemiklere hem de membranöz kemiklere ait periostun kondrogenez potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir.[23,31,82]

Periost greftlerinin değişik ortam şartları altında kemik ya da kıkırdak dokusu oluşturma yönünde davranabilecekleri düşüncesiyle Poussa ve ark. tarafından periost greftleri kostal

kıkırdak üzerine, kulak kıkırdağı üzerine ve eklem mesafesinde snovyal sıvı içine nakledilmişlerdir. Snovya içerisine nakledilen greftlerde hiç kemik oluşmadan yalnızca kıkırdak dokusunun geliştiği gözlemlenmiştir.[63] Yine, periostun perikondriuma göre daha kolay ve bol miktarda elde edilebilmesi göz önünde tutularak, periost ve perikondrium greftlerinin eklem mesafesine nakledilmeleri ile oluşan kıkırdağın kalitesi arasında fark olup olmadığı araştırılmış, ve aralarında anlamlı fark bulunamamıştır.[13]



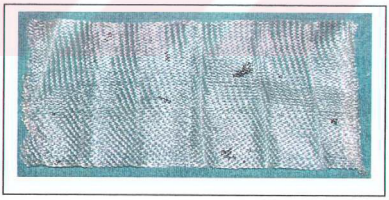
Şekil 6: Işık mikroskobunda endokondral kemikleşmenin görünümü. c: kıkırdak, b: kemik, oklar: rezorbe olan kalsifiye kıkırdak kemik kompleksi (Hematoksilen ve eozin boyama, x 14) (Gartner LP ve Hiatt JL. Color Textbook of Histology, 2nd ed., Gartner LP, Hiatt JL (eds.) W.B. Saunders, Philadelphia, s: 149, 2001).

Bu ve benzeri çalışmalar ile, kıkırdak oluşturabilme kapasitesi ispatlanan periost dokusu, klinik olarak da eklem kıkırdağı defektlerinin rekonstrüksiyonlarında kullanılmaya başlanmış ve halen de kullanılmaktadır.[12,34,49] Ancak, perikondrium gibi periosttan da oluşacak olan kıkırdak miktarı ve kalitesi net olarak tahmin edilebilir değildir. Bu değişkenlik in vivo deneysel çalışmalarla gösterildiği gibi in vitro organ kültür çalışmaları ile de

gösterilmiştir.[51,52] Bu değişkenliğin sebepleri arasında da, deneğin ya da bireyin yaşı,[15] donor bölge,[25] alıcı yatağın kanlanma durumu, lokal oksijen basıncı,[39,51] greftin teknik olarak alınma yeterliliği[53] ve ortamda büyüme faktörlerinin varlığı[47] sayılabilir. Periost greftleri ancak çevresel faktörler kondrogenez açısından optimale ulaşınca kıkırdak oluşturabilmektedirler, ki bu optimal koşullar da ortamın parsiyel oksijen basıncının %12-15 arasında olması,[51] deneğin yaşının genç olması,[15] kas dokusu gibi kanlanmanın iyi olması,[39] ve ortamda TGF-beta 1 gibi faktörlerin bulunması ile sağlanabilir.[47]

OKSİDE REJENERE SELÜLOZ

Okside rejenere selüloz, ticari adıyla Surgicel® (©Ethicon Ltd., Johnson and Johnson, Slough, UK) file yapısında sentetik bir materyal olup, klinikte yaygın bir şekilde lokal hemostatik bir ajan olarak kullanılmaktadır (Şekil 7).



Şekil 7: Okside rejenere selülozun (Surgicel) file şeklindeki yapısı.

Okside rejenere selüloz biyolojik geçimliliği yüksek ve allerjen olmayan bir materyaldir. İçerdiği yapılar, implantasyon sahasından 18 saatte eriyerek kaybolan bir komponent olan poliüronik asit ve geride kalan fibröz kalıntıdır; ki bu fibröz kalıntının 48 saat içerisinde

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ortama hakim olan makrofajlarca fagosite edildiği fakat işlenemeden tekrar hücre dışına atıldığı ve ortamda kaldığı rapor edilmiştir.[62]

1970 senesinde, Thilander ve Stenström deneysel olarak oluşturulan kemik yarıklarında okside rejenere selülozun kemik gelişimini uyardığını göstermişlerdir.[80] Maksilla yarıklarında periost flepleri altına yerleştirilerek kemik gelişimini arttırmak amacıyla klinik kullanımı daha sonraki yıllarda da sürmüş ve bu tekniği kullanan yazarlar tarafından tatminkar uzun süreli sonuçlar da rapor edilmiştir.[70,81] Son yıllarda daha kontrollü deneysel çalışmalarda da okside rejenere selüloz kullanımının kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkilerine ait yayınlar mevcuttur.[24,79]

Yılmaz ve ark. ise, okside rejenere selüloza sarılmış kıkırdak greftlerinin akıbetini incelemişler ve sarılı olduklarında, greftlerin yaşayabilirliğinin değişmediğini fakat yeni kıkırdak rejenerasyon potansiyellerinin azaldığını rapor etmişlerdir.[87]

Buraya kadar özetlenen, kıkırdak histogenezi, kıkırdak greftleri, perikondrium greftleri, periost greftleri ve Surgicel ile ilgili bilgiler ışığında; bu çalışmada, perikondrium ve periost greftlerinin doğurgan yüzeyleri içte kalacak şekilde katlanıp kapalı cep haline getirildikten sonra, kas fasyası altına nakledilmeleri ile ortaya koyacakları kondrogenez potansiyelleri ve bu potansiyel üzerine Surgicel'in olası etkilerinin neler olacağının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasının etik kurallara uygunluğu, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Tıbbi / Cerrahi Araştırma Ünitesi Etik Kurulu tarafından, DHE 02-05 sayılı karar ile onaylanmıştır. Çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Tıbbi / Cerrahi Araştırma Ünitesi Cerrahi Araştırma Laboratuarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 22 adet, 3 aylık erkek Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanılmıştır. Hayvanların standart yemlenmesi ve su ihtiyaçları düzenli olarak karşılanmıştır. Cerrahi işlemler aynı cerrah tarafından, %2'lik ksilazin hidroklorid (Rompun 4mg/kg) ve %10'luk ketamin hidroklorid (Ketalar 50 mg/kg) intramuskuler anestezisi uygulanarak, steril şartlar altında ve gerekli aşamalarda operasyon mikroskobu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm işlemlerde aynı mikroskop (Zeiss, OPMI 9FC) kullanılmıştır. Tavşanlar ameliyat sonrasında, Deney Hayvanları Bakım Ünitesinde kendilerine ayrılmış olan odaya alınmış ve ikili gruplar halinde bölmelerine konulmuştur. Ölüm nedeniyle çalışma dışı kalan tavşanların yerine aynı özellikleri taşıyan yeni tavşanlar konularak deney gruplarının sayıları korunmuştur.

ÇALIŞMA GRUPLARI

Bu çalışmada 22 adet tavşan kullanıldı. Grup 1 ve 2 işlemler aynı 11 tavşan üzerinde Grup 3 ve 4 işlemlerse diğer 11 tavşan üzerinde gerçekleştirildi.

GRUP 1: (n=11) Serbest kulak perikondrium grefti kullanılan grup.

GRUP 2: (n=11) Serbest kranyum periost grefti kullanılan grup.

GRUP 3: (n=11) Serbest kulak perikondrium grefti içerisinde okside selüloz (Surgicel®) kullanılan grup.

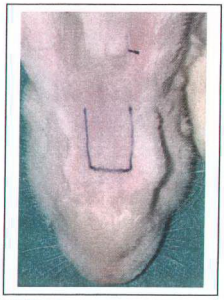
GRUP 4: (n=11) Serbest kranyum periost grefti içerisinde okside selüloz (Surgicel®) kullanılan grup.

CERRAHİ TEKNİK

Denekler %2'lik ksilazin hidroklorid (Rompun) 4mg/kg İM ve %10'luk ketamin hidroklorid (Ketalar) 50 mg/kg İM uygulanarak uyutuldu. Ameliyat edilecek olan bölgeler, sağ kulakta dış yüz, kafada frontal bölge ve iki taraflı olarak karın, tıraş edildi. Tavşanların altına steril cerrahi örtü örtülüp, önce yüz üstü pozisyonda yatırılıp ön ve arka ayakları tespit edildi ve povidon iodine solüsyon ile cerrahi alanların temizliği yapıldı.

Kranyumun frontal bölgesinde tabanı arkaya bakan, 'U' şeklinde insizyon (Şekil 8) ile 2 x 3 cm deri flebi kaldırıldı. Kranyum periostu, asetat kağıdından hazırlanan 1.4 x 2.4 cm'lik kalıp kullanılarak, 15 no.lu bisturi yardımıyla çizildikten sonra, periost elevatörü yardımıyla kaldırıldı (Şekil 9). Sonuçta 1.4 x 2.4 cm'lik periost grefti alınıp serum fizyolojik ile nemlendirilmiş olan steril gazlı bez içerisine konuldu (Şekil 10). Kesiler tek tek 4/0 ipek sütürler ile onarıldı.

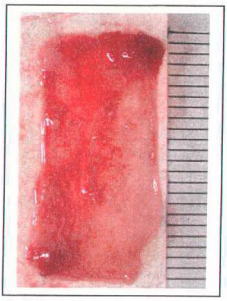
Sağ kulak dış yüzüne, deri seviyesinde, ters T şeklinde 2 x 3 cm insizyon (Şekil 11) yapılıp deri flepleri yanlara ekarte edildi. Alttaki perikondrium dokusuna ulaşılıp, yine 1.4 x 2.4 cm asetat kalıp kullanılarak bisturi ile perikondrium çizildi. Perikondrium elevatörü vasıtasıyla alınan perikondrium greftinin diseksiyonu, alttaki kıkırdağa sıkı bir şekilde yapışan doğurgan tabakayı da dahil edebilmek için çok dikkatli ve titiz şekilde yapıldı (Şekil 12). Elde edilen 1.4 x 2.4 cm boyutlu perikondrium grefti de serum fizyolojik ile nemlendirilmiş steril gazlı bez içine konuldu (Şekil 13). Kesiler tek tek 4/0 ipek dikişler ile onarıldı.



Şekil 8



Şekil 9



Şekil 10

Şekil 8: Frontal kemik üzerinde dizayn edilen 'U' insizyon.

Şekil 9: Frontal kemik üzerinden kaldırılmakta olan periost grefti.

Şekil 10: Alınan1.4 x 2.4 cm boyutlu periost grefti.



Şekil 11



Şekil 12



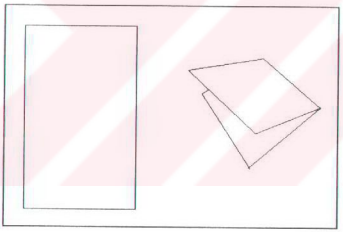
Şekil 13

Şekil 11: Kulak dış yüzünde dizayn edilen 'ters T' insizyon.

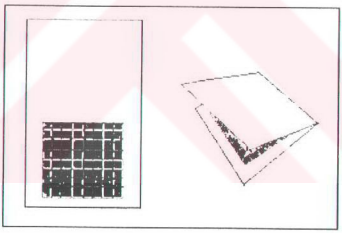
Şekil 12: Kulak dış yüzünden kaldırılmakta olan perikondrium grefti.

Şekil 13: Alınan 1.4 x 2.4 cm boyutlu perikondrium grefti

Grup 1 ve Grup 2'yi oluşturan 11 tavşandan elde edilen perikondrium ve periost greftleri ek bir işlem yapılmadan, mikroskop büyütmesi altında, doğurgan tabakaları içeride kalacak ve kısa kenarlar üst üste gelecek tarzda, kendi üzerlerine katlandı (Şekil 14). Sonrasında, tüm greftlerde serbest kenarlar 2'şer mm pay ile, 7/0 prolen sütürler kullanılmak suretiyle uzunlukları boyunca devamlı dikişler ile dikilip kapalı cepler oluşturuldu. Grup 3 ve Grup 4'ü oluşturan diğer 11 tavşanda ise perikondrium ve periost greftleri aynı şekilde katlanmadan önce, içlerine 0.8 x 0.8 cm okside selüloz tek kat halinde konuldu (Şekil 15,16). Sonrasında yine, tüm greftlerde serbest kenarlar 2'şer mm pay ile, 7/0 prolen sütürler kullanılmak suretiyle uzunlukları boyunca devamlı dikişler ile dikilip kapalı cepler oluşturuldu. Sonuçta tüm gruplarda oluşturulan ceplerin, dikiş payı olarak bırakılan kısımları sayılmazsa, boyutları 1 x 1 cm oldu (Şekil 17).



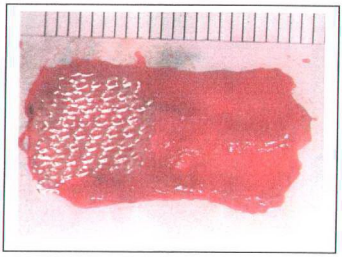
Şekil 14



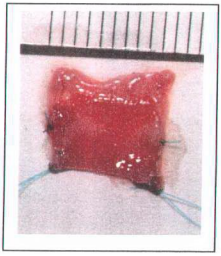
Şekil 15

Şekil 14: 1.4 x 2.4 cm boyutlu geftlerin doğurgan tabakaları içte kalacak ve kısa kenarlar üst üste gelecek şekilde katlanmalarının şematik çizimi.

Şekil 15: 1.4 x 2.4 cm boyutlu geftlerin, içlerine 0.8 x 0.8 cm ebatlı okside rejenere selüloz konulduktan sonra doğurgan tabakaları içte kalacak ve kısa kenarlar üst üste gelecek şekilde katlanmalarının şematik çizimi.



Şekil 16

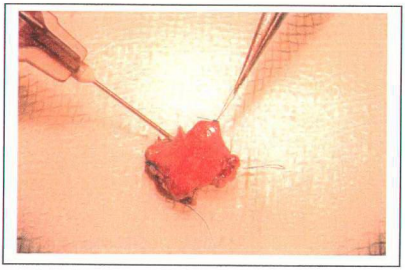


Şekil 17

Şekil 16: İçine okside rejenere selüloz konularak hazırlanan greft.

Şekil 17: Kısa kenarlar üst üste gelecek şekilde katlandıktan sonra serbest kenarların 2'şer mm dikiş payı bırakılarak dikilmesi ile oluşturulan 1 x 1 cm boyutlu greft.

Tüm gruplarda tavşanların kulak venlerinden, 26G iğneli enjektör kullanılarak, her tavşan başına 0.4 cc kan alındı. Bu kan pıhtılaşmadan, oluşturulmuş olan ceplerin içerisine, her cebe 0.2 cc olacak şekilde enjekte edildi (Şekil 18).



Şekil 18: Oluşturulan kapalı cebin içine 26 G iğne ile otolog kan enjeksiyonu.

Sonrasında hayvanlar sırt üstü çevrilip tekrar ameliyat masasına tespit edilip karın bölgeleri povidon iodine ile temizlendi. Karın üst kadranlarında orta hattın 2 cm lateraline, her iki tarafta 2'şer cm vertikal kesiler yapılıp, deri ve panniculus carnosus dokuları geçilerek, kas fasyasına ulaşıldı. Fasyalar insize edilip künt diseksiyon ile kas üzeri planda greftlerin girebileceği kadar boşluklar iki taraflı olarak hazırlandı. Grup 1 ve 2'yi meydana getiren 11 tavşanda, greftler hazırlanan bu boşluklara sağa perikondrium, sola periost olacak şeklide yerleştirilirken, Grup 3 ve 4'ü oluşturan diğer 11 tavşanda da bu kez içlerinde okside selüloz bulunan perikondrium ve periost greftleri, sırasıyla karnın sağ ve sol taraflarına yerleştirildi. Kayma olmaması için kas dokusuna birer adet 7/0 prolen dikiş ile greftler tespit edildi. Greftlerin üzerine baskı yapmaması için kas fasyası onarılmadı. Panniculus carnosus ve deri tek tabaka olarak, devamlı 4/0 ipek dikişler ile kapatıldı.

Yapılan cerrahi işlemleri özetleyecek olursak:

- **Grup 1**

1.4 x 2.4 cm ebatlı kulak perikondrium greftleri alınıp, dikişlerle 1 x 1 cm kapalı cepler oluşturulup, içlerine 0.2 cc otolog kan enjekte edildikten sonra greftler tavşanların karınlarında sağ yarıya, kas fasyası altına nakledildi.

- **Grup 2**

1.4 x 2.4 cm ebatlı kranyum periost greftleri alınıp, dikişlerle 1 x 1 cm kapalı cepler oluşturulup, içlerine 0.2 cc otolog kan enjekte edildikten sonra greftler tavşanların karınlarında sol yarıya, kas fasyası altına nakledildi.

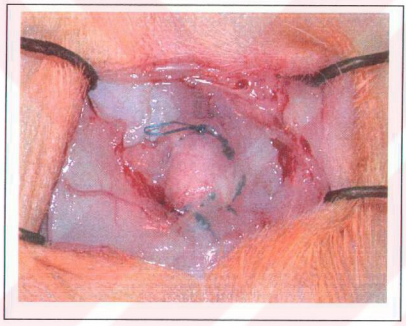
- **Grup 3**

1.4 x 2.4 cm ebatlı kulak perikondrium greftleri alınıp, her birisi kendi üzerine katlanıp dikişlerle kapalı cep oluşturulmadan önce içlerine 0.8 x 0.8 cm okside selüloz konuldu. Sonrasında 1 x 1 cm kapalı cepler oluşturulup içlerine 0.2'şer cc otolog kan enjekte edildi ve greftler tavşanların karınlarında sağ yarıya, kas fasyası altına nakledildi.

- **Grup 4**

1.4 x 2.4 cm ebatlı kranyum periost greftleri alınıp, her birisi kendi üzerine katlanıp dikişlerle kapalı cep oluşturulmadan önce içlerine 0.8 x 0.8 cm okside selüloz konuldu. Sonrasında 1 x 1 cm kapalı cepler oluşturulup içlerine 0.2'şer cc otolog kan enjekte edildi ve greftler tavşanların karınlarında sol yarıya, kas fasyası altına nakledildi.

Tüm denekler, ameliyat sonrası 6 hafta süreyle eşit koşullarda Deney Hayvanları Bakım Ünitesinde takip edildiler. Altıncı haftasını dolduran denekler tekrar, %2'lik ksilazin hidroklorid (Rompun) 4mg/kg İM ve %10'luk ketamin hidroklorid (Ketalar) 50 mg/kg İM uygulanarak uyutuldu. Takiben karın bölgeleri tıraş edilip, daha önceki insizyon skarlarının 1'er cm lateralinden 2'şer cm vertikal insizyon yapılarak, implante edilmiş olan dokular çevrelerinde 2-3 mm yumuşak doku bırakılarak çıkartıldı (Şekil 19, 20). Çevrelerindeki yumuşak doku operasyon mikroskobu altında diseke edilip temizlendi. Bu esnada dokuların kurumaması için üzerlerine serum fizyolojik damlatıldı.



Şekil 19



Şekil 20

Şekil 19: 6 hafta sonunda, nakledildiği kas fasyası altında perikondrium greftinin görünümü.

Şekil 20: 6 hafta sonunda, nakledildiği kas fasyası altında periost greftinin görünümü.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

A. GENEL DEĞERLENDİRME

Çalışmaya dahil edilen tavşanların deney süresince genel sağlık durumları ve yara yerlerinde gözlenen değişiklikler kaydedildi.

B. FİZİKSEL DEĞERLENDİRME (HACİM ve AĞIRLIK)

6 hafta sonra, implante edildikleri karın kas fasyası altı plandan çıkartılan greftlerin, hemen erken dönemde, su taşırma yöntemi ile hacimleri ölçüldü. Ölçek olarak üzerinde 1/100 cc işaretli olan insülin enjektörü, sıvı olarak serum fizyolojik kullanıldı.

Hacim ölçümü sonrasında % 10'luk formol solüsyonuna atılan greftlerin ağırlıkları, Gazi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda, 1/1000 gr'a hassas terazi (Precisa 205A SCS) kullanılarak, önce ıslaklıkları emici kağıt ile alındıktan sonra, ölçüldü.

C. HİSTOLOJİK ve HİSTOMORFOMETRİK DEĞERLENDİRME

Histolojik Değerlendirme

%10'luk formol içerisinde saklanan perikondrium ve periost greftleri parafin bloklara gömüldü. Tüm bloklardan 20 mikron kalınlığında seri kesitler alınarak dokular tamamıyla örneklendi. Kesitler hematoksilen ve eozin boyası ile boyanıp ışık mikroskobunda (Olympus BH2) incelendi.

Birbirinden bağımsız olarak, iki ayrı histolog tarafından, her greft için tüm kesitler değerlendirilerek yapılan incelemelerde, greftlerde kıkırdak gelişimi araştırıldı ve derecelendirme yapıldı. Hiç kıkırdak gelişimi izlenmeyip sadece bağ dokusu, yağ dokusu ve kas elemanlarının izlendiği örnekler 0, ham kıkırdak gelişimi izlenen örnekler 1, olgun kıkırdak gelişimi izlenen örnekler ise 2 olarak derecelendirildi (Tablo I). Olgunluk ve hamlık ayrımında, yeni gelişen kıkırdak dokusunda belirgin izogenik gruplaşma gösteren kondrositlerin varlığı, kondrosit kümelerinin etrafında kapsül oluşumu ve kıkırdak ara maddesinin bazofilik olarak izlenmesi olgunlaşma lehine kriter olarak değerlendirildi.[18,66]

Tablo I: Perikondrium ve periost greftlerinde gelişen kıkırdak dokusunun mevcudiyeti ve olgunluğuna göre yapılan derecelendirme işlemi.

	Dereceler
Kıkırdak Yok	0
Olgun Kıkırdak	1
Ham Kıkırdak	2

Histomorfometrik Değerlendirme

Histolojik değerlendirmeler sonucunda matür kıkırdak oluşumu izlenen greftlerde, oluşan matür kıkırdağın hacmi histomorfometrik olarak ölçüldü. Bu işlem için 20 mikronluk seri kesitler kullanıldı. Her grefte ait kesitlerin x 40 mikroskop büyütmesi altında digital fotoğrafları (Nikon Coolpix 995) çekilip bilgisayara aktarıldı. Bilgisayarda UTHSCSA Image Tool Version 3.00 (The University of Texas Health Science Center, San Antonio) programı kullanılarak önce her greft için 60'ar mikron aralıklarla, yani üç seri kesitte bir olacak şekilde, oluşmuş olan olgun kıkırdak dokusunun yüzey alanları hesaplandı.

Daha sonra greft başına elde edilen toplam kıkırdak yüzey alanı ölçümleri Cavalieri Prensibi[11] ile formülize edilerek oluşan toplam olgun kıkırdak doku hacmini bulmak için kullanıldı (Şekil 21). Bunun için her bir grefte ait 60'ar mikron eşit aralıklı kesitlerde ölçülen kıkırdak yüzey alanlarının toplamı, yine 60 mikron değeri ile çarpıldı. Bu şekilde bulunan değerler, su taşırma yöntemi ile elde edilen hacim değerleri ile karşılaştırıldı.

$$V_{Ref} = \Sigma a_i \cdot t$$

Şekil 21: Cisimlerin toplam hacimlerini hesaplamakta kullanılan Cavalieri Prensibi. V_{Ref} ilgilenilen dokunun toplam hacmini, a_i i numaralı kesitteki doku izdüşümünün yüzey alanını, t ise ortalama kesit kalınlığını ifade etmektedir.

D. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel işlemler bilgisayar ortamında 'SPSS 10.0 For Windows' programı kullanılarak yapıldı.

Gruplar arası farklılıkların istatistiksel değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann- Whitney U testleri kullanıldı. Kruskal-Wallis varyans analizi ile anlamlı farklılık saptanan durumlarda, bu farkı meydana getiren grubun tayini için ikişerli olarak gruplara Mann-Whitney U tesit uygulandı. Bu şekilde, değişik greft uygulamaları sonucu oluşan dokular arası farklılıklar ağırlık, hacim ve histolojik derecelendirme parametreleri bazında ayrı ayrı değerlendirildi.

Ayrıca su taşırma yöntemi ile hesaplanan hacim değerleri ile matür kıkırdak dokusunun histomorfometrik yöntemlerle hesaplanan hacim değerleri arasında korelasyon olup olmadığını anlamak için Pearson korelasyon analizi yapıldı ve korelasyon katsayısı bulunup önemliliği değerlendirildi.

BULGULAR

A. GENEL DEĞERLENDİRME BULGULARI

Ameliyat edilen tavşanlardan 4 tanesi ameliyat sonrası dönemde kaybedildi. Bu tavşanların yerlerine yenileri kesilerek gruplardaki denek sayıları korundu.

Tavşanlarda ameliyata ait olabilecek yara yeri enfeksiyonu, deri nekrozu, kıl dökülmesi ya da diğer komplikasyonlar izlenmedi. Nakledilen greftlerden protrüde olan ya da yer değiştiren olmadı.

B. FİZİKSEL DEĞERLENDİRME BULGULARI

Hacim Ölçümleri

Altıncı hafta sonunda, su taşırma yöntemi ile yapılan ölçümlerle, Grup 1, 2, 3 ve 4'te yer alan sırasıyla, perikondrium, periost, perikondrium-Surgicel ve periost–Surgicel greftlerinden oluşan dokuların hacimleri hesaplandı (Tablo II). Bu ölçümlere göre Grup 1 perikondrium greftlerinden oluşan dokuların hacim ortalaması 7,27 x 10^{-2} ml (SD = 2.61 x 10^{-2}), Grup 2 periost greftlerinden oluşan dokuların hacim ortalaması ise 6.09 x 10^{-2} ml (SD = 3.27 x 10^{-2}) idi. Perikondrium–Surgicel ve periost-Surgicel greftlerinden oluşan dokuların meydana getirdiği 3 ve 4 numaralı gruplara ait hacim ölçümlerinin ortalamaları ise sırasıyla 6.55 x 10^{-2} ml (SD = 1.86 x 10^{-2}) ve 5.18 x 10^{-2} ml (SD = 1.60 x 10^{-2}) idi. Tüm gruplara ait toplam hacim ortalaması ise 6.27 x 10^{-2} ml (SD = 2,46 x 10^{-2}) olarak hesaplandı (Tablo III), (Şekil 22).

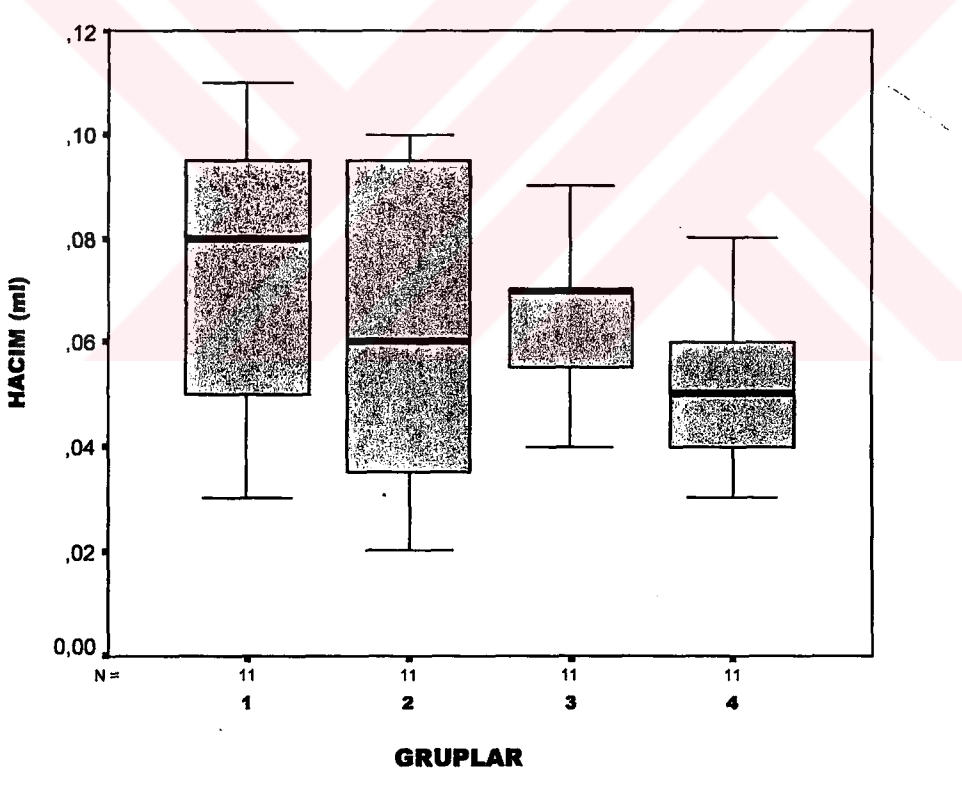
Bu 4 gruba ait dokuların hacimleri toplu olarak karşılaştırıldıklarında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0.05$). Bunun üzerine ek olarak gruplar arası ikili karşılaştırmalar yapılmadı.

Tablo II: Hacimler su taşırma yöntemi ile ölçülmüş ve ml cinsinden ifade edilmişlerdir.
Pk: perikondrium, Po: periost, Surgicel ®: Okside selüloz

Denek No.	Pk Grup 1	Po Grup 2	Pk + Surgicel Grup 3	Po + Surgicel Grup 4
1	0.09	0.10	0.09	0.07
2	0.08	0.10	0.07	0.06
3	0.10	0.09	0.07	0.08
4	0.10	0.07	0.07	0.05
5	0.11	0.10	0.06	0.03
6	0.05	0.03	0.07	0.04
7	0.05	0.02	0.04	0.06
8	0.08	0.06	0.05	0.04
9	0.06	0.04	0.06	0.05
10	0.03	0.02	0.04	0.03
11	0.05	0.04	0.10	0.06

Tablo III: Su taşırma yöntemiyle ölçülen ortalama hacim değerleri.
Değerler ml cinsinden ifade edilmişlerdir.
N: denek sayısı

GRUP	Ortalama	N	Std. Deviasyon
1	0,07273	11	0,02611
2	0,06091	11	0,03270
3	0,06545	11	0,01864
4	0,05182	11	0,01601
Toplam	0,06273	44	0,02462



Şekil 22: Ortalama hacim ölçümlerine ait grafikte grupların dağılımları

Ağırlık Ölçümleri

Altıncı hafta sonunda, yapılan ölçümler ile Grup 1, 2, 3 ve 4'te yer alan, sırasıyla perikondrium, periost, perikondrium–Surgicel ve periost–Surgicel greftlerinden oluşan dokuların ağırlıkları bulundu ve her gruba ait ortalamalar hesaplandı (Tablo IV). Grup 1, 2, 3 ve 4'e ait dokuların ağırlıklarının ortalamaları sırasıyla, 5.94×10^{-2} gr (SD = 2.120×10^{-2}), 4.98×10^{-2} gr (SD = 1.939×10^{-2}), $9{,}52 \times 10^{-2}$ gr (SD = 1.692×10^{-2}) ve 7.43×10^{-2} gr (SD = 1.375×10^{-2}) olarak bulundu. Tüm gruplara ait toplam ağırlık ortalaması ise 6.97×10^{-2} gr (SD = $2{,}455 \times 10^{-2}$) olarak hesaplandı (Tablo V), (Şekil 23).

Bu 4 gruba ait ağırlık ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulundu ($p < 0.05$). Bunun üzerine farklılığı hangi grup ya da grupların yarattığına yönelik 2'şerli karşılaştırmalar yapıldı. Sırasıyla Grup 1 ve 2'yi oluşturan perikondrium ve periost greftlerine ait dokuların ağırlık ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p > 0.05$). Grup 3 ve 4'ü oluşturan perikondrium-Surgicel ve periost-Surgicel greftlerine ait dokuların ağırlıkları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu, Grup 3'ü oluşturan dokuların ağırlıklarının daha yüksek olduğu bulundu ($p < 0.05$).

Grup 1 ve 3'te yer alan, sırasıyla perikondriumu yalnız ve Surgicel ile birlikte içeren greftlere ait dokuların ağırlıkları karşılaştırılarak incelemeler yapıldığında, bu gruplar arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu ($p < 0.05$), Grup 3'e ait dokuların ağırlıklarının daha fazla oldukları görüldü. Yine sırasıyla, Grup 2 ve 4'teki periostu yalnız ve Surgicel ile birlikte içeren greftlere ait dokuların ağırlıkları karşılaştırıldıklarında da aralarında istatistiksel olarak

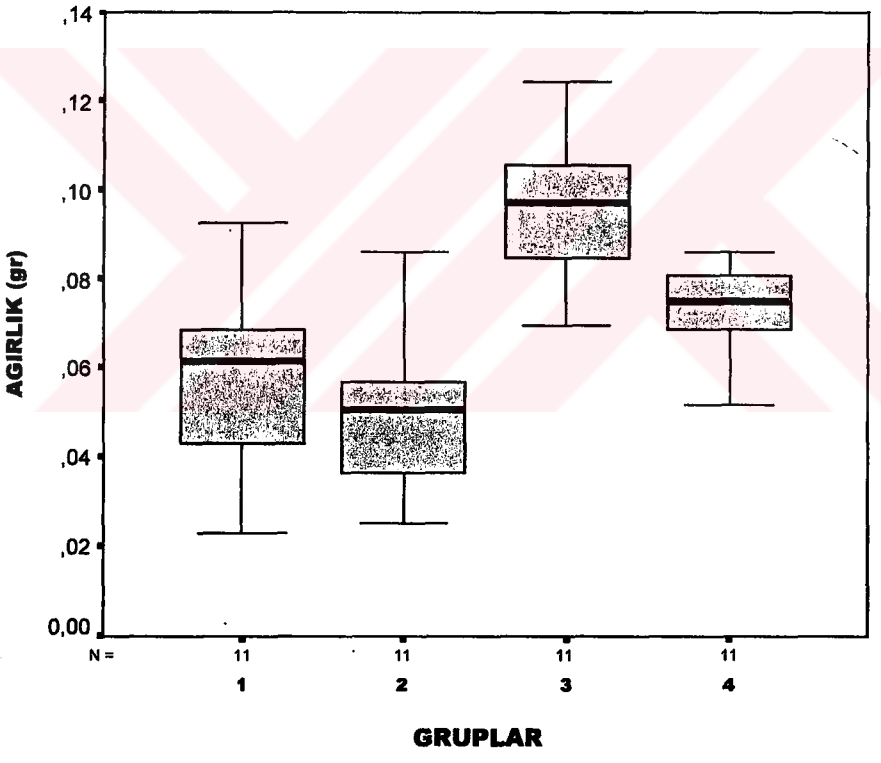
anlamlı fark bulundu ve Grup 4'e ait dokuların ağırlıklarının daha fazla oldukları görüldü ($p < 0.05$).

Tablo IV: Ağırlıklar, digital terazi ile ölçülmüş ve gram cinsinden belirtilmişlerdir.
Pk: perikondrium, Po: periost. Surgicel ®: Okside selüloz

Denek No.	Pk Grup 1	Po Grup 2	Pk + Surgicel Grup 3	Po + Surgicel Grup 4
1	0.0588	0.0860	0.1123	0.1009
2	0.0409	0.0512	0.0972	0.0726
3	0.0654	0.0737	0.0999	0.00692
4	0.447	0.0540	0.1022	0.0766
5	0.0926	0.603	0.0860	0.0548
6	0.0411	0.0260	0.1095	0.0683
7	0.0615	0.0260	0.0696	0.0787
8	0.0626	0.0478	0.0905	0.0749
9	0.0906	0.0508	0.0832	0.0830
10	0.0230	0.0252	0.0721	0.0519
11	0.0717	0.0470	0.1244	00860

Tablo V: Digital terazi ile ölçülen ve gram cinsinden belirtilen ortalama ağırlık değerleri. N: denek sayısı

GRUP	Ortalama	N	Std. Deviasyon
1	0,0593545	11	0,0212041
2	0,0498182	11	0,0193968
3	0,0951727	11	0,0169243
4	0,0742636	11	0,0137552
Toplam	0,0696523	44	0,0245455



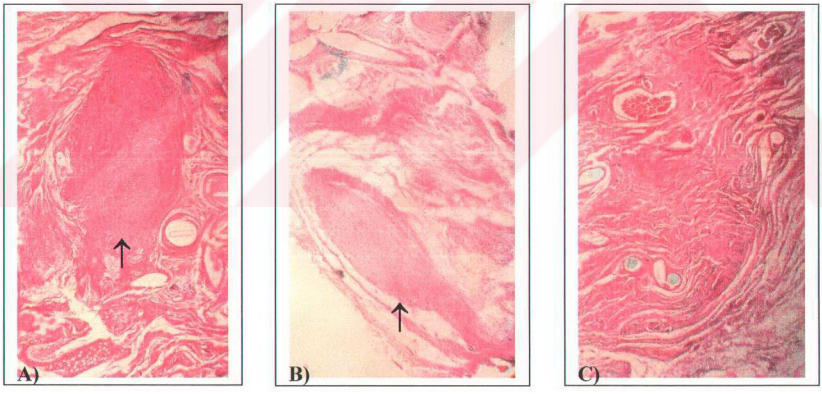
Şekil 23: Ortalama ağırlık ölçümlerine ait grafikte grupların dağılımları

C. HİSTOLOJİK ve HİSTOMORFOMETRİK DEĞERLENDİRME BULGULARI

Histolojik Bulgular

Grup 1'de yer alan 11 numaralı perikondrium bloğu parafinleme işleminde gördüğü hasardan dolayı çalışmaya dahil edilmedi. Histolojik incelemeye, 10 perikondrium, 11 periost, 11 perikondrium-Surgicel ve 11 periost-Surgicel greftinden oluşan dokular alındı.

Hematoksilen ve eozin boyaması ile yapılan mikroskopik incelemeler sonrasında, Grup 1 perikondrium greftlerinden 6'sında olgun, 2'sinde ise ham kıkırdak gelişimi izlenirken, 2'sinde de hiç kıkırdak gelişimi izlenemedi (Şekil 24 a, b, c).



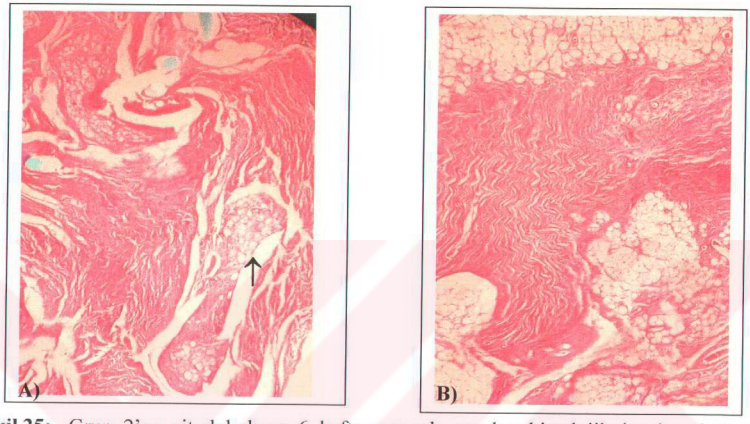
Şekil 24: Grup 1'e ait dokuların 6 hafta sonunda yapılan histolojik incelemelerine ait görünümler (Hematoksilen ve eozin boyama, x 40).

A) Olgun kıkırdak gelişimi (ok ile işaretli) izlenen bir kesit.

B) Ham kıkırdak gelişimi (ok ile işaretli) izlenen bir kesit.

C) Kıkırdak gelişimi izlenmeyen, bağ ve kas doku izlenen bir kesit.

Grup 2 periost greftlerinde olgun kıkırdak oluşumu görülemezken, 5'inde ham kıkırdak oluşumu izlendi. Bu greftlerden 6'sında ise hiç kıkırdak dokusu gelişimine rastlanmadı (Şekil 25 a, b).

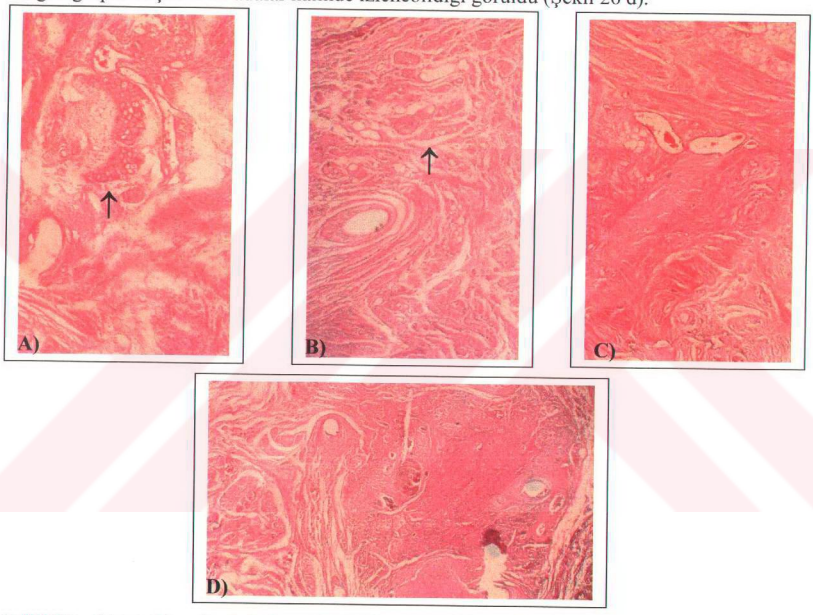


Şekil 25: Grup 2'ye ait dokuların 6 hafta sonunda yapılan histolojik incelemelerine ait görünümler (Hematoksilen ve eozin boyama, x 40).

A) Ham kıkırdak gelişimi (ok ile işaretli) izlenen bir kesit.

B) Kıkırdak gelişimi izlenmeyen, yağ ve bağ doku elemanlarının çevre kas dokusu ile birlikte izlenebildiği bir kesit.

Grup 3 perikondrium-Surgicel greft kesitlerinden 3'ünde olgun, 6'sında ham kıkırdak gelişimleri izlenirken 2 blokta ise hiç kıkırdak dokusu gelişmediği görüldü (Şekil 26 a,b,c). Önemli bir farklılık olarak bu gruptaki olgun kıkırdak gelişen örneklerde dahi gelişmekte olan kıkırdak dokusunun araya giren yoğun fibrozis ile iç içe olduğu ve kondrositlerin oluşturduğu izogen grupların çok ufak adalar halinde izlenebildiği görüldü (Şekil 26 d).



Şekil 26: Grup 3'e ait dokuların 6 hafta sonunda yapılan histolojik incelemelerine ait görünümler (Hematoksilen ve eozin boyama, x 40).

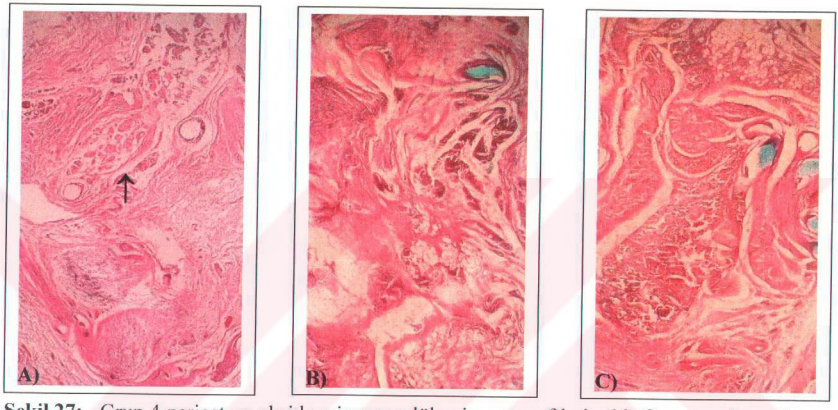
A) Küçük boyutta olgun kıkırdak gelişimi (ok ile işaretli) izlenen bir kesit.

B) Ham kıkırdak gelişimi (ok ile işaretli) izlenen bir kesit.

C) Kıkırdak gelişimi izlenmeyen bir kesit.

D) Gelişmekte olan yeni kıkırdak dokusunun arasını yoğun şekilde infiltre eden fibrozis ve okside selüloz kalıntıları.

Grup 4 periost-Surgicel greftlerinde ise 6 örnekte ham kıkırdak oluşumu izlenirken, 5'inde ise hiç kıkırdağa rastlanamadı (Şekil 27 a, b). Yine bu grupta da tüm kesitlerde yoğun fibrozis ve okside selüloza ait kalıntılar dikkati çekerken oluşan kıkırdak adacıklarının dağınık ve küçük oldukları izlendi (Şekil 27 c).



Şekil 27: Grup 4 periost ve okside rejenere selüloz içeren greftlerin 6 hafta sonunda yapılan histolojik incelemelerine ait görünümler (Hematoksilen ve eozin boyama, x 40).

A) Dağınık küçük parçalar halinde ham kıkırdak gelişimi (ok ile işaretli) izlenen bir kesit.

B) Kıkırdak gelişimi izlenmeyen bir kesit.

C) Gelişmekte olan yeni kıkırdak dokusunun arasını yoğun şekilde infiltre eden fibrozis, ve okside selüloz kalıntıları.

Bu 4 gruptaki greftlere ait doku örnekleri kıkırdak varlığı ve olgunluğu açısından derecelendirildi (Tablo VI). Ortalamanın Grup 1 de 1.40, Grup 2'de 0.45, Grup 3'te 1.09 ve Grup 4'te ise 0.55 olduğu görüldü (Tablo VII).

İstatistiksel olarak bu 4 gruba ait histolojik derecelendirmeler karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark olduğu görüldü ($p < 0.05$). Farkı oluşturan grup ya da grupların tayini için gruplar arası 2'şerli karşılaştırmalar yapıldı. Grup 1 perikondrium ve Grup 2 periost greftlerine ait dokuların histolojik derecelendirilmelerinin karşılaştırılmaları sonucunda aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p < 0.05$). Grup 3 ve 4'te yer alan perikondrium-Surgicel ve periost-Surgicel greftlerine ait dokuların karşılaştırılmalarında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0.05$).

Grup 1 ve 3'te yer alan ve sırasıyla perikondriumu yalnız ve Surgicel ile birlikte içeren greftlere ait dokuların histopatolojik derecelendirilmelerinin karşılaştırılmalarında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0.05$). Grup 2 ve 4'e ait periost greftlerinin yalnız ve okside selüloz ile birlikte bulunduğu gruplar karşılaştırıldıklarında ise yine aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulundu ($p > 0.05$).

Tablo VI: Gruplara ait dokuların kıkırdak mevcudiyeti ve matüritesi açısından histolojik derecelendirme sonuçları.

*: Grup 1-11 no'lu doku örneği gördüğü hasar nedeniyle değerlendirmeye alınmadı

Denek No.	Pk Grup1	Po Grup 2	Pk + Surgicel Grup 3	Po + Surgicel Grup4
1	2	0	1	1
2	2	0	1	0
3	0	1	1	1
4	0	0	0	0
5	1	1	1	1
6	2	0	1	1
7	2	0	2	0
8	2	1	1	0
9	2	1	0	0
10	1	0	2	1
11	-*	1	2	1

Tablo VII: Gruplara ait dokularda kıkırdak varlığı ve matüritesi açısından yapılan derecelendirmenin ortalamaları.

N: denek sayısı

GRUP	Ortalama	N	Std. Deviasyon
1	1,40	10	0,84
2	0,45	11	0,52
3	1,09	11	0,70
4	0,55	11	0,52
Toplam	0,86	43	0,74

Histomorfometrik Bulgular

Olgun kıkırdak dokusu gelişimi izlenen örneklerde, histomorfometrik olarak önce gelişen olgun kıkırdağın alanı sonra da hacmi hesaplandı. Olgun kıkırdak dokusuna, Grup 1 perikondrium greftlerinden 6'sında ve Grup 3 perikondrium-Surgicel greftlerinden 3'ünde rastlandı; fakat Grup 3 greftlerde izlenebilen olgun kıkırdak odaklarının çok küçük parçalar halinde olup, yoğun fibrosis arasında sıkışması nedeniyle yalnız Grup 1 greftlerde gelişen olgun kıkırdak dokusunun hacmi hesaplandı. Grup 1'de, olgun kıkırdak oluşumu izlenen toplam 6 adet dokudaki ortalama matür kıkırdak hacmi hesaplandığında 6.083×10^{-4} cc (SD = 5.176×10^{-4}) olarak bulundu (Tablo VIII). Bu, greftlerde gelişen olgun kıkırdağa ait hacim değerlerinin, tüm dokunun kıkırdak olduğu varsayılarak su taşırma yöntemi ile ölçülen hacim değerlerinden oldukça küçük oldukları görüldü (Tablo IX). Bu iki yöntemle hesaplanan değerler arasında korelasyon olup olmadığı hesaplandı ve korelasyon katsayısı -0.567 bulundu, fakat bu katsayının önemlilik kontrolü yapıldığında ise bunun tesadüfi bir değer olduğu bulundu ($p > 0.05$). Buna göre, iki ölçüm ile bulunan değerler arasında korelasyon olmadığı görüldü (Şekil 28).

Tablo VIII: Grup 1'e ait 6 adet denekte gelişen olgun kıkırdağın histomorfometrik olarak hesaplanan hacim değerlerinin ortalaması.
Değerler ml cinsinden ifade edilmişlerdir.
N: Denek sayısı

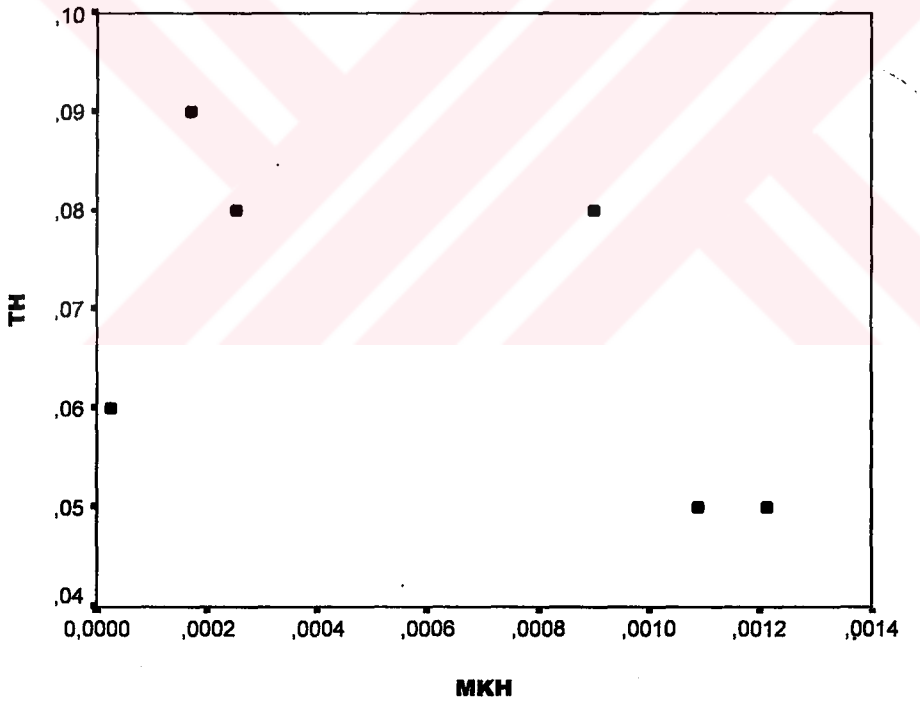
GRUP	Ortalama	N	Std. Deviasyon
1	0,0006083	6	0,0005176

Tablo IX: Grup 1 deneklere ait greftlerde su taşırma yöntemi ile hesaplanan toplam hacim ve histomorfometrik ölçümlerle hesaplanan olgun kıkırdak hacmi değerleri. Değerler ml cinsinden ifade edilmişlerdir.

TH: Su taşırma yöntemiyle ölçülen toplam hacim

MKH: Histomorfometrik olarak ölçülen olgun kıkırdak hacmi

Grup 1 – Denek No.	TH	MKH
1	0.09	0.000170
2	0.08	0.000900
6	0.05	0.001213
7	0.05	0.001089
8	0.08	0.000252
9	0.06	0.000026



Şekil 28: Grup 1 deneklere ait greftlerde hesaplanan toplam hacimler ve oluşan matür kıkırdak dokusu hacimleri arası korelasyon olmadığını gösteren grafik.

MKH: Histomorfometrik olarak ölçülen matür kıkırdak hacmi

TH: Su taşırma yöntemiyle ölçülen toplam hacim

TARTIŞMA ve SONUÇ

Doğumsal nedenlere veya yaşam süresince maruz kalınan akut ya da kronik travmaların yarattığı kayıplara bağlı oluşan kıkırdak eksiklikleri ve bunların onarılma çalışmaları Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahide sık karşılaşılan ve çözümlerinde çelişkili alternatifler bulunan klinik sorunlardır. Bu alternatifler içerisinde başlıcaları, otojen ya da kadavra kökenli olarak kullanılabilen kıkırdak greftleri,[6,8,17,48,60] alloplastik implantlar, perikondrium ve periost flep ve greftleri[3,5,55,58,65,75,76] ve kültür ortamında taşıyıcı biyomateryaller eşliğinde üretilmiş kıkırdaklardır.[45,59,61]

Biz de çalışmamızda perikondrium ve periosta ait greft uygulamalarının, belirli şartlar altında ve belli biyomateryaller ile desteklendiklerinde, oluşturacakları kıkırdağı kalitatif ve kantitatif olarak göstermeyi ve ayrıca yeni kıkırdak dokusu gelişimini etkileyebilecek bazı noktaları aydınlatabilmeyi amaçladık.

Bu amaç doğrultusunda şu soruların yanıtlarını aradık:

1. Sırasıyla kulak ve kranyum bölgelerinden elde edilen ve kapalı cep haline getirilen perikondrium ve periost greftlerinin yeni kıkırdak oluşturma potansiyelleri nedir?

2. Kıkırdak yapımına öncülük edecek hücrelerin ilerlemesi için iskelet oluşturabilecek bir madde olarak okside rejenere selüloz ortama eklendiğinde kondrogenez üzerine etkisi ne olmaktadır?

Kıkırdak defektlerinin onarımında, minimal donor saha morbiditesi ile, enfeksiyon transfer riski taşımadan, normal olgun kıkırdağa eş değer bir şekilde biyolojik aktivitesini sürdürebilecek bir doku sağlamanın en ekonomik yolu perikondrium greftlerinin kullanılmalarıdır. Normal fizyolojik yapısı itibariyle, apozisyonel kıkırdak oluşumunu sağlayan multipotansiyel mezankimal hücreleri barındıran perikondrium dokusunun tek başına greft olarak nakledilmesi ile yeni kıkırdak geliştirme potansiyeline sahip olduğu literatürde pek çok çalışma ile gösterilmiştir.[5,20,32,33,41,43,46,54-58,67,68,71-75,83,85] Bu çalışmalardan çıkartılabilecek ortak bir sonuç ise, perikondrium dokusunun neokartilaj geliştirme potansiyeline sahip olmakla birlikte, bu potansiyelin değişen klinik koşullar altında oldukça değişkenlik gösterdiğidir. Gerçekten perikondriumun greft olarak alınma tekniği, bireyin yaşı, alıcı yatağın kanlanma durumu, kondroprogenitör faktörleri barındırması ve enfeksiyona açık oluşu gibi faktörler bu potansiyeli etkilemektedirler.[18] Bu nedenle perikondrium greftleri rutin klinik uygulamaya, eklem dejenerasyonlarındaki kullanımları haricinde tam olarak girememişlerdir. Hatta diz eklemi kıkırdak kayıplarının kostal perikondrium greftleri ile onarımlarına ait 4 yılın üzerinde takip sonuçlarının bildirildiği bir seride, Bouwmeester ve ark. tarafından olguların %38'inde iyi, %55 olguda ise optimalden düşük sonuçların alındığı rapor edilmiştir.[3] Kullanımlarının yaygınlaşabilmesi için perikondriumdan oluşması beklenen kıkırdak miktarı ve kalitesinin daha net sınırlar içerisinde tahmin edilebilmesi ve bunun için de kondrogenezi destekleyecek ideal koşulların araştırılması gerekmektedir.

Periost greftlerinin de uygun olarak alınıp, uygun koşullar altında nakledildiklerinde kıkırdak oluşturdukları bilinmektedir.[12,13,34,38,39,49,65,86] Perikondrium greftleri için geçerli olan benzer çekinceler periost greftlerinin klinik kullanımlarında da mevcuttur; yani oluşacak kıkırdak miktarı yine koşullara göre oldukça değişkenlik göstermektedir.[15,25,47,51,53] Hatta periost

greftlerinin kemik değil de kıkırdak oluşturabilmeleri için nakledilecekleri ortamın kondrogenezi indükleyecek faktörlerden oldukça zengin olması gereklidir.[47,65] Yalnız, periost dokusunun perikondriuma göre greft olarak alınma tekniği daha kolaydır ve alınabileceği bölgeler daha boldur. Bununla birlikte kıkırdak rekonstrüksiyonu amaçlı periost greftlerinin klinik kullanımı da hemen hemen yalnızca eklem kıkırdak rekonstrüksiyonlarıyla sınırlı kalmaktan öteye gidememiştir.[34,38]

Amaçlarından birisinin perikondrium ve periost greftlerinin kıkırdak oluşturma potansiyellerinin incelenmesi olan çalışmamızda, sonuçların doğru yorumlanabilmesi için standart olarak 1.4 x 2.4 cm boyutlu perikondrium ve periost greftlerinin katlanmaları ile doğurgan tabakaları içeride kalan 1 x 1 cm'lik kapalı cepler oluşturularak, greftlerden gelişecek olan dokunun çevre dokulardan mümkün olduğunca izolasyonu sağlanmıştır. Literatürde benzer deneysel çalışmalarda greftlerin izolasyonu amacıyla diyaliz torbaları[74] ya da 'nucleapore' difüzyon hazneleri[39] gibi bazı malzemeler kullanılmış olsa da bunların greftlerin beslenmesini bozabileceği, maliyeti arttıracağı, enfeksiyon riskini arttıracağı ve ortamdaki parsiyel oksijen basıncını değiştireceği düşünülerek kullanımları tercih edilmemiştir. Kullandığımız teknikte, greftlerden doğurgan tabakaları içeride kalan kapalı ceplerin oluşturulmasının bir diğer avantajı da, dış fibröz tabakaların kıkırdak gelişimi beklenen iç tabakadan izole edilmiş olmasıdır. Bu sayede daha önceki bir çalışmada gösterilen şekilde fibröz tabakanın kondrogenez üzerindeki olumsuz etkilerinden de korunmak mümkün olacaktır.[18]

Bu şekilde hazırlanan greftler içine, kondrogenezde hem hücrelerin göçü için iskelet yapı oluşturucu etkisi hem de gerekli büyüme faktörlerini sağlayıcı etkisi olduğu bilinen[56,74] otolog

kan enjeksiyonu, her bir cebin içine 0.02 cc'lik eşit miktarlarda olmasına özen gösterilerek yapılmıştır. Daha önceki benzer çalışmalarda, tek tabaka halinde kullanılan perikondrium ve periost greftlerinde, kan doğurgan tabakanın olduğu tarafa serbest bir şekilde enjekte edilmiştir,[56,58,85] fakat bu şekilde uygulanan kan, greftin üzerine yatırıldığı yataktan kolayca rezorbe olabilir ya da hareket ile çevre dokulara dağılabilir. Oysa greftler doğurgan tabakaları içte kalacak şekilde kapalı bir cep haline getirildikten sonra içlerine enjekte edilecek kanın, daha güvenli ve standart bir şekilde greft ile ilişkisinin sağlanması mümkündür.

Greftlerin nakledilecekleri yer olarak çalışmamızda kas fasyası altı plan seçilmiştir. Bu, anatomik olarak kolay diseksiyon yapılabilen, tekrarlanabilir bir plandır ve hem kas hem de fasyanın iyi kanlanması sayesinde greftlerin tutması için ideal bir ortamdır. Literatürde, hem perikondrium hem de periost greftlerinin kas içine nakledilmeleri sonrasında iyi kondrojenik aktivite gösterdiklerini rapor eden çalışmalar mevcuttur.[39,56]

Periost greftlerinin osteokondrojenik potansiyelleri üzerine biyolojik ortamın bir diğer etkisi de, düşük oksijen basıncında kıkırdak doku, yüksek oksijen basıncında ise kemik doku oluşumunun baskın olmasıdır.[65] Çalışmamızda greftlerin iyi kanlanan kas fasyası altı plana konulmaları, daha önce belirtildiği gibi tutmalarını kolaylaştırırken, yüksek kısmi oksijen basıncı ise kıkırdaklaşma üzerinde baskılayıcı etkiye sahip olabilecektir. Oluşturduğumuz modelde, greftlerin doğurgan yüzlerinin kapalı ceplerin içinde kalmasının sağlanması ile yüksek kısmi oksijen basıncı probleminin de önüne bir miktar geçilebileceği düşünülmektedir.

Perikondrium ya da periosttan yeni kıkırdak gelişirken, kondrojenik hücrelerin göç edip yerleşeceği bir iskelet yapının kıkırdaklaşmaya yardımcı olacağı düşünülerek literatürde bu amaçla kan pıhtısı,[56] poliglikolik asit,[66-68] kollajen sünger,[46] hidroksiapatit[84] ve demineralize kemik matriksi[2,78] gibi materyaller kullanılmıştır. Biz de çalışmamızın bir diğer kısmında kapalı cepler haline getirilen perikondrium ve periost greftleri içine, aslen hemostatik bir materyal olarak kullanılan, okside rejenere selüloz yerleştirerek olası kondrogenez üzerine olumlu ya da olumsuz etkilerini incelemeyi amaçladık.

Modelimizde, 6 haftalık takip sürelerinin sonunda, greftlerin nakledildikleri kas fasyası altı planlardan çıkartılmaları aşamasında zorlukla karşılaşılmaması, hiçbir greftte yer değiştirme ya da yara yerinden dışarı taşmanın izlenmemiş olması ve greftlerin çevreden iyi sınırlarla ayırt edilebilmeleri, model ve cerrahi tekniğin uygun olduğunu göstermektedir. Greftlerin nakledildikleri yerde, kasa birer adet naylon dikiş ile tespit edilmiş olmaları yer değiştirme riskini ortadan başarıyla kaldırmıştır. Greftler etraflarında yaklaşık 2-3 mm yumuşak doku ile çıkartılmış, sonrasında mikroskop büyütmesi altında, mikrocerrahi aletler kullanılarak etraf kas ve diğer yumuşak dokulardan mümkün olduğunca izole edilmişlerdir. Önemli bir nokta şudur ki, bu işlemin hata payını en aza indirgemek ve histolojik kesitlerde grefte ait doku kaybından kaçınmak için diseksiyonları muhakkak aynı cerrahın yapması ve kıkırdak dokuyu çevre dokulardan izole edebilmek için titizlikle davranması gerekmektedir. Bu tip, farklı dokuların bir arada oldukları örneklerde, belli bir tip dokunun mutlak miktarını tayin edebilmenin yolu cerrahi diseksiyon ile izolasyon değil, histomorfometrik çalışmaların uygulanmasıdır.

Oluşturdukları dokuların histolojik yapılarına bakılmaksızın, tüm gruplara ait greftlerin hacimleri, nakledilmelerinden 6 hafta sonra ölçülüp, birbirleriyle karşılaştırıldı. Amaç greftlerden oluşan dokuların içerdikleri tüm histolojik komponentleri ile birlikte hacimlerinin ölçülmesi idi. Böylece, bu greftlerin dolgu maddesi olarak kullanılmaları durumunda sağlayacakları hacimler arası fark olup olmayacağının karşılaştırılması hedeflendi. Bu ölçümlerde greftler her ne kadar doğurgan tabakaları içe çevrilip kapalı cepler haline getirilmiş olsalar da, içlerinde gelişecek dokunun saf bir şekilde kıkırdak içermeyeceği biliniyordu.[74,78,12] Karşılaştırmalar sonrasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı, yani okside selüloz içeren ya da içermeyen perikondrium ve periost greftlerinin kas fasyası altı palana nakledilmelerinden 6 hafta sonra eşit hacimde oldukları görüldü. Bu, tüm gruplardaki greftlerin kıkırdak oluşturma potansiyellerinin aynı olduğu şeklinde yorumlanmamalıdır, çünkü daha önce de belirtildiği gibi makroskopik düzeyde yapılan hacim ölçümlerinde dokuların histolojik içerikleri dikkate alınmamakta, yalnızca greft içerisinde gelişen kıkırdak ve fibröz doku da dahil tüm dokuların birlikte ölçümü yapılmaktadır.

Yine benzer şekilde, oluşturdukları dokuların histolojik içeriklerine bakılmaksızın, gruplara ait greftlerin meydana getirdikleri dokuların ağırlık ölçümleri yapılıp birbirleriyle karşılaştırıldıklarında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu ortaya çıktı. Okside selüloz içeren perikondrium ve periost greftlerine ait gruplar olan Grup 3 ve 4'ün, yalnızca perikondrium ve periost içeren Grup 1 ve 2 greftlere göre 6 hafta sonunda oluşturdukları dokuların istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha ağır oldukları bulundu. Bu ağırlık farkının Grup 3 ve 4 greftlerin içinde fazladan yer alan 0.8 x 0.8 cm boyutlu okside selüloz parçalarına bağlı olabileceği düşünüldü; çünkü okside selülozun her ne kadar eriyen poliuronik asit komponenti ortamdan hızla uzaklaşsa da, makrofajlar tarafından fagosite

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

edilebilen ama işlenemeyen fibröz kısmı greftlerin içerisinde kalmaktadır ve bunun da greftleri ağırlaştırmış olduğu sonucuna varılabilir.[62] Okside selüloza ait bu fibröz kalıntıların doku içerisinde fibrozisi arttıracağı da düşünülebilir, ki bu çalışmamızın histolojik incelemelerinde de gösterilmiştir.

Perikondrium ve periost greftlerinden oluşan dokular ağırlıkları açısından kendi aralarında karşılaştırıldıklarında, okside selüloz içersinler ya da içermesinler perikondrium greftlerinden oluşan dokuların periost greftlerinden oluşanlara göre daha ağır oldukları bulunmuş, fakat aradaki farkın yalnız okside selüloz içeren greftlerin karşılaştırıldığı durumda istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Bu ağırlık fazlalığının nedeni muhtemelen uygun kondrojenik ortam bulamayan periost greftlerinden daha az kıkırdağın gelişmiş olmasıdır. Bu durum çalışmamızın histolojik inceleme kısmında daha ayrıntılı tartışılacaktır.

Her dört gruptaki greftlerden oluşan dokular, histolojik olarak kıkırdak varlığı ve olgunluğu göz önüne alınarak derecelendirildiklerinde, gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu görüldü. Bu farkın, Grup 1'e ait dokuların, Grup 2 dokulardan anlamlı şekilde daha yüksek histolojik derecelendirmeye sahip olmalarına bağlı olduğu bulundu. Yani, kapalı cep haline getirilmiş olan perikondrium greftlerinin, aynı özellikteki periost greftlerine göre kas fasyası altına naklediklerinde daha belirgin kıkırdak oluşturma potansiyeline sahip oldukları gösterilmiş oldu. Daha önce de vurgulandığı gibi, periost greftleri ancak uygun kondrotrofik uyaranlar altında etkin bir şekilde kıkırdak dokusu oluşturabilmektedirler. Muhtemelen, modelimizde periost greftleri için gereken yeterlilikte bir kondrotrofik ortam oluşmamıştır ve bunun neticesinde de bu greftlerden kıkırdak dokusuna nazaran daha fazla miktarda fibröz

bağ dokusu gelişmiştir. Periost greftlerinden kıkırdak oluşturulması yolunda modelimizin olası eksik yönleri şu şekilde tartışılabilir:

Literatürde, periost greftlerinin kıkırdak geliştirme potansiyelleri üzerine çeşitli faktörlerin etkilerini inceleyen çalışmalar mevcuttur.[15,39,47,51,63,65] Bir çalışmada, perikondrium ve periost greftlerinin eklem içine nakledildiklerinde eşit kondroproliferatif özelliklere sahip oldukları gösterilmiştir.[13] Bu çalışma ile karşılaştırıldığında, modelimizde greftlerin nakledildikleri yer olan kas fasyası altı plan, elbette eklem içi sıvısı gibi kondroproliferatif faktörleri yüksek düzeyde barındırmamaktadır ve kısmi oksijen basıncı da eklem içi kadar düşük değildir. Aslında, greftlerin içerisine uygulanan kanın serum kısmında da büyüme faktörlerinin bulunduğu ve bunun perikondriumun kondrojenik kapasitesini indüklemeye yeterli olduğu da bilinmektedir,[74] fakat muhtemelen periost perikondriuma göre kondroproliferatif faktörlere daha bağımlı bir kondrogenez kapasitesine sahiptir ve serum ile sağlanan faktörler yeterli olamamışlardır. Çalışmamızda, greftlerin eklem içerisine yerleştirilmeleri modelini seçmememizin nedeni ise, bu modelin zaten klinik olarak da bilinen başarılı sonuçlarının mevcut olmasıdır. Ayrıca, vücuttaki diğer kıkırdak eksikliklerinin rekonstrüksiyonu amacıyla düşünüldüğünde perikondrium ya da periost greftlerinin eklem içine geçici olarak uygulanmaları hem teknik olarak zor, hem de morbiditesi yüksek bir işlem halini almaktadır.

Çalışmamızda ise, greftlerin nakledilecekleri bölge olarak kas fasyası altı plan seçilmiştir. İyi bir kanlanması olan kas planı literatürde greftlerin kolay beslenebildiği bir yer olarak bilinmektedir, ki biz de bunu destekler şekilde, 6 haftanın sonunda greftlerimizi çıkartırken hepsinin oldukça vasküler bir doku ile çevrelendiklerini ve yaşadıklarını gördük. Jaroma ve ark., periost greftlerinin diffüzyon haznelerinin içine konularak kas dokusu içine

nakledilmeleri ile osteogenez ve kondrogenezin ikinci haftada başladıklarını, her ikisinin de altıncı haftada tepe noktada plato yaptıklarını ve kondrogenezin on ikinci haftada daha yüksek ikinci bir plato yaptığını belirtmişlerdir.[39] Bu çalışma da kas dokusunun perikondrium ve periost greftlerinin beklenen aktivitelerini gösterebilmeleri için uygun bir plan olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda, daha önce değindiğimiz nedenlerle kullanmayı tercih etmediğimiz diffüzyon hazneleri eğer kullanılsalardı, çevre dokular gelişecek olan yeni kıkırdak dokusundan izole edilmiş ve böylece sonuçların değerlendirilmesi daha kolaylaşmış olacaktı. Ayrıca hazne içerisinde, periost greftleri için kondrogenezi destekleyecek daha düşük bir parsiyel oksijen basıncının sağlanabilmesi de mümkün olabilirdi. Gerçekten de, yapılan periost hücre kültürü çalışmalarında gösterilmiştir ki, periost greftlerinden en üst düzeyde kıkırdaklaşma parsiyel oksijen basıncının % 12 ila 15 arasında olduğu değerlerde gerçekleşmektedir.[51] Çalışmamızda ise, her ne kadar greftler katlanıp cep haline getirilerek oksijen basıncının çevreye göre daha düşük olabileceği bir ortam sağlanmaya çalışılmış olsa da, bunun difüzyon hazneleri gibi sentetik bariyerlerin sağlayacakları düşük oksijen basıncı kadar etkili olamayacağı düşünülmektedir.

Periost greftlerinden daha az kıkırdak gelişmiş olmasının bir diğer nedeni olarak da, kullanılan periost greftlerinin membranöz kemik kökenli olmaları ileri sürülebilir, ki bu iddianın dayanağı, bazı çalışmalarda uzun kemiklere ait periostun kondrojenik potansiyele sahip olup, kafatası gibi membranöz kemiklere ait periostun ise bu potansiyele sahip olmadığının belirtilmesidir.[25] Ancak, bu bilgi literatürde yeterince destek bulmamış ve hem

endokondral hem de intramembranöz kemikleşme izlenen kemiklere ait periostun kondrogenez potansiyeli olduğu gösterilmiştir.[23]

Histolojik derecelendirmesi Grup 2'ye göre daha yüksek olan Grup 1 greftler, perikondrium ile birlikte okside selüloz da içeren Grup 3'e ait greftler ile karşılaştırıldıklarında, Grup 1'e ait greftlerin histolojik derecelendirme ortalamalarının daha yüksek olduğu ama aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Aslında Grup 3 greftlerde belirgin şekilde artmış fibröz doku infiltrasyonu tüm kesitlerde izlenmiştir, ama bu kıkırdak dokusunun gelişmesini tümüyle engellememiş, sadece bu dokunun küçük parçalar halinde kalarak, arada fibrozisin de belirgin derecede oluşmasına yol açmıştır. Bu şekilde artmış fibrozisin bu dokuların greft olarak kullanımlarında etkisinin ne olacağı konusu tartışmalıdır. Kıkırdak ve fibröz dokunun bu denli iç içe şekilde greft olarak uygulanmasının klinik bir örneği rinoplasti ameliyatlarında konturun düzeltilmesi amacıyla 'Turkish Delight' tekniğinin kullanımıdır.[21] Gerçekten de otojen kıkırdak greftlerinin çok ince bir şekilde kıyılıp, daha sonra okside selüloza sarılarak uygulanmaları şeklinde tanımlanan bu teknik ile yapılan incelemeler göstermiştir ki, blok halinde uygulanan kıkırdak greftleri ile arasında viabilite açısından fark yoktur.[87] Ancak kıyılıp okside selüloza sarılarak uygulanan kıkırdak greftlerinin rejenerasyon potansiyellerinin azalmış olduğu da aynı çalışmada glial fibriler asidik protein boyaması ile gösterilmiştir.[87] Çalışmamızda aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmasa da, okside selüloz barındıran perikondrium greftlerinin daha düşük histolojik derecelendirme değerlerine sahip olmaları, bu greftlerde kondrogenezin okside selülozun varlığı ile bir miktar da olsa baskılanmasına bağlı olabilir.

Kıkırdak dokusu gelişimi ve olgunlaşması açısından yapılan derecelendirmelerde, Grup 2 ve Grup 4 greftler arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Yani, periost greftleri okside selüloz varlığında ya da yokluğunda benzer şekilde davranmışlar ve her iki durumda da beklenenin altında kalan bir kondrojenik aktivite sergilemişlerdir. Bunun nedeni daha önce de tartıştığımız gibi periost greftlerinin kondroproliferatif aktivite göstermeleri için, çalışmamızda kullandığımız kapalı cep oluşturulup, kas fasyası altına nakledilme modelinin yetersizliği olabilir. Bu greftlerde de okside selülozun kullanımı ile fibrozis miktarında artış izlenmiştir, fakat bu kantitatif olarak ölçülmemiştir.

Okside selülozun varlığında perikondrium ve periost greftlerinin kondrojenik potansiyelleri arasındaki farkı değerlendirilmek için Grup 3 ve 4 greftler de karşılaştırılmışlardır. Perikondrial greftlerin aldığı histolojik derecelendirme değerleri daha yüksek olmakla birlikte aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

Çalışmamızda son olarak, dokuların histolojik kompozisyonunu dikkate almadan su taşırma yöntemi ile yapmış olduğumuz hacim ölçümlerine ait değerlerin, bu dokuların içerisinde gelişen olgun kıkırdak hacimlerini ne kadar yansıttığını görmeyi amaçladık. Bu amaç doğrultusunda, Grup 1'e ait perikondrium greftlerinden gelişen olgunlaşmış kıkırdağın hacmini bir kez de histomorfometrik olarak hesapladık. Bu hesaplamalar sonrasında gördük ki, dokuların içinde gelişen matür kıkırdak miktarı ile, dokuların cerrahi diseksiyon ile çevreden izole edildikten sonra ölçülen kaba hacimleri arasında korelasyon yoktur. Bu da, greftlerin içinde olgunlaşmış kıkırdağın yanı sıra bağ dokusu ve yağ dokusunun da geliştiğini ve ayrıca greftlerin alınmaları aşamasında çevre dokulardan tümüyle izole edilmelerinin, bu kapalı cep modeli için bile mümkün olmadığını göstermektedir. Dolayısıyla bu tip greft

uygulamaları sonrasında elde edilecek olan dokunun alınıp, ikincil bir bölgeye naklinin söz konusu olduğu durumlarda, saf kıkırdak naklinden bahsetmek doğru olmayacaktır. Bunun yerine kompozit bir doku transferi yapıldığının bilinmesi gerekli ve önemlidir.

Sonuç olarak tüm bu fiziksel ve histolojik veriler göstermiştir ki; perikondrium ve periost greftlerinin kıkırdak oluşturmak amacıyla kapalı cep haline getirilip, içlerine otolog kan enjekte edilerek, kas fasyası altına uygulanmaları sonucunda, perikondrum greftlerinin kondrojenik potansiyelleri periost greftlerine göre daha yüksektir. Ayrıca, kapalı perikondrium ve periost ceplerinin içerisine yerleştirilen okside selülozun kıkırdaklaşma üzerinde olumlu veya çok belirgin olumsuz etkisi de görülmemiş, sadece greftlerin içerisinde gelişen fibröz doku miktarının artması ile kıkırdağın daha küçük parçalar halinde gelişmesine yol açtığı izlenmiştir. İçinde yeni gelişmiş olan kıkırdak ile birlikte yağ dokusu ve bağ dokusu da içerecek olan bu kompozit greftlerin nakledilecekleri ortamda ne derece başarı ile kontür restorasyonunu sağlayacakları ve bunun ne kadar kalıcı olacağı konuları ise ileride yapılacak çalışmalar ile aydınlatılmayı beklemektedir.

ÖZET

Kıkırdak eksikliklerinin onarılmasında en sık kullanılan ve altın standart olarak kabul edilen seçenek otojen kıkırdak greftlerinin kullanılmalarıdır. Ancak, vücutta kıkırdak grefti alınabilecek alanlar kısıtlıdır. Perikondrium ve periostun osteokondrojenik kapasiteleri ise uzun yıllardır bilinmektedir. Bu dokuların greft olarak kullanımları ile değişik koşullar altında, değişik miktar ve kalitede kıkırdak dokusu elde etmenin mümkün olduğu da bazı çalışmalar ile gösterilmiştir.

Çalışmamızda 1,4 x 2,4 cm boyutlu kulak perikondrium (Grup 1) ve kafatası periost (Grup 2) greftleri kendi üzerlerine katlanıp, kenarlarından dikilerek kapalı cep haline getirilmeleri sonrasında içlerine otojen kan enjeksiyonu yapılarak, karında kas fasyası altı plana nakledilmişlerdir. Ayrıca, 0,8 x 0,8 cm boyutlu okside rejenere selüloz (Surgicel ®), sırasıyla yine aynı özellikte hazırlanmış perikondrium (Grup 3) ve periost (Grup 4) greftlerinin içine yerleştirilip, bunlar da aynı işlemler sonrasında aynı doku planına nakledilmişlerdir. 6 haftalık takip sonrasında greftler çıkartılmış, hacimleri su taşırma yöntemi ile, ağırlıkları hassas terazi ile ve içlerinde oluşan kıkırdak dokusu ve olgunluğu da histolojik çalışmalar ile değerlendirilmiştir.

İstatistiksel olarak grupların hacim ölçümleri arasında anlamlı fark olmamasına ve ağırlık ölçümlerinde okside selüloz içeren grupların daha ağır olarak bulunmalarına karşın, histolojik çalışmalar ile perikondrium greftlerinin, periost greftlerine göre daha fazla miktarda ve daha olgun kıkırdak içerdikleri tespit edilmiştir. Okside selüloz ise kıkırdaklaşmayı bozmamakla birlikte, arttırıcı etkiye de sahip olamamış, yalnızca ortamda fibröz dokunun daha yaygın görülmesine neden olmuştur. Ayrıca histomorfometrik çalışmalar ile yapılan hacim ölçümleri de göstermiştir ki, su taşırma yöntemiyle ölçülen greft hacim değerleri, greftlerin içinde gelişen olgun kıkırdak hacmini yansıtmamaktadır.

SUMMARY

In reconstructing cartilage defects, the use of autogenous cartilage grafts is the most preferred and gold standard option. Unfortunately cartilage donor sites within the body are limited. The osteochondrogenic capacities of both perichondrium and periosteum are well known for years, and both are capable of cartilage formation when used as free grafts under certain conditions.

Ear perichondrial (Group 1) and calvarium periosteal grafts (Group 2) of 1.4 x 2.4 cm were folded on themselves to create closed pockets and then were injected with autogenous blood. Besides 0.8 x 0.8 cm sized oxidized regenerated cellulose sheets were placed inside other perichondrial (Group 3) and periosteal (Group 4) grafts which were identically prepared with groups 1 and 2. All grafts were transplanted into the subfascial planes of abdominal muscles. After a 6 week follow-up the grafts were harvested. Their volumes were measured by submerging them into water, weights were measured by sensitive tissue scales and the quality and amount of cartilage tissue formed were assessed by histological studies.

Statistically, though it was found that the groups were not different on the basis of their volumetric studies, and the grafts including oxidized cellulose were found to be heavier than the others, histologic studies revealed that the perichondrial grafts produced more cartilage with better maturation. On the other hand, oxidized cellulose neither enhanced nor retarded chondrogenesis, but caused an increase in fibrotic tissue formation. Volumetric studies by histomorphometric analysis also revealed that the volume measurements by submerging the tissues into water did not reflect the amount of newly formed mature cartilage.

KAYNAKLAR

1. Bairati A, Comazzi M, Gioria M: A comparative study of perichondrial tissue in mammalian cartilages. Tissue Cell 28: 455-468, 1996
2. Bean JK, Vervoerd-Verhoef HL, Meeuwis J, Vervoerd CDA: Reconstruction of the growing cricoid with a composite graft of demineralized bovine bone and autogenous perichondrium; a comparative study in rabbits. Int. J. Ped. Otorhinolaryngol. 25: 163-172, 1993
3. Bouwmeester SJM, Beckers JMH, Kuijer R, van der Linden AJ, Bulstra SK: Long-term results of rib perichondrial grafts for repair of cartilage defects in the human knee. Int. Orthop. 21: 313-317, 1997
4. Brent B: Ear reconstruction with an expansile framework of autogenous rib cartilage. Plast. Reconstr. Surg. 53: 619-628, 1974
5. Brent B, Ott R: Perichondro-cutaneous graft. Plast. Reconstr. Surg. 62: 1-14, 1978
6. Brent B: Nipple-areola reconstruction following mastectomy: an alternative to the use of labila and contralateral nipple-areolar tissue. Clin. Plast. Surg. 6: 85-92, 1979
7. Brent B: The versatile cartilage autograft: Current trends in clinical transplantation. Clin. Plast. Surg. 6: 163-180, 1979
8. Brent B: Repair and grafting of cartilage and perichondrium. Plastic Surgery vol.1, Mc Carthy JG (ed.) W.B. Saunders Company, Philadelphia, s: 559-583, 1990
9. Bruns J, Meyer-Panwitt U, Silbermann M: The rib perichondrium. Acta Anat. 144: 258-266, 1992
10. Bujia J: Determination of the viability of crushed cartilage grafts: Clinical implications for wound healing in nasal surgery. Ann. Plast. Surg. 32: 261-265, 1994

11. Canan S, Şahin B, Odacı E, Ünal B, Aslan H, Bilgiç S, Kaplan S: Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem: Cavalieri prensibi. T Klin J Med Sci. 22: 7-14, 2002

12. Carranza-Bencano A, Perez-Tinao M, Ballesteros-Vazquez P, Armas-Padron JR, Hevia-Alonso A, Martos-Crespo F: Comparative study of the reconstruction of articular cartilage defects with free costal perichondrial grafts and free tibial periosteal grafts: An experimental study on rabbits. Calcif. Tissue Int. 65: 402-407, 1999

13. Carranza-Bencano A, Garcia-Piano L, Armas-Padron JR, Dominguez C: Neochondrogenesis in repair of full-thickness articular cartilage defects using free autogenous periosteal grafts in the rabbit. A follow-up in six months. Osteoarth. Cart. 8: 351-358, 2000

14. Chait LA: The 'C' costal cartilage graft in reconstruction of the unilateral cleft lip nose. Br. J. Plast. Surg. 34: 169-172, 1981

15. Critchlow MA, Bland YS, Ashhurts DE: The effects of age on the response of rabbit periosteal osteoprogenitor cells to exogenous transforming growth factor-β2. J. Cell. Sci. 107: 499-516, 1994

16. Duncan MJ, Thomson HG, Mancer JFK: Free catrilage grafts: The role of perichondrium. Plast. Reconstr. Surg. 73: 916-923, 1983

17. Dupertius SM: Growth of young human autogenous cartilage grafts. Plast. Reconstr. Surg. 5: 486-500, 1950

18. Duynstee MLG, Vervoerd-Verhoef H, Vervoerd CDA, van Osch GJVM: The dual role of perichondrium in cartilage wound healing. Plast. Reconstr. Surg. 110: 1073-1079, 2002

19. Eisemann ML: The growth potential of autograft cartilage. An experimental study. Arch. Otolaryngol. 109: 469-472, 1983

20. Engkvist O, Skoog V, Pastacaldi P, Yormuk E, Juhlin R: The cartilaginous potential of the perichondrium in rabbit ear and rib. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 13: 275-280, 1979

21. Erol ÖO: The Turkish delight: A pliable greft for rhinoplasty. Plast. Reconstr. Surg. 105: 2229-2241, 2000

22. Falces E, Gorney M: Use of ear cartilage grafts for nasal tip reconstruction. Plast. Reconstr. Surg. 50: 147-152, 1972

23. Fang J, Hall BK: Chondrogenic cell proliferationfrom membrane bone periosta. Anat. Embryol (Berl) 195: 349-362, 1997

24. Finn MD, Schow SR, Schneiderman ED: Osseous regeneration in the presence of four common hemostatic agents. J oral Maxillofac. Surg. 50: 608-612, 1992

25. Gallay SH, Miura Y, Commisso CN, Fitzsimmons JS, O'Driscoll SW: Relation ship of donor site to chondrogenic potential of periosteum in vitro. J Orthop Res. 12: 515-525, 1994

26. Gartner LP, Hiatt JL: Cartilage and Bone. Color Textbook of Histology, 2nd ed., Gartner LP, Hiatt JL (eds.) W.B. Saunders, Philadelphia, s: 129-154, 2001

27. Gibson T, Davis WB: The distortion of autogenous cartilage grafts: Its cause and prevention. Br. J. Plast. Surg. 10: 257-266, 1958

28. Grabb WC: The first and second branchial arch syndrome. Plast. Reconstr. Surg. 36: 485-508, 1965

29. Gültan SM, Emiroğlu M, Çenetoğlu S, Yormuk E: Effects of free perichondrial graft replacement of epiphyseal cartilage on bone growth. Scan. J. Plast. Reconstr. Hand Surg. 27: 1-8, 1993

30. Hagerty RF, Calhoon TB, Lee WH, Cuttino JT: Characteristics of fresh human cartilage. Surg. Gynecol. Obstet. 110: 3-10, 1960

31. Hall BK: Earliest evidence of cartilage and bone development in embryonic life. Clinç Orthop. 225: 255-272, 1987

32. Hartig GK, Esclamado RM, Telian SA: Comparison of the chondrogenic potential of free and vascularised perichondrium in the airway. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 103: 9-15, 1994

33. Hartig GK, Esclamado RM, Telian SA: Chondrogenesis by free and vascularised rabbit auricular perichondrium. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 103: 901-904, 1994

34. Hoikka VEJ, Jaroma HJ, Ritsala VA: Reconstruction of the patellar articulation with periosteal graft. Four year follow-up of 13 cases. Acta Orthop. Scand. 61: 36-39,1990

35. Holtrop ME: The origin of bone cells in endochondral ossification: Calcified Tissues. Proceedings of the third European Symposium on calcified tissues held at Davos. Fleish H, Balckwood H, Owen M (eds.) New York, Springer-Verlag, s:32-65, 1965

36. Horton CE, Matthews MS: Nasal reconstruction with autologous rib cartilage: A 43 year follow-up. Plast. Reconstr. Surg. 89: 131-135, 1992

37. Ioannides C, Maltha JC: Replacement of the interarticular disc of the craniomandibular joint with fresh autogenous sternal or auricular cartilage. An experimental study in guinea pigs. J Cranio-Maxillo-Facil Surg. 16: 343-349, 1988

38. Jaroma HJ, Ritsala VA: Reconstruction of the patellar articulation with periosteal grafts. Four year follow-up of 13 cases. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 21: 175-181, 1987

39. Jaroma HJ, Ritsala VA: Differentiation of periosteal cells in muscle. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 22: 193-198, 1988

40. Junqueira LC, Carneiro J, Kelly RO: Cartilage. Basic Histology, 7th ed., Junqueira LC, Carneiro J, Kelly RO (eds.) Appleton & Lange, New Jersey, s: 132-140, 1992

41. Kon M, van den Hooff A: Cartilage tube formation by perichondrium: A new concept for tracheal reconstruction. Plast. Reconstr. Surg.72: 791-795, 1983

42. Kridel RW, Konior RJ: Irradiated cartilage grafts in the nose. A preliminary report. Arch Otolaryngol. Head Neck Surg. 119: 24-30, 1993

43. Lester CW: Tissue replacement after subperichondrial resection of costal cartilage: Two case reports. Plast. Reconstr. Surg. 23: 49-53, 1959

44. Malinin TI, Wagner JL, Pita JC, Lo H: Hypothermic storage and cryopreservation of cartilage. An experimental study. Clinical Orthop. 197: 15-26, 1985

45. Mason JM, Breitbart AS, Barcia M, Porti D, Pergolizza RG, Grande DA: Cartilage and bone regeneration using gene enhanced tissue engineering. Clin. Orthop. 379: 171-178, 2000

46. Matsuda K, Nagasawa N, Suziki S, Isshiki N, Ikada Y: In vivo chondrogenesis in collagen sponge sandwiched by perichondrium. J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 7: 221-229, 1995

47. Miura Y, Fitzsimmons JS, Commisso CN, Gallay SH, O'Driscoll SW: Enhancement of periosteal chondrogenesis in vitro: Dose response for transforming growth factor-beta 1 (TGF –β1). Clin Orthop. 301: 271-280, 1994

48. Mowlem R: Bone (iliac) and cartilage transplants to ear and nose; their use and behavior. Br. J. Plast. Surg. 29: 182-189, 1941

49. Niedermann B, Boe S, Lauritzen J, Rubak JM: Glued periosteal grafts in the knee. Acta Orthop. Scand. 56: 457-460, 1985

50. Nishimura Y, Ogino Y: Autogenous septal cartilage graft in the correction of cleft lip nasal deformity. Br J. Plast. Surg. 31: 222-226, 1978

51. O'Driscoll SW, Fitzimmons JS, Commisso CN: Role of oxygen tension during cartilage formation by periosteum. J Orthop Res. 15: 682-687, 1997

52. O'Driscoll SW: The healing and regeneration of articular cartilage. J Bone Joint Surg. 80A: 1795-1812, 1998

53. O'Driscoll SW, Fitzsimmons JS: The importance of procedure specific training in harvesting periosteum for chondrogenesis. Clin. Orthop. Rel. Res. 380: 269-278, 2000

54. Ohlsen L, Skoog T, Sohn SA: The patogenesis of cauliflower ear. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 9:34-39, 1975

55. Ohlsen L, Nordin U: Tracheal reconstruction with perichondrial grafts, An experimental study. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 10: 135-145, 1976

56. Ohlsen L: Cartilage formation from free perichondrial grafts: An experimental study in rabbits. Br. J. Plast. Surg. 29: 262-267, 1976

57. Ohlsen L: Cartilage Regeneration from perichondrium. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 62: 507-513, 1977

58. Ohlsen L: Reconstruction of the auricular defect with perichondrial graft: A new technique. Scand J. Plast. Reconstr. Surg. 12: 299-302, 1978

59. Paige KT, Cima LG, Yaremchuk MJ, Schloo BL, Vicanti JP, Vacanti CA: De novo cartilage generation using calcium alginate-chondrocyte constructs. Plast. Reconstr. Surg. 97: 168-180,1996

60. Peer LA: Cartilage grafting. Surg. Clin. North Am. 24: 404-411, 1944

61. Perka C, Spitzer RS, Lindenhayn K, Sittinger M, Schultz O: Matrix-mixed culture: New methodology for chondrocyte culture and preparation of cartilage transplants. J. Biomed. Mater. Res. 49: 305-311, 2000

62. Pierce A, Wilson D, Wiebkin O: Surgicel®: Macrophage processing of the fibrous component. Int. J. Oral Maxillofac. Surg. 16: 338-345, 1987

63. Poussa M, Rubak JM, Ritsala V: Differentiation of the osteochondrogenic cells of the periosteum in chondrotropic environment. Acta Orthop. Scand. 52: 235-239, 1981

64. Ritsala V, Alhopuro S, Rintala A: Bone formation with free periosteum. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 6: 51-56, 1972

65. Ritsala VA, Santavirta S, Alhopuro S, Poussa M, Jaroma H, Rubak JM, Eskola A, Hoikka V, Snallman O, Österman K: Periosteal and perichondrial grafting in reconstructive surgery. Clin. Orthop. Rel. Res. 302: 259-265, 1994

66. Ruuskanen M: Shaped regeneration of rabbit ear perichondrium. Scand J. Plast. Reconstr. Surg. 25: 193-197, 1991

67. Ruuskanen MM, Virtanen MK, Kallioinen MJ, Serlo W, Laiho JA, Törmala PO, Waris T: Remodeling of rabbit rib cartilage with perichondrial flaps and biodegradable implants. Ped. Surg. 6: 418-420, 1991

68. Ruuskanen MM, Virtanen MK, Tuominen H, Törmala P, Waris T: Generation of cartilage from auricular and rib free perichondrial grafts around a self reinforced polyglycolic acid mould in rabbits. Scand J. Plast. Reconstr. Surg. 28: 81-86, 1994

69. Sims CD, Butler PEM, Casanova R, Lee BT, Randolph MA, Lee WPA, Vacanti CA, Yaremchuk MJ: Injectable cartilage using plyethylene oxide polymer substrates. Plast. Reconstr. Surg. 98: 843-850, 1996

70. Skoog T: The use of periosteum and Surgicel for bone restoration in congenital clefts of the maxilla. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 1: 113-130, 1967

71. Skoog T, Ohlsen L, Sohn SA: Perichondrial potential for cartilagenous regeneration. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 6: 123-125, 1972

72. Skoog T, Ohlsen L, Sohn SA: The chondrogenic potential of the perichondrium. Chir. Plastica (Berl). 3: 91, 1975

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

73. Skoog, T, Johansson SH: The formation of articular cartilage from free perichondrial grafts. Plast. Reconstr. Surg. 57: 1-6, 1976

74. Skoog V, Widenfalk B, Ohlsen L, Wasteson A: The effect of growth factors and synovial fluid on chondrogenesis in perichondrium. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 24: 89-95, 1990

75. Sohn SA, Ohlsen L: Growth of cartilage from a free perichondrial graft placed across a defect in a rabbit's trachea. Plast. Reconstr. Surg. 53: 55-60, 1974

76. Takato T, Harii K, Nakatsuka T, Ueda K, Ootake T: Vascularised periosteal grafts: An experimental study using two different forms of tibial periosteum in rabbits. Plast. Reconstr. Surg.78: 489-497, 1986

77. Tanzer RC: Total reconstruction of the auricle: the evolution of a plan of treatment. Plast. Reconstr. Surg. 47: 523-533, 1971

78. Ten Koppel PGJ, van Osch GJVM, Verwoerd CDA, Verword-Verhoef HL: Efficacy of perichondrium and a trabecular demineralized bone matrix for generating cartilage. Plast. Reconstr. Surg. 102: 2012-2020, 1998

79. Thaller SR, Kim S, Tesluk H, Kawamato H: The split calvarial bone graft donor site: the effects of Surgicel and hydroxyapatite impregnated with collagen. Ann. Plast. Surg. 25: 435-439, 1990

80. Thilander B, Stenström S: Bone healing after implantation of some hetero and alloplastic materials. An experimental study on guinea pig. Cleft Palate J. 7: 540-549, 1970

81. Thilander B, Stenström S: Maxillary growth after implantation of Surgicel in clefts of maxilla. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 8: 52-57, 1974

82. Thorogood P: In vitro studies on skeletogenic potential of membrane bone periosteal cells. J. Embryol. Exp. Morphol. 54: 185-207, 1979

83. Upton J, Sohn SA, Glowacki J: Neocartilage derived from transplanted perichondrium: What is it? Plast. Reconstr. Surg. 68: 166-174, 1981

84. Vervoerd CDA, Adriaansen FCPM, van der Heul RO, Vervoerd-Verhoef HL: Porous hydroxyapatite-perichondrium graft in cricoid reconstruction. Acto Otolaryngol. 103: 496-502, 1987

85. Wasteson A, Ohlsen L: Biosynthesis of chondroitin sulphate in cartilage regenerated from perichondrium. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 11: 17-22, 1977

86. Wlodarski KH: Normal and heterotopic periosteum. Clin. Orthop. Rel. Res. 241: 265-277, 1988

87. Yılmaz S, Erçöçen AR, Can Z, Yenidünya S, Edalı N, Yormuk E: Viability of diced, crushed cartilage grafts and the effects of Surgicel (oxidized regenerated cellulose) on cartilage grafts. Plast. Reconstr. Surg. 108: 1054-1062, 2001

88. Yotsuyanagi T, Urushidate S, Watanabe M, Sawada Y: Reconstuction of a three dimensional structure using cartilage regenerated from the perichondrium of rabbits. Plast. Reconstr. Surg. 103: 1120-1123, 1999