

## FLEKSÖR TENDON KESİLERİNDE AMNİOTİK ZARIN KULLANIMI: TAVUKLARDA DENEYSEL MODEL

*Fahir DEMİRKAN\**, *Nagehan ÇOLAKOĞLU\*\**, *Özkan HEREK\*\*\**, *Gürkan ERKULA\**

### ÖZET

**Giriş:** Bu çalışmanın amacı amniotik membranın el cerrahisinde ve tendon cerrahisinde uzun süreli bir bioprotez olarak kullanılabilirliğini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Kontrol grubunda fleksör kılıf eksize edildi ve fleksör digitorum profundus tendonu kesildi ve uç uca dikildi. Grup 2'de fleksörkılıf açılarak FDP kesisi yaratıldı, kılıf ve tendon dikildi. Grup 3- Tendon kılıfı eksize edildi, tendon kesisi tamir edilerek üzeri amniotik zarla kapatıldı. 3, 6, 12. Haftalarda eşit sayıda tavuk öldürülerek histolojik inceleme uygulandı.

**Bulgular:** Histolojik kesitler yapışıklık oluşumunda amnion zarı ile örtülen örneklerde yapışıklık oluşumu diğer iki gruba göre anlamlı ölçüde az olarak bulundu ( $p < 0.05$ ).

**Tartışma:** Tendon tamiri modelinde, amniotik zarın zaman içerisinde tamamıyla yok olduğunu ve civardan gelen büyük olasılıkla epitenon kaynaklı hücrelerden oluşan bağ dokusuna dönüştüğü saptadık. Zar tendonu tamamen sardığı için dış kaynaklı hücrelerin yol açtığı erken dönemdeki tendon yapışıklığı engellenmektedir. Amniotik zarın kolay ve ucuz olarak elde edilebilmesi, bu zarın yapışıklıkların önlenmesi ve oluşan yapışıklıkların tedavisinde etkili olduğunu gördük.

**Anahtar Kelimeler:** *Fleksör Tendon, Onarım, Rekonstrüksiyon, Adezyon, Amniotik Membran.*

### SUMMARY

USAGE OF AMNIOTIC MEMBRANE FOLLOWING FLEXOR TENDON REPAIR: AN EXPERIMENTAL STUDY IN CHICKENS

**Introduction:** Aim of our study is to investigate the use of amniotic membrane as a long term bioprosthesis in hand surgery.

**Material and Methods:** Flexor tendon sheath is excised and tendon was repaired in the control group. In Group 2 both flexor tendon and its

sheath was repaired. In Group 3, the repaired tendon was covered with amniotic membrane. Histological evaluation of the repaired tendons were done at third, sixth and twelfth weeks.

**Results:** Histologic evaluation of the specimens revealed that tendon repairs covered with amniotic membrane have significantly reduced amounts of adhesion when compared with the other groups ( $p < 0.05$ ).

**Discussion:** In the tendon repair model, the amniotic membrane is completely resorbed by time and is replaced with connective tissue cells of extrinsic origin. Amniotic membrane as it completely wraps around the tendon, tendon adhesion due to ingrowth of such extrinsic cells are prevented. The usage of amniotic membrane in prevention and treatment of adhesions should always be kept in mind because of its low cost and easy preparation.

**Key Words:** *Flexor Tendon, Repair, Reconstruction, Adhesion, Amniotic Membrane.*

### GİRİŞ

Fleksör tendon yaralanmalarında özellikle Zone 2 yaralanmalarında meydana gelen yapışıklıklar elin istenilen fonksiyonuna kavuşamamasına yol açar. Tendon iyileşirken çevreleyen yumuşak dokulardaki fibroblastların tendon uçlarına göçü sonrasında ortaya çıkan onarım dokusu ile yapışıklık oluşmaktadır<sup>1</sup>. İyileşen tendon ve yaranın geri kalan kısmı arasında potansiyel yapay engel olarak pek çok materyal denenmiştir. Paratenon<sup>2</sup>, kan damarları<sup>2</sup>, periton<sup>3</sup>, kollajen zarlar<sup>3</sup>, fasyal greftler<sup>2,4</sup>, erkeklerde tunika vajinalis<sup>5</sup>, Millipore sellulöz tüpler<sup>2</sup>, silastik zarlar<sup>2</sup>, polietilen zarlar<sup>2,6</sup> tendon yapışmasını önlemeye yönelik çeşitli zamanlarda kullanılan mekanik engellerdir.

Davis, 1910 yılında fetal zarların deri yerine kullanılmasını rapor etmiştir<sup>7</sup>. Amniotik zar mesane rekonstrüksiyonunda<sup>8</sup>, safra yolu tamirinde<sup>8</sup>, cerrahi sonrası pelvik yapışıklıkların giderilmesinde<sup>7</sup>, radikal

\* Yrd. Doç. Dr., Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Denizli.

\*\* Yrd. Doç. Dr., Patoloji Anabilim Dalı Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Denizli.

\*\*\* Yrd. Doç. Dr., Pediatrik Cerrahi Anabilim Dalı Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Denizli.

vulvektomi sonrasında epitelizasyon amacıyla<sup>7</sup>, ağız boşluğu rekonstrüksiyonunda<sup>7</sup> ve en yaygın olarak da ülser<sup>9</sup> ve yanık tedavisinde örtü<sup>7</sup> olarak kullanılmıştır. Artritlik eklemlerde interpozisyon artroplastisi amacıyla da kullanılmıştır.<sup>10</sup> Amniotik zar işlenmiş ve taze donmuş olarak kullanılabilir<sup>7</sup>. Bu çalışmanın amacı amniotik membranın el cerrahisinde ve tendon cerrahisinde uzun süreli bir bioprotez olarak kullanılabilirliğini araştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Taze insan plasentası erken membran rüptürü olmayan annelerden doğum sırasında alındı. Mekonyuma bulaşmış veya postmatur plasentalar atıldı. Amniotik zar kotilodondan küt disseksiyonla ayrıldı. Amniotik zar sodyum hipoklorit ile yıkanarak Dino metoduna uygun olarak hazırlandı. Amikasin sülfat solüsyonu içeren cam şişelerde 4 derecede 24 saat süreyle saklandı. Kullanımdan evvel zarlardan kültür alındı ve sterilite kanıtlandı.

72 adet beyaz 1 yaşında leghorn cinsi tavuk deneyimizde model olarak kullanıldı. Tavukların parmak fleksör sistemi subkutan dokuları, tendon kılıfı, puley mekanizması ve derin-yüzeyel fleksör ayrımı ile anatomik olarak insana benzediğinden model olarak seçildi<sup>11</sup>.

Tavuklara 50 mg/kg intramuskuler Ketamin HCL ile anestezi uygulandı. Cerrahi girişim 3X loop büyütme ile uygulandı. Sağ ayağın uzun parmağı deney grubu kabul edilirken, sol ayak uzun parmakta sham operasyonu olarak cilt-cilt altı açıldı ve kapatıldı. Turnike altında Zone 2 üzerinde volar zig-zag insizyon yapıldı. Fleksör kılıf açıldıktan sonra fleksör digitorum superfisiyalis parmak fleksiyondayken kesildi ve uçlarının kılıfın açıldığı yerden uzaklaşması sağlandı.

Tavuklar 3 gruba ayrıldı: Grup 1-kontrol grubunda fleksör kılıf eksize edildi ve fleksör digitorum profundus tendonu kesildi ve 6/0 prolene ile modifiye Kessler yöntemi kullanılarak dikildi. Grup 2'de fleksör kılıf açılarak FDP kesisi yaratılarak dikildi. Kılıf ise 7/0 prolene ile dikildi. Grup 3'de fleksör kılıf eksize edildikten sonra FDP kesilerek dikildi ve 8 x 10 mm büyüklüğündeki amniotik zar pürtüklü yüzü içe, parlak yüzü dışa gelecek şekilde tendonu üzerine çepeçevre yayıldı. Proksimalde ve distalde kesiden uzak noktalarda 7/0 prolene ile amniotik zar tendona dikildi.

Deney yapılan ayaklar parmaklar semifleksiyonda 3 hafta süreyle alçıda tutuldu. Her gruptan 8'er tavuk 3., 6. ve 12. haftalarda öldürüldü. Doku blokları formalinde fikse edildikten sonra kemik

dekalsifiye edildi. Takiben, yatay ve uzunlamasına kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eosin ve Van Gieson boyası ile boyandı.

Tendonun iyileşmesi, tendon kılıfı ve yapışıklıklar değerlendirildi. Yapışıklıklar değerlendirilirken Tang sınıflandırılması kullanıldı<sup>12</sup> (Tablo I). Histolojik non-parametrik veriler Kruskal-Wallis ANOVA, Mann Whitney-U yöntemleriyle değerlendirildi.

Tablo I

### Histolojik Değerlendirmede Yapışıklıkların Evrelendirme Kriterleri

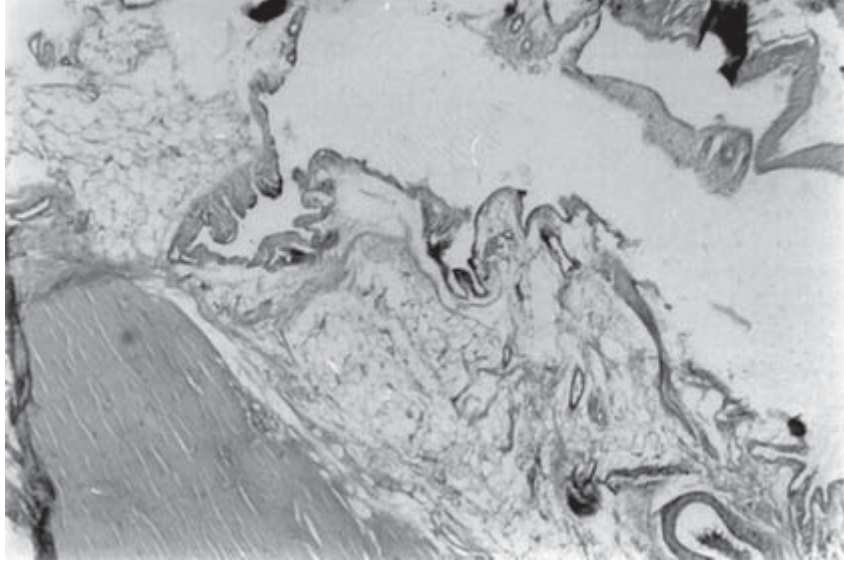
Puan	Yapışıklık Özellikleri
0	Nicelik
1	Yapışıklığın olmaması
2	Az sayıda dağılan lifler
3	Filament sayısında artış
0	Çok sayıda lif
0	Nitelik
1	Yapışıklık olmaması
2	Düzenli,uzamış ve ince lifler
3	Düzensiz,karışık ve kısalmış lifler
0	Yoğun ve lifler halinde değil
0	Yapışıklığın Evrelendirilmesi
2	Yapışıklık yok
3,4	Az miktarda yapışıklık
5,6	Orta miktarda yapışıklık
	Ciddi yapışıklık

## BULGULAR

Sham grubunu oluşturan volar flapın kaldırdığı fakat kılıfa dokunulmayan örneklerde, kılıfta reaksiyon olmadığı sadece mikroskopik kalınlaşma ve artmış damarlanma olduğu görülmektedir.

Tendonun üzerinin amnionla kaplanması ve kılıfın eksizyonu sonrasında yeni kılıfın 3 haftada oluştuğu gözlemlendi. Makroskopik olarak tendonlar içerisinde kolaylıkla hareket ettirilebiliyordu. Tendonlarda nekroz yoktu ve normal görünümdeydi.

3 haftalık örneklerde, görülen ortak özellik yaygın enflamatuar hücrelerdi. Zarın eksize edildiği olgularda çevreye yapışıklık ve granülasyon dokusu vardı. Kılıf kapatılan olgularda epitenonda kalınlaşma gözlenmekteydi ve enflamasyon zar çevresindeydi. Amniotik zarla kaplanan örneklerde (Resim 1), zarda kalınlaşma ve damarlanmada artış vardı. Epitenonda bir kalınlaşma görülmemekte, endotenondaki hücrelerde artış göze çarpmaktaydı.



**Resim 1:** Longitudinal kesitlerde, 3 haftalık örnekte, tendonu örten amnion zarı görülmektedir (40x-HE).

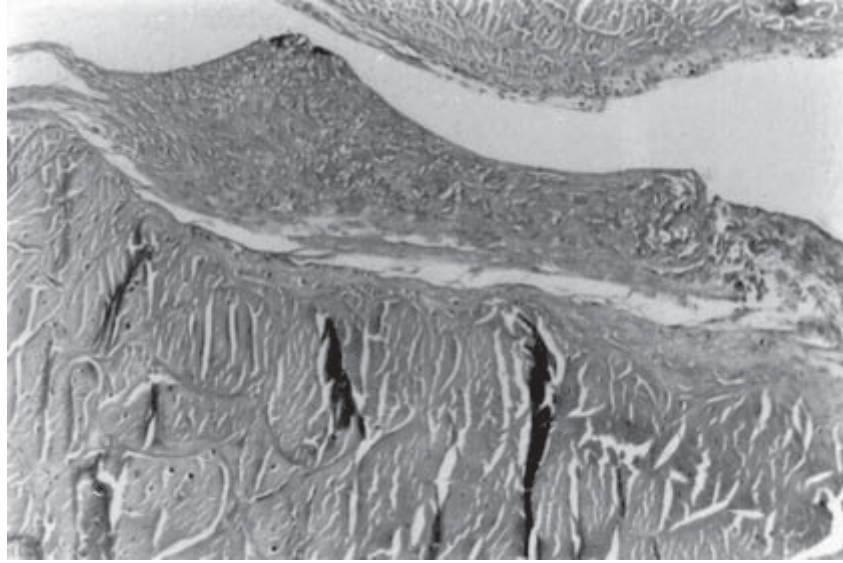


**Resim 2:** Longitudinal kesitte, 6 haftalık amnion zarı ile rekonstrüksiyon yapılan örnekte tendonda iyileşmenin tamamlanmadığı, liflerin düzensiz seyrettiği görülmektedir. Epitenonun kalınlığında artma ve damarlanmada artış vardır. Yapışıklık izlenmedi (20x-HE).

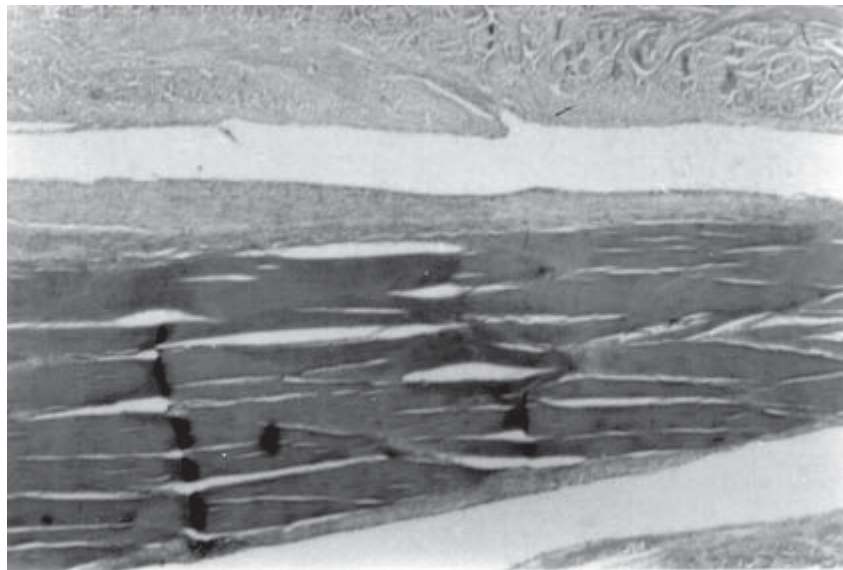


6 haftalık olgularda, zarın eksize edildiği enflamasyonun azaldığı ve belirgin yapışıklık olduğu saptandı. Zarın dikildiği bazı olgularda epitenon ile kılıf arasında kollajen liflerin olduğu görüldü. 6 Haftalık amniotik zar ile kaplanan örneklerde, bağ dokusundan oluşan dış zarda kalınlaşmanın belirgin olduğu, amniotik zarı çevreleyen epitel tabakanın yok olduğu görülmekteydi. Epitenon kalınlığı artmıştı. Tendon kesisi bölgesinde, kollajen lifler düzensiz ve sayıca artmıştı (Şekil 2,3).

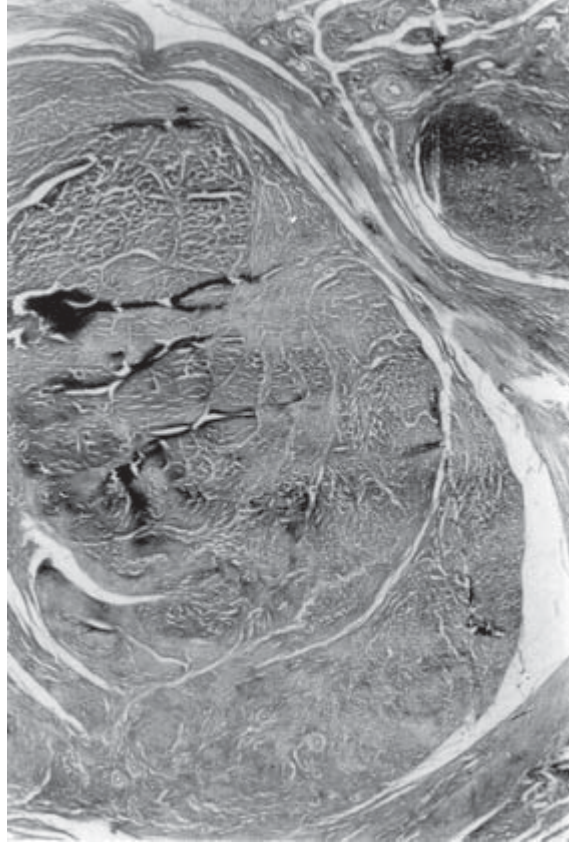
12 haftalık olgularda, amniotik zarın bağ dokusu hücrelerinden oluşan bir kılıf haline dönüştüğü, tendonun dış yüzeyinde oluşan bağ dokusunun kalınlığının azaldığı ve tendonun tamamen iyileştiği gözlemlendi (Şekil 4). Kılıfın dikilmediği örneklerde kollajen liflerde belirgin bir dizilim bozukluğu ve fibroblastların kesi bölgesine ilerlemesi görülmüyordu. Epitenonun etrafındaki boşluk kapanmış görünümdeydi ve bu doku damar yapılardan zengindi (Şekil 5).



**Resim 3:** Transverse kesitte 6 haftalık amniotik zarı kullanılan örnekte, ince bir epitenon tabakası ve onun üstünde amniotik zarın değişimi ile oluşan tendonu örten bağ dokusu görülmektedir (40x-HE).



**Resim 4:** Transverse kesitte, tendon kılıfının kapatıldığı, 12 haftalık örnekte tendon ile kılıf arasındaki mesafenin orta derecede yapışıklık ile kapandığı gözlenmektedir (20x-HE).



**Resim 5:** Longitudinal kesitte, 12 haftalık örnekte, tendon liflerinin düzenli görüldüğü, epitenonda kalınlaşmanın azalmakla beraber devam ettiği, yapışıklığın olmadığı gözlenmektedir (10x-Masson).

12 haftalık dönem sonucunda oluşan yapışıklıklar karşılaştırıldığında, Grup 1-Kılıfın tamir edilmediği grupta  $5.2 \pm 0.6$ , Grup 2-Kılıfın tamir edildiği örneklerde  $4.0 \pm 0.3$ , Grup 3- Tendonun amniotik zarla örtüldüğü örneklerde  $2.2 \pm 0.5$  ortalama yapışıklık evreleri saptandı. Histolojik kesitler yapışıklık oluşumunda amnion zarı ile örtülen örneklerde yapışıklık oluşumu diğer iki gruba göre anlamlı ölçüde az olarak bulundu ( $p < .05$ ).

### TARTIŞMA

Zone 2 fleksör tendon kesisinin primer tamiri sonrasındaki başarısızlığın en büyük nedeni, tendon kaymasını sınırlayan yapışıklıkların meydana gelmesidir. Uzun yıllarca, iyileşme döneminde tamir edici fibroblastların sağlanması için, yapışıklık meydana gelmesinin gerekli olduğu kabul edilmiştir<sup>1,13</sup>. Tendonun intrinsek tamir yeteneğinin gösterilmesi ve beslenmenin diffüzyonla yapılabildiğinin ortaya konması, iyileşme için yapışıklığın gereksiz olduğunu düşündürmektedir<sup>13</sup>. Dijital kılıfı sağlam olan

kesilerde veya tendon uçlarının geriye çekildiği durumlarda yapışıklığın meydana gelmemesi yoğun bağ dokusu skarı oluşturacak hücrelerin tendon kılıflarında olmadığına kanıtıdır<sup>1</sup>.

Fleksör tendon iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalarda iki teori ortaya konmaktadır. İlki, çevre dokulardan kaynaklanan fibroblastların tendon kesisine doğru ilerlemesidir. Tek yara, tek iyileşme dokusu prensibine göre, kan akımıyla gelen enflamatuar hücreler ve çevre dokulardan gelen multipotansiyel hücreler sayesinde tendon iyileşmesi gerçekleşmektedir<sup>1</sup>. Diğer teori ise, tendonun kendini yenileme potansiyeline sahip olmasıdır. Yapılan in vitro çalışmalarda, tendon kesilerinin iyileştiği gösterilmiştir<sup>13</sup>.

Tavuk fleksör tendonların %90'ında kesi yapılan in vitro modellerde tendon iyileşmesinin çoğunlukla kalınlığı artan epitenondan başladığı gösterilmiştir<sup>13</sup>. Bizim çalışmamızda da epitenonda kalınlaşmanın 3.cü ayın sonunda bile devam ettiği görülüyordu.

Yapışıklığın nedeni olarak dikiş, kılıfın eksizyonu, ve hareketsizlik gibi faktörler sıralanmaktadır<sup>14</sup>. Bu faktörlerden ikisi beraber olduğunda orta derecede

yapışıklık oluştuğu, hareketsizliğin tek başına hafif derece yapışıklığa yol açtığı gösterilmiştir<sup>14</sup>. Çalışmamızda dikişlerin üzeri kapatıldığından ve amnion kılıf olarak kullanıldığından iki faktör devre dışı bırakılmaktadır. Kılıfın tamirinin ideal bir engel olarak, normal ortamı sağlayacağı öngörülmektedir<sup>15</sup>. Tendon kılıfının primer kapatılması tendonun geçtiği tünelin daralmasına yol açabilir. Ayrıca cerrahi veya yaralanma sonrası tendonun bir parçası eksilebileceğinden, kılıfın tamiri yeterli olmayabilir. Bu yüzden, araya engel olarak çeşitli materyaller konularak, kesilen tendonlar ayrı bir kompartmana ayrılmaya ve bu sayede yapışıklıklar önlenmeye çalışılmıştır. Buna karşı çıkanlar ise, yapışıklıkların engelin etrafında dönerek kesilen yere ulaştığını düşünmektedirler<sup>16</sup>. Kullanılacak materyaller biyolojik veya sentetik olabilir.

Parietal periton, fasyal parçalar veya ekstansör retinakulumundan alınan greftlerle kılıf rekonstrüksiyonunun ekstra insizyona yol açması ve fonksiyonel dokunun alınması gibi dezavantajları vardır. Sentetik greftler erken dönemde gelişen yapışıklığı önlediklerinden, sonuç olarak tendonun daha iyi kaymasını sağlarlar. Bununla birlikte, tendon yaralanmalarının açık el yaralanmaları olduğunu düşünürsek, sentetik greftlerin yabancı cisim gibi davranacaklarını unutmamamız gerekir. Geçmişteki örneklerinde iki aşamalı cerrahi uygulaması<sup>1</sup> olan bu örneklerde amniotik zarın üstünlüğü zarın tamamıyla kaybolması, yeniden bir girişime ihtiyaç duyulmamasıdır.

İnsan amniotik zarı etkili bir biyolojik örtü olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Üçüncü dünya ülkelerinde bu materyalin ucuz olması da her tür yarada yaygın olarak kullanımını arttırmaktadır.

Yapılan çalışmalar nakledilen amniona karşı istenmeyen bir reaksiyonun beklenmediğini göstermiştir. İnsan amnion hücrelerinin subkutan yerleştirilmesi sonrası bağışıklık test edildiğinde hiçbir gönüllüde akut rejeksiyona ait klinik bulgu gözlenmemiştir<sup>7</sup>. Amniotik zarın bir özelliği de, dış parlak yüzeyinin yapışmayan, iç mat ve pürüklü yüzeyinde yapışan nitelikte olmasıdır. Bu yüzden amniotik zar tendon kılıfı olarak değil, tendon yüzeyini kaplayarak kullanılmıştır. İnce bir zar olduğundan tendonun kılıf içerisinde kaymasına engel olmuyordu. İnsan amniotik zarı, mikrovasküler interpozisyonel greft olarak kullanılmış ve civar dokuyla birleştiği gözlenmiştir<sup>17</sup>. Tendon kesisi modelinde, amniotik zarın zaman içerisinde tamamıyla yok olduğunu ve civardan gelen büyük olasılıkla epitenon kaynaklı hücrelerden oluşan bağ dokusuna dönüştüğü

saptadık. Zar tendonu tamamen sardığı için dış kaynaklı hücrelerin yol açtığı erken dönemdeki tendon yapışıklığı engellenmektedir.

Yumuşak dokunun ciddi hasara uğradığı, yabancı madde ile kontamine olduğu, kemiği de ilgilendiren kompleks yaralanmalarda ve tendonun bir bölümünün hasara uğradığı durumlarda amniotik zar bir kılıf olarak kullanılarak tendonun civar dokulara yapışması engellenebilir. Ayrıca amniotik zarın yapışıklık meydana gelmiş olgularda debridman ve tenoliz sonrası tekrar yapışıklık meydana gelmemesi için kullanılabilir. Amniotik zarın diğer bir endikasyonu da pulley rekonstrüksiyonu olabilir. Amniotik zarın yeniden düzenlenme ve kalıcı olmama özellikleri nedeniyle el cerrahisinde kullanımı konusunda ileri çalışmalar yapılabilir.

#### KAYNAKLAR

1. Peacock EK. Repair of tendons and restoration of gliding function. In: Peacock EK. Ed. Wound repair, WB Saunders Company, 1984, 263-331.
2. Peterson WW, Manske PR, Dunlap J, Horwitz DS, Kahn B. Effects of various methods of restoring flexor sheath integrity on the formation of adhesions after tendon injury. J Hand Surg 1990; 15A: 48-56.
3. Oei TS, Kloppert PJ, Spaas JA, Buma P. Reconstruction of the flexor tendon sheath: An experimental study in rabbits. J Bone Joint Surg 1996; 21-B: 72-83.
4. Kessler FB, Epstein MJ, Lannik D, Maher D, Pappu S. Fascia patch graft for a digital flexors sheath defect over primary tendon repair in the chicken. J Hand Surg 1986; 11 A: 241-245.
5. Wilmoth CL. Tendinoplasty of the flexor tendons of the hand. J Bone Joint Surg 1937; 19: 152-156.
6. Hanff G, Hagberg L. Prevention of restrictive adhesions with expanded polytetrafluoroethylene diffusible membrane following flexor tendon repair: An experimental study in rabbits hand. J Surg 1998; 23A: 658-664.
7. Krishnan R, Coombs R, Wright N. Amniotic arthroplasty- a biological alternative. In: Coombs R, Gristina A, Hungerford D. Ed. Joint replacement: State of art, Mosby, 1990, 31-37.
8. Avanoğlu A, Erdener A, Ulman I, Herek O, Özcan C, Özdemir N. Amniotic membrane as a bioprosthesis: Is it a permanent material? Turk J Med Res 1994, 12 (5), 224-227.
9. Boc SF, Chairman EL, Freed EL. Indications for the use of amnion and chorion in Pediatric medicine and surgery. The Journal of Foot Surgery, 1985; 24: 236-242.
10. Vishwakarma GK, Khare AK. Amniotic arthroplasty for tuberculosis of the hip: A preliminary clinical study. J Bone Joint Surg 1986; 68-B: 68-74.
11. Lindsay WK, Thomson HG. Digital flexor tendons: An experimental study, Part 1. The significance of each component of the flexor mechanism in tendon healing. Br J Plast Surg; 12: 289-319.

12. Tang JB, Shi D, Zhang QG. Biomechanical and histological evaluation of tendon sheath management. *J Hand Surg* 1996; 21A: 900-908.
13. Gelberman RH, Manske PR, Berg JV, Lesker PA, Akeson WH. Flexor tendon repair in vitro: A comparative histologic study of the rabbit, chicken, dog and monkey. *J Orthop Res* 1984; 2: 39-48.
14. Matthews P, Richards H. Factors in the adherence of flexor tendon after repair: An experimental study in rabbits. *J Bone Joint Surg* 1976; 58-B: 230-236.
15. Manske PR. Flexor tendon healing. *J Bone Joint Surg* 1988; 13-B: 237-245.
16. Potenza AD. Critical evaluation of flexor tendon adhesion formation within artificial digital sheaths. *J Bone Joint Surg* 1963; 45-A: 1217-1233.
17. Gray KJ, Shenq SM, Engelmann UH. Use of human amnion for interpositional grafts. *Plast Reconstr Surg* 1987; 79: 778-785.