

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

PROF. DR.NEDİM SAVACI
ANABİLİM DALI BAŞKANI

**KANIN İNVİVO MODELDE OTOGREFT VE
ALLOGREFT CD-HA UYGULANMIŞ FLEKSÖR
TENSON REKONSTRÜKSİYONUNUN HİSTOLOJİK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. FURKAN EROL KARABEKMEZ

TEZ DANIŞMANI

DOÇ.DR.ZEKERİYA TOSUN

KONYA 2009

1. İÇİNDEKİLER

DİZİN

SAYFA NUMARALARI

1. İçindekiler	II
2. Kısaltmalar	III
3. Şekil dizini	IV
4. Giriş ve amaçlar	1
5. Genel Bilgiler	4
6. Araştırma dizaynı ve metot	23
7. Bulgular	31
8. Tartışma	39
9. Sonuç	49
10. Özet	50
Anahtar Sözcükler	51
11. Abstract	51
Keywords	52
12. Kaynaklar	53

2. KISALTMALAR

cd-HA carbodiimide derived hyaluronic acid

DNA deoksiribonükleikasit

EDC %0,25 1-etil 1-3-(3-dimetil amino propil) carbodiimide hidroklorid

FDP fleksör digitorum profundus

FDS fleksör digitorum superficialis

FPL fleksör pollisis longus

HA hyaluronic acid

HE hematoksilen eozin

IP interphalangeal

MCP metacarpophalangeal

mRNA messenger ribonükleik asit

NHS %0,25 N-Hydroxysuccinimide

PIP proksimal interphalangeal

PL peroneus longus

TEM tarayıcı elektron mikroskopisi

TGF tranforming growth factor

3. ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Fleksör kılıf içinde FDP-FDS aprazlaŐması (2).

Şekil 2. Parmakta feksör kılıfın komponentleri (2).

Şekil 3. A4 pulleyden geçen enine kesitte fleksör tendon mekanizması ve sinovyum gösterilmektedir (3).

Şekil 4. Tendonun beslenmesi (4).

Şekil 5. Vinkula ve fleksör tendonlar. VLS, vinculum longum superficialis, VLP, vinculum longum profundus, VBS, vinculum breve superficialis, VBP, vinculum breve profundus (1).

Şekil 6. Elde fleksör tendon yaralanmaları zonları (5).

Şekil 7. Boyes'un preoperatif tendon greftlemesi endikasyonu sınıflaması (6).

Şekil 8. Köpek fleksör tendon anatomisi.

Şekil 9. Köpekte tendon greftleme için cerrahi prosedür ve sütün tekniği.

Şekil 10. Gridli lamda tendon kesitinin görünümü

Şekil 11. Allojen, otojen, cd-HA uygulanmış ve uygulanmamış tendon preperatlardan 400 büyütme altında sayımın yapıldığı resimler

Şekil 12. Allojen ve otojen gruplarda cd-HA ve kontrol gruplarında fibroblast sayıları ve çift kuyruklu T testi ile karşılaştırma sonucu p değerleri. * tüm allojen ve tüm otojen grupların karşılaştırılması sonucu p değeri.

Şekil 13. İntrasinovyal allograft örneklerindeki ortalama tenosit sayılarının karşılaştırılması

Şekil 14. Ekstrasinovyal otogreft örneklerindeki ortalama tenosit sayılarının karşılaştırılması

Şekil 15. cd-HA ile muamele edilen otogreft ve allograft tendonların tenosit sayılarının karşılaştırılması

Şekil 16. Kontrol grubu otogreft ve allograft tendonlarının tenosit sayılarının karşılaştırılması

Şekil 17. Tüm allograft tendonlar ile tüm otogreft tendonların tenosit sayısı açısından karşılaştırılması

Şekil 18. A. Kopmuş tendon uçları arasında skar oluşumu. B. Tendon proksimal ucunda daha az yapışıklık mevcut.

Şekil 19. A. Cd-HA uygulanmış ekstrasinovyal otogreft tendon, nispeten yapışıklığı az ve düz bir yüzey sergilemiş. B. Kontrol otogreft C. Cd-HA uygulanmış intrasinovyal allogreft tendon, parlak düz yüzeye sahip, adezyon az. D. Kontrol allogreft tendon.

Şekil 20. A. Normal tendon, HE boyama ile görünüm. B. Cd-HA uygulanmış greft (allogreft). C. Kontrol greft (allogreft) 100X

Şekil 21. Proksimal alıcı tendon ile allograft birleşme yeri. Noktalı çizginin üst kısmı alıcı alan, alt kısmı greft bölgesi. Prolifere olup göç eden tenositler görülmekte (200X büyütme).

Şekil 22. Pilot çalışma sonucu cd-HA jel uygulanan parmaklarda fleksiyon için gereken güç salin grubuna göre daha azdı

Şekil 23. cd-HA uygulanmış parmaklarda friksiyon gücü kontrol grubuna göre daha azdı.

4. GİRİŞ VE AMAÇ

Fleksör tendon hasarı sonrası parmak fonksiyonunun geri kazanılması özellikle zon II de çok zordur. Primer onarım sonrası tendon rüptürü meydana geldiğinde durum daha da zorlaşır. Bu gibi vakarda tendon grefti parmak fonksiyonunun restorasyonunda çok önemli bir role sahiptir. Maalesef klinik çalışmalar tendon greftlemesi sonrasında restrüktif adezyon ve kötü dijital fonksiyonun çok sık olduğunu göstermiştir. Her ne kadar deneysel çalışmalar intrasinovyal tendonun donör olarak kullanılmasıyla daha iyi sonuçlar elde edildiğini göstermişse de klinikte ekstrasinovyal tendonların kullanımı daha siktir. Bununla birlikte otogreft reksontrüksiyon için uygun intrasinovyal tendon kaynakları sınırlıdır. Fleksör tendon rekonstrüksiyonu için allogreft kullanarak iki seanslı onarım çok az bildirilmiştir ve klinikte kullanımı çok nadirdir (7).

Bu konuda yapılan çalışmalar kayma direncinin tendon onarımı sonucunu etkileyen önemli bir faktör olduğunu göstermiştir (8). Yüksek kayma direnci yüksek adezyon formasyonuna yol açar. Aynı merkezde yapılan diğer çalışmalar ekstrasinovyal tendonların intrasinovyal tendona göre daha fazla kayma direncine sahip olduğunu göstermiştir (9). Bir başka çalışmada ekstrasinovyal tendon yüzeyinin “karbodiimid” den derive edilmiş hyaluronik asit (cd-HA) jelatin karışımına tabi tutulmasının etkileri araştırılmış, bu yöntemle yapılan tendon yüzey modifikasyonunun in-vitro modelde tendonun kayma yeteneğini arttırdığı gösterilmiştir (10). Ayrıca in-vivo modelde de otogreft ekstrasinovyal tendonun cd-HA ile muamele edildiğinde parmak fonksiyonunu arttırdığı gösterilmiştir (11). Bir başka çalışmada ise cd-HA jelatin ile yüzey modifikasyonunun intrasinovyal allogreftte de fonksiyon ve kayma direncini iyileştirdiği gösterilmiştir (12). Gerek allogreftlerde gerekse otogreftlerde HA' in tendon greftleri histolojisine bir etkisinin olup olmadığına dair bir çalışma yapılmamıştır.

Her ne kadar fleksör tendon greftleme normal hayvan modellerinde çalışılmış olsa da gerçek klinik durumu taklit eden fleksör tendon tamiri sonrası kopma modeli kullanılmamıştır. İdeal modellerde fleksör tendon ve kılıfında daha önceden meydana gelmiş yaralanmaya bağlı yara iyileşmesi ve skar formasyonu problemleri olmadığından gerçek patolojik ve biyomekanik şartlar sağlanmış olmaz. Alıcı alandaki skar dokusu gibi faktörler donör tendonun mekanik, biyolojik ve histolojik özelliklerini direk olarak etkileyecektir. Bundan dolayı fleksör tendon grefti araştırmasının kopmuş primer onarım oluşturulmuş hayvan modelinde yapılması hem kritik öneme sahiptir hem de klinik olarak daha güvenilirdir. Benzer çalışmalarla kıyaslandığında ön ayakların postoperatif yürümeye izin vererek ağırlık taşınması sağlandığında rüptür ve belirgin skar oluşumu kaçınılmazdır (13). Primer tendon onarımı çalışmalarında bu gibi sonuçlar başarısız sayılır. Bununla birlikte bu sonuç, daha kompleks tendon yaralanmaları için bir model olabilir ve tendon greftlemesi sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılabilir.

Bu çalışmadaki ana amacımız başarısız primer tendon onarımlı kaninin-vivo modelde tendon grefti ile onarım yapılırken yeni geliştirilen cd-HA jelatinin otojen ve allojen tendon greft yüzeylerine uygulanmasının tendon hücre sayısına dolayısıyla da histolojik olarak iyileşmesine etkisini araştırmaktır. Bu ana amaç çerçevesinde aşağıda sayacağımız hedeflere ulaşmayı planladık:

Hedef 1: Kanin in-vivo başarısız primer onarım sonrası otojen hazırlanan ekstrasinovyal tendon ile greftlemede cd-HA jelatin uygulanmasının tendon greftinin yaşayabilirliğine etkisinin gösterilmesi

Hedef 2: Kanin in-vivo başarısız primer onarım sonrası allojen hazırlanan intrasinovyal tendon ile greftlemede cd-HA jelatin uygulamasının tendon greftinin yaşayabilirliğine etkisinin gösterilmesi

Hedef 3: Kanin in-vivo başarısız primer onarım sonrası otojen ekstrasinovyal ve allojen intrasinovyal tendon ile greftlemenin tendon yaşayabilirliği açısından karşılaştırılması

Hedef 4: Kanin in-vivo başarısız primer onarım sonrası cd-HA jelatin yüzey modifikasyonunun ekstrasinovyal ve intrasinovyal tendon greftleri histolojisine etkisinin gösterilmesi

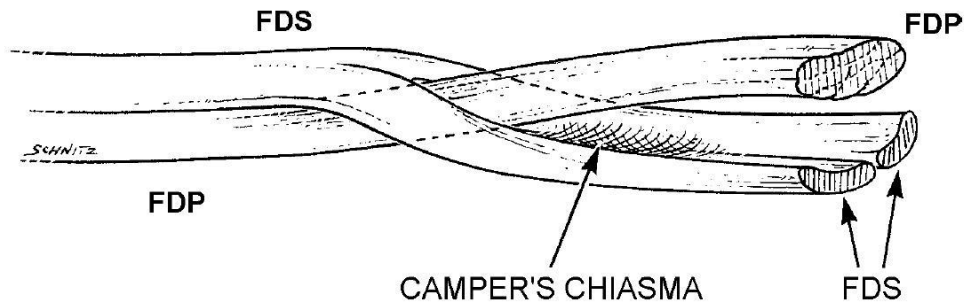
5. GENEL BİLGİLER

5.1. Fleksör tendon anatomi ve fizyolojisi

Birinci parmak ve diğer 4 parmağın ekstrinsik fleksiyonunu fleksör digitorum profundus (FDP), fleksör digitorum süperficialis (FDS) ve fleksör pollisis longus kasları yapar. Ön kolün distal üçte birlik bölümünde yüzeysel tendonlar (FDS) derin grubun (FDP) yüzeyselinde seyrederekler. 4. ve 5. parmak yüzeysel fleksörleri 3. ve 4. parmaklarınkinden daha yüzeyledirler.

Karpal tünelden çıkarılarken yüzeysel ve derin tendonlar kendi parmaklarına yönelerek ayrılırlar. Metakarpofalangeal seviyede fleksör tendonlar, fleksör tendon kılıfı (sheet) denilen sinovyum döşeli fibroosseoz tünellerinde seyretmeye başlarlar.

Derin ve yüzeysel tendon arasında özel bir anatomik ilişki vardır. Yüzeysel tendon fleksör kılıfa girerken profundusun volarindedir. Düzleşir ve A1 pulleyin sonuna yakın bir yerde uzunlamasına ikiye ayrılır. Daha sonra derin tendonun iki tarafından geçerek dorsalinde birleşir. Yüzeysel tendonun bu özel anatomik şekline 'Camper Kiazması' adı verilir (Şekil 1). Son olarak yüzeysel tendon tekrar radyal ve ulnar splitlere ayrılır ve bu splitler orta falanksin base'i ile orta kısmı arasına yapışır (2). Bu özel yapı derin tendonun bundan daha distal kesilerinde geriye kaçmasını engelleyebilir.



Şekil 1. Fleksör kılıf içinde FDP-FDS çaprazlaşması (2).

Derin fleksör tendonun seyri daha basittir. Fleksör kılıfa girerken tendon dorsaldedir. Ancak Camper kiazmasından volare geçer, en sonunda da distal falanksin proksimaline yapışır.

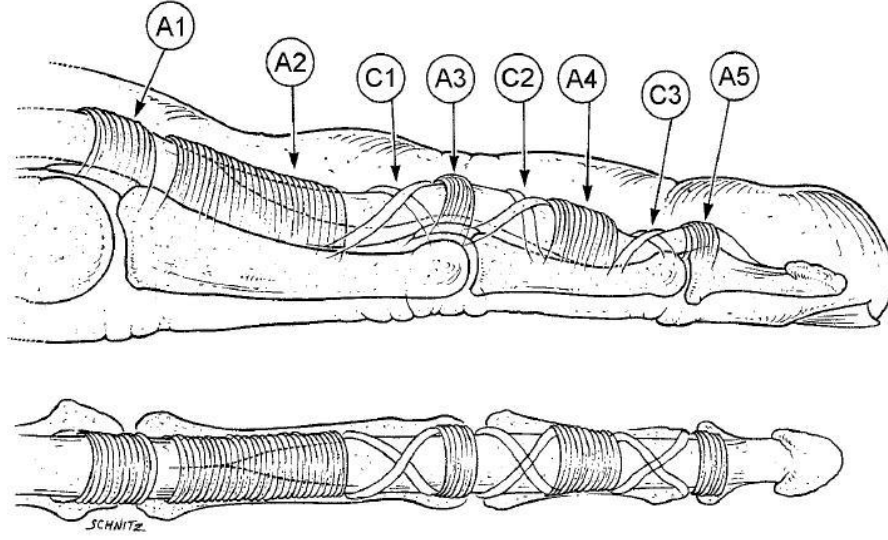
İçerilerindeki kollajen fibrillerinin intratendinoz dizilimindeki değişikliklerden dolayı hem derin hem yüzeysel tendonların şekilleri fibroosseoz kılıfa girerken değişir (14, 15) (16, 17).

5. parmak yüzeysel fleksörü eldeki muskülotendinoz birimlerin içinde en çok varyasyonu olanıdır (18) (19) (20).

5.1.1. Tendon kılıfı ve pulleyler

Elin tüm parmaklarının fleksör tendon kılıfı denen sinovyum döşeli fibroosseoz tünelleri vardır. Parmaklarda fleksör kılıf, distal palmar krizden başlar (metakarpal boyun) ve distal interfalangeal eklemden sonlanır (21). Pulley sistemi ile güçlendirilmiş kesintisiz sinovyal membranı vardır ve bu sinovyal membran kılıf içindeki her şeyi kaplar. Bu boşluğa giren her yapı, tendon, arter, ven veya sinir, visseral sinovyum tabakasıyla kaplanır (3). Kılıf 3 önemli göreve sahiptir. 1) tendona düz bir kayma yüzeyi sağlar, 2) retinaküler güçlendirici pulleyler fleksör tendonları falanksların volar yüzeyine yakın tutarak mekanik etkinliği maksimize eder ve 'bowstring' deformitesini engeller, 3) tendon beslenmesi için kapalı ortamda sinovyal sıvıyı sağlar (22). Fleksör tendon kılıfının iç yüzeyi çoğunlukla anlatıldığı gibi mükemmel düz bir yüzeye sahip değildir. Kılıfın içinde cepler vardır (23).

Genel olarak insan elinde bulunan pulleyler: palmar aponevroz pulley, 5 annüler pulley ve 3 krusiform pulley (24) (Şekil 2). 'Bowstringing'i engellemede ve mekanik etkinlikte en önemli pulleyler A2 ve A4 pulleyleridir (25-27).



Şekil 2. Parmakta feksör kılıfın komponentleri (2).

5.2. Histoloji

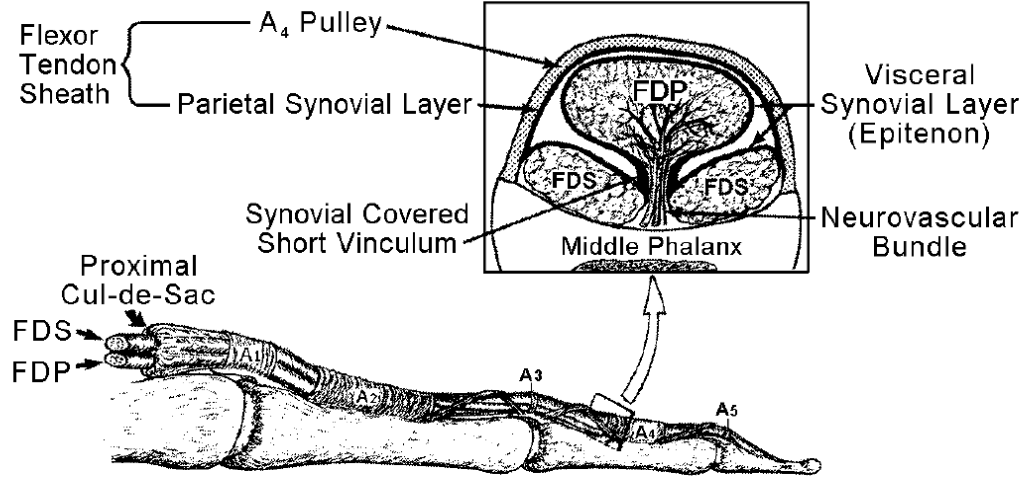
Tendonlar metabolik olarak aktif bağ dokusundan oluşan (%86 kollajen) ana yapı ve içinde az sayıda fibroblastlardan oluşur. Her tendonun içindeki tendon lifleri, ince bir bağ dokusu ile sarılı kollajen fibrilleri ve tenositlerden oluşur. Kesitlerde tendon histolojik farklılıklar gösterir. Pulleylere komşu maksimum friksiyonun olduğu alandaki tenositler daha kondrositik tipte hücelere farklılaşırlar.

Endotenon perimisyumun devamıdır ve distalde periosteumla devam edecektir. Kemik içindeki kollajen fibriller Sharpey'in perfore edici fibrillerine dönüşecektir (28).

Paratenon ise kılıfsız tendonları saran gevşek areolar vasküler dokudur. Uzun elastik fibriller ve tendon çalışırken beslenmesi için fazla miktarda damar içerir.

Fleksör tendon kılıfının histolojik ve ultrastrüktürel yapısını inceleyen çalışan Cohen ve Kaplan (3), kılıfın iki tabakalı olduğunu göstermişlerdir. Kılıfın duvarlarını oluşturan parietal sinovyum ve kılıf içinde tendonu saran epitenon ya da visseral sinovyum. Falanks tarafında

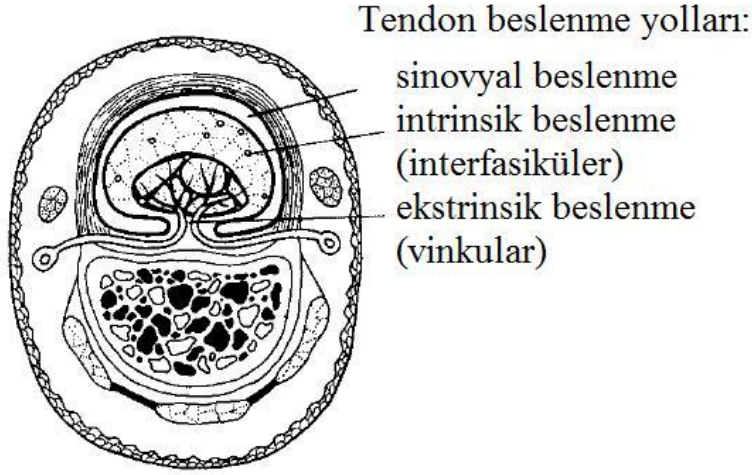
içinde vinkulanın da seyrettiği mezotenon ise bu iki tabakanın arasında bulunur (Şekil 3). Proksimalde “cul-de-sac”, distalde ise tendon insersiyosu bu tabakaların birleştiği yerlerdir (3).



Şekil 3. A4 pulleyden geçen enine kesitte fleksör tendon mekanizması ve sinovyum gösterilmektedir (3).

5.3. Tendon beslenmesi ve iyileşmesi

Tendonların intrinsik iyileşme yetenekleri vardır. İyileşme süreci vasküler perfüzyon ve sinovyal difüzyona bağlıdır. Ancak hangisinin daha önemli olduğu hala tartışmalıdır (Şekil 4). Birçok deneysel modelde tendon iyileşmesi çalışılmıştır. Tavuk, tavşan, köpek ve primatlar in vivo ve in vitro çok yaygın olarak kullanılmıştır. Her ne kadar her hayvan modelinin insanla bazı benzerlikleri olsa da, hala önemli sonuçlar ortaya çıkarabilecek farklar olduğu akılda tutulmalıdır ve in vitro hayvan deneylerinden in vivo insan durumu hakkında sonuca varırken çok dikkatli olmak gereklidir. İlk yayınlanan insan fleksör tendonu çalışmalarında dahi ekstrasinovyal ve intrasinovyal tendonlar birbirinden ayırt edilmemiştir. Bu nedenle tendon çalışmalarında kesin sonuca ancak uzun süreli klinik çalışmalar sonucunda varabiliriz.



Şekil 4. Tendonun beslenmesi (4).

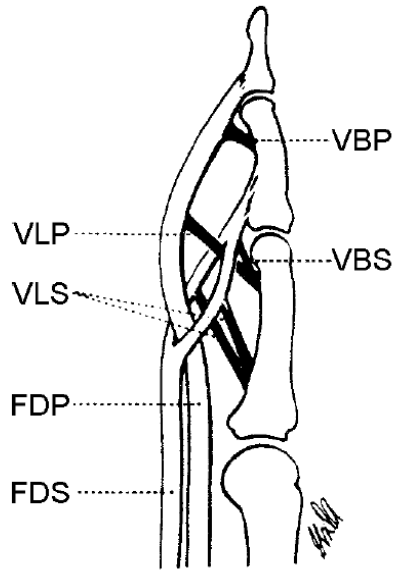
5.3.1. Tendonların kanlanması

İlk kez 1916'da Mayer fleksör tendonlarının beslenmesinin tarifini İngilizce literatürde yapmıştır (29). Tendonların kanlanmasının 3 kaynaktan olabileceğini söylemiştir. 1) muskulokutanöz bileşke, 2) kemik insersiyosu, 3) mezenterik vinkular damarlar. Ayrıca aynı çalışmada tendonun volar (sürtünmenin çok olduğu friksiyonal yüz) yüzdeki avasküler zonuna da dikkat çekmiştir. Daha sonra tendon içinde kendi arasında sıkça çapraz anastomoz yapan longitudinal intratendinöz vasküler ağ tarif edilmiştir (30, 31). Müteakip çalışmalarda kemik tendon bileşkesinden olan kanlanmanın tendonun sadece küçük bir kısmını beslediği ve vinkular sistemin mezotenonlarla tendonları segmental olarak beslediği gösterilmiştir (32). Daha sonra diğer çalışmalarda da vinkular sistemin önemi yine vurgulanmıştır (33, 34).

İlk anatomik çalışmalar hep fetüs, kadavra ya da amputasyon örnekleri gibi cansız dokularda yapılmıştır. İlk intravital tendon dolaşım çalışması ise 1969 da yapılmış ve hem intrasinovyal hem de ekstrasinovyal tendonların kanlanmasının segmental olduğu gösterilmiştir (35). Dahası tendonu paratenonundan ya da mezotenonundan ayıracak herhangi bir cerrahi müdahalenin, o segmentin devitalize olmasına sebep olacağı gösterilmiştir. Buna karşın daha

sonra yapılan benzer intravital bir başka çalışmada ise aksi gösterilmiştir (36). Tavşan ekstrasinovyal tendonu tamamen mobilize edilmiş buna rağmen mikro dolaşımda minimal bozulma olmuştur. Ayrıca intrasinovyal fleksör tendonlarda volar avasküler zon tarif edilmiş, bu bölgelerin beslenmesinde sinovyal difüzyonun önemli olduğu açıklanmıştır (37). Hem FDP hem de FDS vinkularının beslediği yerler arasında rölatif olarak avasküler olan alanlara sahiptir. FDP'da PIP eklemi üzerinde, FDS' de ise bu alan MCP eklemi üzerindedir (38).

Birçok yazar tarafından detaylı bir şekilde FDP ve FDS'in vinkular sistemi tarif edilmiştir (Şekil 5) (39, 40). Dijital arterlerden orijin alan 4 transvers daldan 5 vinkular arter çıkar ve bunlardan 3'ü FDS'i, 2'si FDP'ü besler. Birinci parmakta da iki vinkula tarif edilmiştir (40, 41). Çoğunlukla FPL'un kesilerinde IP eklemine bir miktar sağlayacak kadar kısa vinkulalardır (41).



Şekil 5. Vinkula ve fleksör tendonlar.

VLS, vinculum longum superficialis, VLP, vinculum longum profundus, VBS, vinculum breve superficialis, VBP, vinculum breve profundus (1).

5.3.2. Sinovyal difüzyon

İlk olarak 1963'te sinovyal difüzyonun intrasinovyal fleksör tendonun tüm metabolik ihtiyaçlarını karşılayabileceği bildirilmiş (42), ardından devaskularize tendon segmentinin intakt sinovyal kılıf içinde yaşadığı gösterilmiştir (43). İzleyici materyallerle yapılan bir seri çalışma da çeşitli deneysel hayvanlar kullanılmış ve difüzyonun tendon beslenmesinde daha önemli olduğu sonucuna varılmıştır (44-46) (47, 48). Bütün damarsal yapılar ayrılrsa da tendon canlılığını sürdürmede difüzyon hala etkilidir. Başka yazarlar tarafından yapılan radyoizotop çalışmalar da aynı bulguları desteklemiştir (49-51). Aynı zamanda tendon pulleyin altından geçerken oluşan 'milking' etkisi de difüzyon sürecinde öneme sahiptir. Sinovyal sıvı kadar ekstrasellüler doku sıvısının da tendonları besleme kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir (50).

Sinovyal difüzyonun besleyici kapasitesi geleneksel fleksör tendon cerrahisi yaklaşımında birçok soru işaretini beraberinde getirmektedir. Eğer sinovyal difüzyon tüm tendonu besleyebilirse volar avasküler segmente sütür koymanın çok önemi yoktur. Kor sütürlerin dorsale konulmasının volare konulmasından daha güçlü onarım sağlayacağı zaten yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (52, 53). Ayrıca dorsale sütür koymanın mekanik avantajları da vardır. Eklem biyomekaniği ve pulleyin tendon volarına bası etkisi ve kılıfla tendon arasındaki sürtünmenin daha az olması bunlar arasında sayılabilir.

Daha önceden tendon greftlerinin iyileşmesi için adezyon gelişmesi gerektiğine inanılırken yapılan çalışmalarla tendon greftinin sadece difüzyonla yaşayabileceği ortaya konulmuştur (48, 49). Bu yüzden tendon greftinde en kısa zamanda mobilizasyon gereklidir (54, 55). Teorik olarak tendon onarımı sırasında sinovyal tendon kılıfının da onarılması

gereklidir (49, 56-58). Ancak kılıf rekonstrüksiyonunun faydası yapılan birçok çalışmada sorgulanmıştır (59-62).

İyileşen tendonun metabolik ihtiyaçlarının deneysel çalışmalarda kullanılan normal tendondan daha fazla olduğundan gerçek klinik şartlar altında vasküler beslenme ve sinovyal difüzyon muhtemelen tamamlayıcı fonksiyon görürler.

5.3.3. Tendon iyileşmesi

Son yıllarda tendonun intrinsik iyileşme kapasitesinin olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Geçmişte tendon iyileşmesinin için çevre bağdokusundan gelen damarlar ve oluşan adezyon içinden hücrelerin çoğalması ile oluştuğu sanılırdı (63, 64). Ancak adezyonun intrinsik tendon iyileşmesinin bir uzantısı olarak çevre dokularda oluşan bir enflamasyondan oluştuğu anlaşılmıştır. Epitenonun yaralanma sonrası mitoz ile yeni fibroblastlar oluşturduğu ve bu fibroblastların tendon bileşkesine göç ederek iyileşme sürecini başlattıkları gösterilmiştir (65). Ayrıca tendon içindeki tüm bağ dokusu elemanlarının immatür hücre üretebilme kapasitesine sahip olduğu da gösterilmiştir. Tendona yapılan inkomplet kesi sonrası onarımsız erken mobilizasyon ile hiç adezyon oluşmadan tendonun iyileştiği gösterilmiştir (66, 67). Yapılan diğer çalışmalarda da intrasinovyal tendonun intrinsik onarım kabiliyetine sahip olduğu ve süreç için adezyona ihtiyaç olmadığı, dahası erken mobilizasyonun adezyonu engellediği gösterilmiştir (68).

Yapılan invitro doku kültürü çalışmalarında lasere tavşan tendonu diz eklemi içine ve subkutan cebe konulmuş ve laserasyonun iyileştiği gösterilmiştir (69-71). Aynı ortamlara canlı olmayan tendonlar konulduğunda da aynı şekilde iyileşme sağlanmıştır (72-74). Bu sonuçların çevre dokulardan menşeyini alan hücrelerden dolayı olup olmadığını saptamak için daha ileri çalışmalar yapılmış, aynı deneylerde çevre hücrelerin olaya dâhil olması engellenmiş, ancak

yine tendon iyileşmesinin olduğu gözlenmiştir. Bu da sinovyumun olduğu ortamda hem epitenon hemde endotenon hücrelerinin iyileşme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir (75).

Hüresiz kültür ortamı kullanılarak fleksör tendon iyileşmesi çalışılmış, tendon eksplantlarının canlı, kollajen sentezleyen fibroblastlar üretebildiği gösterilmiştir (76, 77). Diğer çalışmalarda epitenon hücrelerinin farklılaşarak hasarlanmış kollajenleri fagosite ettiği, endotenon hücrelerinin ise kollajen sentezinin primer kaynağı olduğu gösterilmiştir (78-81). Hiç epitenon hüresinin olmadığı ortamda bile endotenon hücreleri ile iyileşme sağlanmaktadır (82). İnsan fleksör tendonundan bir segmentin kültürde üreme kapasitesine, intrinsik iyileşme yanıtı için hücre bölünmesi, migrasyon, fagositoz ve yeni kollajen sentezi kapasitesine sahip olduğu da gösterilmiştir (83, 84).

Birçok yazar epitenonda endotenondan daha çok miktarda hüresel, biomkimyasal ve vasküler aktivite olduğunu göstermişlerdir. Prokollajen I antikoları ile yapılan çalışmalar iyileşen tendondaki kollajenin ilk olarak epitenonda ortaya çıktığını göstermiştir (85). Endotenon kollajen sentezlemeye 2-3 haftadan sonra başlar. Yine yapılan diğer çalışmalarda prokollajen tip I mRNA ekspresyonunun iyileşen tendonun yüzey tabakasında en yüksek miktarda olduğu gösterilerek fleksör tendon iyileşmesinin erken safhasında üretilen doğal kollajenin en büyük kısmının epitenondan kaynaklandığı gösterilmiştir (86). TGF beta mRNA üretimi fleksör tendon iyileşmesinde hem intrinsik (tenositlerin) hem ekstrinsik (tendon kılıfı fibroblastlarının) faktörlerin etkisi olduğunu gösterir (87).

Fibroblast kemotaksisi ve yapışması fibronektinin salınımı ile ilgilidir (88). Fibronektin konsantrasyonları tendon yaralanmasında ve erken rehabilitasyona maruz kalan onarılmış tendonlarda yükselmiştir (89). Ayrıca kontrollü erken pasif hareket rejimleri de intrinsik onarım sürecini hızlandırır (90-92). Onarım alanında görülen ilk olay revaskülarizasyondur (79).

Onarım hattındaki yüzeyde bulunan intratendinöz damarlar avasküler alana doğru ilerleme meylinde dirler (86). Artan hareketle birlikte damarlar longitudinal oryante olmaya bas larlar (80, 92). Buna karş ın immobilize edilmiş tendon yaralanmalarında tendon yatağındaki damarlanmada belirgin azalma olmaktadır (93). Ayrıca derin tendonların iyileşmesinde vinkular kanlanmanın da önemli olduğu klinik araşt ırmalarla gösterilmiştir (94).

İyileşirken mobilize edilen tendonlar daha yüksek gerilim kuvvetine sahiptirler, kayma fonksiyonları daha iyidir, onarım alanındaki total DNA miktarı artmıştır ve yapışıklık daha azdır (80). Sadece kontrollü pasif hareketlerin yapılması değil hareketlerin yapıldığı süre ve sıklığı da önemlidir (90, 95).

5.4. Tendon yaralanmaları

5.4.1. Fleksör tendon zonları

Tendon yaralanmasının seviyesi hangi tedavinin yapılacağını belirler ve prognostik önemi vardır. 1980’de bir uluslararası komite tarafından fleksör tendon zonları için evrensel bir isimlendirme yapılmıştır (96) (Şekil 6). Fleksör tendonlarda 5 zon vardır:

Zon 1. FDS yapışma yerinden distali

Zon 2. A1 pulley ile FDS yapışma yeri arası

Zon 3. Karpal tünelin distalinden A1 pulleye kadar

Zon 4. Karpal tünel

Zon 5. Karpal tünelin proksimali

1. parmakta da 5 zon vardır:

Zon 1. IP eklem distali

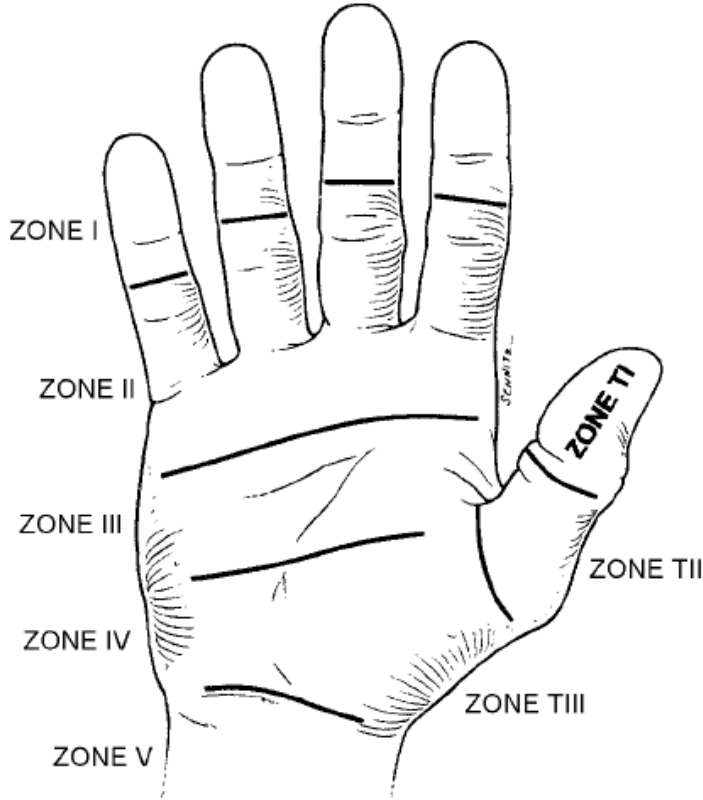
Zon 2. A1 pulley IP eklem arası

Zon 3. Tenar eminens

Zon 4. Karpal tünel

Zon 5. Karpal tünelin proksimali

Bu çalışmada fleksör tendon onarımının en kötü sonuçlarının görüldüğü insandaki Zon 2'nin köpek pençesindeki muadili olan Zon D kullanıldı (Şekil 8).



Şekil 6. Elde fleksör tendon yaralanmaları zonları (5).

5.4.2. Parsiyel tendon kesisi

Parsiyel tendon kesisi onarımı tartışmalıdır (97). Parsiyel tendon kesisi onarımı için bir kısım yazarlar sekonder rüptür olan vakalar bildirip parsiyel kesilerde cerrahi onarım önermişlerdir (98-100). Diğer bir kısım yazarlar ise erken aktif hareket önermişler (101, 102) ve sütürasyonun tendonun gerilim kuvvetini azalttığını göstermişlerdir (103). Eğri kesilerde ise %25 e kadar olan kesilerde eksizyon ya da tek suture önerilirken daha büyükleri pulleye

takılabileceğinden birkaç sütür ile onarım önerilmiştir. Düz kesilerde ise %95 e kadar olan kesilerde cerrahisiz sadece mobilizasyonla başarılı sonuçlar gösterilmiştir (104, 105).

5.4.3. Tendon kopmaları

Genellikle kas tendon bileşkesinden ya da kemiğe yapışma yerinden kopma olur (97). İntratendinz yırtık romotaid artrit hastalığı, enfeksiyon, gut ya da steroid enjeksiyonu sonucu olabilen oldukça nadir bir durumdur (106). Tedavi seçenekleri kopmanın seviyesi ve kopmadan sonra ne kadar zaman geçtiğine ve yüzeyel tendonun durumuna göre belirlenir. İzole yüzeyel tendon kopmalarında hiçbir tedavi uygulamamak uygundur (97). Erken dönem kopmalarda primer onarım uygundur ancak defekt varsa greft ya da transfer tercih edilmelidir (97).

5.4.4. Tendon avulsiyonları

Tipik olarak genç bireylerde sportif aktivite sonucu yapışma yerinde avulsiyon olur (97). Güçlü fleksiyon sırasında elin ekstansiyona zorlandığı Avustralya futbolu (107) gibi aktivitelerde meydana gelen fleksör avulsiyonları en çok yüzük parmağında olur. Fleksör tendon avulsiyonları sınıflaması (108) şu şekildedir:

Tip 1. iki vinkula da kopar, tendon palmar bölgeye retrakte olur.

Tip 2. uzun vinkulum intakt, tendon PIP düzeyine retrakte olur

Tip 3. büyük bir kemik parçası tendona yapışık avulse olduğundan A4 pulleye takılıp kalır

Tip 4. distal falanksta avulsiyon fraktürü ve fragmanın da tendondan avulse olması

Tendon retraksiyonu olmaması için tip 1 ve 2 avulsiyonlarda 7-10 günde tedavi yapılmalıdır. Tip 1 avulsiyonda tendon beslenmesi de riske girdiğinden erken tedavi önemlidir. Tip 3 ve 4 avulsiyonlarda açık redüksiyon internal fiksasyon gereklidir (108). Gecikmiş kopmalarda bireye göre değerlendirme yapılmalıdır. 2. ve 3. parmaklarda yüzeyel tendona

eklenecek bir tendon grefti uygulanabilirken diğer parmaklar hasta bir müzisyen ya da cerrah gibi el açısından özellikli bir birey ise greftlenebilir (109). Hem yüzeysel hem de derin tendonun birlikte kopması oldukça nadirdir ve tendon greftlenmesi ile tedavisi uygundur (110).

5.4.5. Çocuk hastalar

Çocuklarda kooperasyon zor olduğu için çoğu zaman fizik muayene ve tanı zor olabilir. Primer onarımın sonuçları çocuklarda iyi olsa da tendon grefti ile yapılan onarımların sonuçları pek yüz güldürücü değildir (111, 112). Çocuklarda yaralar daha hızlı iyileşir ve eklem sertliği daha nadirdir (97). Ancak yine de çocuk tendon onarımı deneyimli cerrahlar tarafından yapılmalıdır. Önceleri erişkinler gibi FDS eksizyonu yapıp FDP nin greftle onarımı yapılırsa da artık zon 2 seviyesinde her iki tendonun da onarımı yaygınlaşmıştır ve sonuçlar yüz güldürücüdür(113). 4 hafta el bileğinden itibaren immobilizasyon ve sonrasında tam serbestlik çocuklarda gayet iyi sonuç vermektedir(114).

5.5. Cerrahi tedavi

Tendon yaralanmalarının tedavisinde kullanılan çeşitli onarım teknikleri vardır:

- primer onarım
- gecikmiş primer onarım
- sekonder tendon onarımı
- derin tendonun ilerletilmesi
- tendon greftleme
- tendon transferi
- artrodezis
- kapsulodezis

Yara yerinde belirgin enfeksiyon yoksa ilk 24 saatteki tenon yaralanmalarında primer onarım en iyi seçenektir(115). İlk 24 saat ile 2 hafta arasında yapılan, aşırı derecede kontamine tendon yaralanmalarında tercih edilen onarımlardır. Yara yeri enfeksiyon açısından iyileştikten sonra onarım yapılır ve sonuçlar primer onarım ile karşılaştırılabilir derecede iyidir(116, 117). Erken sekonder onarım 2 ile 5 hafta arasında yapılır, geç sekonder onarım ise 5 haftadan sonra yapılır. Primer onarımların sonuçları oldukça başarılıdır ancak sekonder onarımlarda tendon ödemlidir, kas retrakte olmuştur ve ekstansiyon defisiti oluşur (118, 119). Bu nedenle sekonder onarım yerine tendon grefti tercih edilebilir. Tendon yatağının skarlı olduğu durumlarda silikon rod kullanarak gecikmiş tendon greftleme kullanılabilir (1).

Tendon transferinin kullanılabileceği fleksör tendon yaralanması durumu 5. parmak gecikmiş zon 3 yaralanması sonrasında FDP için 3. parmak FDS in donör olarak kullanılmasıdır (120). Ayrıca FPL motorizasyonu için de 3. ya da 4. parmak FDS tendonu kullanılabilir (121).

DIP eklemde parmağın total hareket açıklığının %25 ini yapabilmesinden dolayı (122) başka seçeneğin olmadığı zon 2 FDP yaralanmalarında kurtarma prosedürü olarak DIP artrodezis ya da kapsulodezisi uygulanabilir (97).

5.6. Sekonder cerrahi tedavi

5.6.1. Tendon grefti

1960'lerden önce tendon greftleme, zon 1 ve zon 2 tendon yaralanmaları sonrası primer onarımın fonksiyonel sonucunun kötü olması nedeni ile çok yaygın kullanılan bir cerrahi tekniktir. Üç hafta ya da daha uzun süre immobilizasyon uygulanırdı (123). Her ne kadar yeni primer onarım ve postoperatif kontrollü mobilizasyon yaklaşımlarından sonra fleksör tendon onarımı sonuçlarında belirgin iyileşme sağlandıysa da (124, 125) primer onarım sonrası rüptür ve yapışıklık, fleksör tendon onarımlarında halen problem olmaya devam etmektedir (8,

126-128). Bu nedenle primer strasyonun avantajlarına rağmen el cerrahisinde hala tendon greftleme önemli bir yere sahiptir (97). Fleksör tendon onarımı sonrası kopma olduğunda veya tendon kopması ya da tendon transferi sonrası kas-tendon ünitesinin uzatılması gerektiğinde, tendon greftleme endikedir (55, 129-132). Bir tendon yaralanmasında tek aşamalı mı yoksa iki aşamalı mı greftleme yapılacağı ise parmaktaki yumuşak dokunun durumuna göre belirlenir. Eğer tendon kesisinde minimal skar, yumuşak eklem ve yeterli pulley sistemi mevcut ise, iyice debride edilmiş uygun tendon yatağı varsa tek aşamalı palmar bölgeden pulpa bölgesine greftleme yapmak uygun olabilir (133). Aşamalı fleksör tendon rekonstrüksiyonu bir kurtarma operasyonudur. Eğer yaralanma çok ciddi olup tek aşamalı greftleme ya da primer onarıma izin vermiyorsa kullanılır. Ezilme yaralanması, ilişkili kırıkların bulunması, cilt kaybı, sinir ve arter hasarı, tendon yatağında çok skar olması ve pulley sistemi kaybı gibi durumlarda iki aşamalı onarım yapılabilir (97).

GRADE	PREOPERATİF DURUM
1	İyi, mobil eklemle birlikte minimal skar ve trofik değişiklik yok
2	Skatris, daha önceki cerrahiye bağlı yoğun skar ve başarısız primer onarım ya da enfeksiyon nedeniyle derin skar
3	Eklem hasarı, kısıtlı hareket açıklığı ile birlikte eklem yaralanması
4	Sinir hasarı, dijital sinirlerde yaralanmaya bağlı parmakta trofik değişiklikler
5	Multipl hasar, yukardaki problemlerle birlikte multipl parmağın olaya dahil olması

şekil 7. Boyes'un preoperatif tendon greftlemesi endikasyonu sınıflaması (6).

Boyes tendon greftlemesi endikasyonları için bir preoperatif sınıflandırma yapmıştır (134)(Şekil 7). Genel olarak tek aşamalı grefleme Grade 1 parmaklar için uygun iken iki aşamalı onarım grade 2-5 için daha uygundur. Pulleyin gerçek durumu ancak intraoperatif anlaşılabilceğinden cerrah ameliyata hem tek aşamalı hem de iki aşamalı onarıma hazır olarak girmeli, hastayı bu yönde bilgilendirmelidir. Bununla birlikte henüz geniş klinik kullanıma girmemiş olan HA gibi maddelerin kullanımı ile tek aşamalı onarım endikasyonları genişleyebilecektir. HA konusu daha ileride anlatılacaktır.

Hem tek aşamalı hem de iki aşamalı tendon greftleme öncesi eklem sertliği ya da kontraktür varsa mutlaka cerrahiden önce rehabilite edilmelidir (135, 136).

5.6.2. Tendon greftinde cerrahi uygulama

Tendon greftlemede başlangıç prosedürleri aynıdır. Bruner ya da midlateral insizyonla girilip pulpadan karpal tünele kadar diseke edilir. Skarlı kılıf eksize edilerek mümkün olduğunda çok pulley dokusu korunur. Skarlı tendon dokusu eksize edilir. Skarlı ya da kısalmış lumbrikal kaslar eksize edilir. PIP tendonu hiprekstansiyon varsa FDS tenodezisi yapılabilir. Eklem kontraktürü varsa, kapsulotomi, volar plate ya da kollateral ligaman kesisi ile açılmalıdır. Çok ağır skar olması ve pulleyin olmaması iki aşamalı tedavi için endikasyonlardır. Bu aşamada tendon yatağı ve pulleyler değerlendirilerek kaç aşamalı cerrahi yapılacağına karar verilir (134).

Tek aşamalı greftleme için hemen tendon grefti alınarak rekonstrüksiyon yapılır. İki aşamalı tendon greftleme için ise bu aşamada silikon rod konulur. İkinci seansta rod etrafında 3 tabakadan oluşan, intima, media ve adventisyası olan “pseudosheat”in oluştuğu görülür. Bu “pseudosheat”in stabilize olması için en az 8 hafta beklenmelidir (137). İkinci cerrahi için 2-3 ay beklenmelidir. Gerek tek aşamalı gerekse iki aşamalı tendon greftlemede greft distale

Pull-out ile proksimale ise Pulvertaft tekniği ile tespit edilir (130). Postoperatif erken pasif mobilizasyon Kleinert ateli ile uygulanır (124).

Otogreft için insanda potansiyel kaynaklar şunlardır:

1) Palmaris longus, 13 cm civarındadır ve insanların %80 inde bulunur (138). Ancak orta parmak palmar-pulpa mesafesinin rekonstrüksiyonunda kısa gelebilir.

2) Orta 3 ayak parmaklarının uzun ekstensörleri (139), ortalama 30 cm civarındadır.

3) Ekstensör indusus proprius (140), ortalama 10 cm ve

4) Ekstensör digiti minimi(140), 11 cm civarındadır.

Tendon greftlemenin hala parmak fonksiyonu onarımında çok önemli bir role sahip olmasına karşın (54, 55, 141, 142), klinik çalışmalar tendon greftleme sonrasında restrüktif adezyonlar ve parmak hareket kısıtlılığının sık olduğunu göstermiştir (131, 143-145).

5.7. Fleksör tendon onarımında Hyaluronik asitin kullanımı

Hyaluronik asit (HA) çoğu omurgalının bağ dokusu hücreleri arasındaki matriks dokusunda var olan doğal bir polianyonik polisakkarittir. HA' in eşsiz özelliği, hidrate koşullardaki (%99 su içeriği) moleküler ağın aşırı derecede viskoelastik ve psödoelastik olmasıdır. Bu reolojik özellikleri hyaluronik asitin biyolojik fonksiyonunu ve medikal olarak da uygulanabilmesini sağlar (146, 147). İntraartiküler HA enjeksiyonu travmatik ve dejeneratif artrit tedavisinde zaten başarılı bir şekilde uygulanmaktadır (148, 149). HA' in fleksör tendon onarımındaki etkisi de hayvan çalışmalarında ve klinik çalışmalarda araştırılmıştır (150, 151). Tendon onarımı sonrası eksojen HA uygulaması fleksör tendon ile çevre doku arasındaki adezyon formasyonunu tendon iyileşmesini etkilemeden engelleyebilir (152-154). Bununla birlikte buna zıt olan in-vivo sonuçlarda vardır (155). Doku içinde HA' in yarı ömrü kısa olduğu

için doğal HA muhtemelen dokular arası uzun süren bir fiziksel bariyer oluşturmadan çok hızlı bir şekilde yıkılmaktadır (156). Karbodiimid ile HA'in muamele edilmesi, kimyasal bir modifikasyon olarak klinik kullanım için geliştirilmiştir (157).

5.8. Bu Çalışmanın Önemi

Üst ekstremitte yaralanmaları sık görülen cerrahi problemlerdir ve tüm yaralanmalarının yaklaşık üçte birini oluşturur. Tendon yalanlanmaları üst ekstremitelerin en ciddi yaralanmaları arasındadır. Acil servise başvuran cerrahi el hastaları içinde tendon yaralanmaları %36'lardadır (158). Ülkemizde oluşan tendon yaralanmalarının sayısını söylemek Türkiye'de ilgili epidemiyolojik çalışma olmadığından zordur ancak Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) tahminler her yıl kabaca 40 000 hastaya yatarak tendon tamiri yapıldığını göstermektedir (159). Bundan çok daha fazla sayıda tendon cerrahisi ayaktan hastalara uygulanmaktadır. Bu çalışmanın yapıldığı merkezde yapılan bir tıbbi kayıt taramasında sadece nüfusu yaklaşık 90000 olan Rochester (Minnesota)'da oturmakta olan hastalarda kabaca her yıl 200 tendon onarımı yapılmaktadır (160). Her ne kadar Türkiye'de genel olarak travma oranı ABD'ye göre daha fazla da olsa, bu nüfusa göre tendon onarım sayısını bizim nüfusumuza genellersek Türkiye'de yaklaşık olarak yılda en az 150 000 hastaya yatarak tendon onarımı yapılmaktadır tahmininde bulunabiliriz. Daha önemlisi bu yaralanmalar neredeyse tamamen genç, çalışan popülasyonda meydana gelmekte ve bu nedenle belirgin morbiditenin yanında önemli derecede iş gücü kaybına yol açmaktadır. Her ne kadar yaralanma sonrası direkt onarım genel kabul görse ve geliştirilen postoperatif rehabilitasyon programları ile sonuçlar iyileştirilmiş de olsa, kötü klinik sonuçlar özellikle düzgün kesi olmayan veya tendon defekti bulunan yaralanmalı hastalarda hala siktir (142, 161-163). Bu gibi durumlarda tendon grefleme parmak fonksiyonunu geri kazanmada en ideal teknik olabilir. Komşuluğunda kemik fraktürü olan ya

da üzerindeki ciltte de yaralanma olan ezikli el yaralanmalarında (crush injury) ya da iyileşmiş bir enfeksiyona bağlı tendon yatağında fibrozis ve skar olan vakalarda da tendon greftlemesi endikasyonu vardır. Gene çalışmanın yapıldığı merkezde yapılan bir retrospektif taramada 1988-2005 yılları arasında sadece o şehirde yaşayan hastalarda 1019 tendon grefti ve 190 tendon transferinin yapıldığı saptanmıştır (160). Bunu ülkemiz nüfusuna oranlarsak Türkiye’de yılda yaklaşık 44 000 tendon greftleme ve 8500 tendon transferi yapılmaktadır diyebiliriz. Bu tendon yüzey modifikasyonunun başarılı olması sadece tendon greftleme için değil, tendon transferi tedavisi için de çok değerli bir avantaj sağlayacaktır.

Bu çalışma birçok açıdan önemlidir:

Birincisi, gerçek klinik pratiği taklit eden tendon allogreft modeli olmasıdır ki; tendon grefti, kayma fonksiyonunun zaten bozuk olduğu bölgeye konmaktadır.

İkincisi, bu çalışma intrasinovyal allogreft ve ekstrasinovyal otogreftlerin yüzey modifikasyonu olarak ve olmaksızın yaşayabilirliklerini fibroblast sayımı ile gösteren ilk çalışmadır.

Son olarak intrasinovyal allogreft ve ekstrasinovyal otogreft tendon yüzeyinde cd-HA jel modifikasyonumuz kanin in-vivo çalışılmıştır. Hipotezimiz bu modifikasyonun parmak fonksiyonu sonuçlarını iyileştirebildiği, bunu yaparken de hücre yaşayabilirliğini azaltmadığıdır. Aynı merkezde daha önce yapılan kayma direnci ve kopma direnci çalışmalarının olumlu sonuçları ile birlikte bu çalışmamızda da hücre sayısının dolayısıyla hücre yaşayabilirliğinin bozulmadığını gösterilerek cd-HA in daha ileri çalışmalarda kullanımının yolu açılacaktır. Gerek klinikte kullanımı gerekse ileri doku mühendisliği ile geliştirilen tendon greftlerinde, büyüme faktörleri gibi tendon allogreft ve otogreft cerrahisi

sonuçlarını iyileştirebilecek diğer tedavi modaliteleri ile birlikte daha yaygın olarak kullanılabilir olacaktır.

6. ARAŞTIRMA DIZAYNI VE METOT

6.1. Spesifik Amaçlar

a. Kanin in-vivo başarısız primer tendon onarımı modelinde cd-HA ile muamele edilmiş ve edilmemiş ekstrasinovyal otogreft tendon ile tedavi sonucunda greft yaşayabilirliğini histolojik olarak karşılaştırmak.

b. Kanin in-vivo başarısız primer tendon onarımı modelinde cd-HA ile muamele edilmiş ve edilmemiş intrasinovyal allogreft tendon ile tedavi sonucunda greft yaşayabilirliğini histolojik olarak karşılaştırmak.

c. Kanin in-vivo başarısız primer tendon onarımı modelinde uygulanan intrasinovyal allogreft tendon ve ekstrasinovyal otogreft tendon ile tedavi sonucunda greft yaşayabilirliğini histolojik olarak karşılaştırmak.

d. Kanin in-vivo başarısız primer tendon onarımı modelinde cd-HA ile muamele edilmiş intrasinovyal allogreft tendon ve cd-HA ile muamele edilmiş ekstrasinovyal otogreft tendon ile tedavi sonucunda greft yaşayabilirliğini histolojik olarak karşılaştırmak.

6.2. Dizayn

Her ne kadar daha önceki çalışmalar cd-HA jelatin ile muamele edilmiş ekstrasinovyal otogreft tendonun ve intrasinovyal allogreft tendonun kayma direncine olan olumlu etkisi gösterilmiş ve kopma direncine ya da tendonun yapısal özelliklerine olumsuz etkisi olmadığı fiziksel testlerle gösterilmişse de tendonun histolojik özellikleri çalışılmamış, cd-HA jelatin uygulanmış allojen ve otojen tendonların histolojik özellikleri karşılaştırılmamıştır. Bu

çalışmada dondurup-eritme (freze-thawing) yöntemiyle hazırlanan intrasinovyal allogreft tendon ile taze ekstrasinovyal otogreft tendonun cd-HA ile muamele edildikten sonra greftlendikleri bölgede histolojik olarak farklı davranış gösterip göstermedikleri ortaya konulacaktır. Cd-HA uygulanmamış allogreft ve otogreft tendonlar kullanılan denekler de kontrol grubu olarak kullanılacaktır.

6.3. Metod

Toplam 14 köpeğin 28 tendonu çalışmada kullanıldı. Köpeklere birinci seans cerrahi tenotomi ardından primer onarım yapıldı. Onarım sonrası tendonlarda kopma olması için köpeklerin serbest aktivite yapmasına izin verildi. Rüptür meydana geldikten sonra 8 köpeğin 16 tendonuna intrasinovyal allogreft ile greftleme yapıldı. Her köpeğin 2. ve 5. parmak tendon defektlerinden randomize olarak birine cd-HA jelatin ile muamele edilmiş, diğerine de salinle muamele edilmiş kontrol tendonu ile greftleme yapıldı. Kalan 6 köpeğin 12 tendonuna ise ekstrasinovyal otogreft tendon ile greftleme yapıldı. Bu köpeklerde de 2. ve 5. parmak tendon defektlerine randomize olarak birine cd-HA ile muamele edilmiş tendon, diğerine ise salin ile muamele edilmiş kontrol tendonu ile greftleme yapıldı. Greftlemeden 6 hafta sonra sakrifikasyon yapıp histolojik inceleme için tendon grefti örnekleri alındı. Histolojik örneklerde tenosit sayımı yapıldı ve elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

6.3.1. İn-vivo başarısız fleksör tendon onarımı modelinin oluşturulması

Primer fleksör tendon onarımı sonrası rüptür oluşumu ve daha sonra adezyon oluşumu için bir model oluşturuldu. Toplam 14 köpeğin 28 tendonu kullanıldı. Model, Mayo Klinik Hayvan Bakım ve kullanım Enstitüsü tarafından kabul edilmiştir (IACUC-Institute of Animal Care and Use Committee- No: A15008). Modelin başarılı ve üniform olmasını garanti etmek için şu prosedürler yapıldı:

1) Tenorafî öncesi zon II seviyesinden 5 mm'lik segmental rezeksiyon yapılarak onarım bölgesindeki gerginlik arttırıldı.

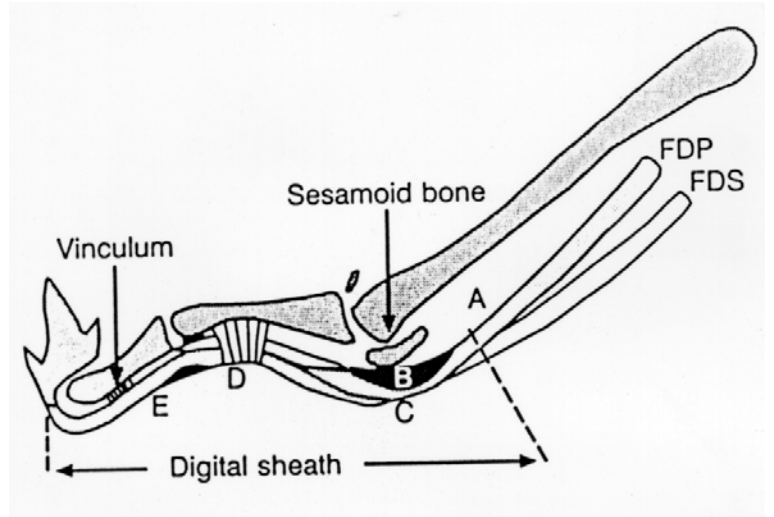
2) Onarımın nispeten daha zayıf olması için yalnızca bir adet 5-0 suturele modifiye Kesler tekniği kullanıldı (164-166).

3) Proksimal ve distal pulleyler haricinde fleksör kılıf rezekte edildi.

4) Köpeklerin erken postoperatif dönemde tam mobilizasyonuna izin verildi (kafeslerinde serbestçe dolaşmalarına izin verildi).

Primer onarımdan altı hafta sonra fleksör tendon rekonstrüksiyonu köpeklerin grubuna göre 8 köpekte otograft tendonla 6 köpekte de allograft tendonla yapıldı. İkinci ve beşinci parmaklar cd-HA jelatin ile muamele edilmiş tendonlar ve muamele edilmemiş kontrol tendonlarla onarım için rastgele seçilerek randomizasyon sağlandı.

Köpeklerde intravenoz ketamin (8 mg/kg) ve dizepam (0,5 mg/kg) ile anestezi sağlandı. Her köpekte bir ön ayak randomize olarak seçildi. Ayak traş edildi, povidon iyot ile boyandı ve steril olarak örtüldü. Elastik bandajla sarıp turnike yapılarak kansız ortamda çalışma sağlandı. Köpek pençesinin ikinci ve beşinci parmakları in-vivo fleksör tendon onarımı modeli için kullanıldı. Lateral insizyonla fleksör digitorum profundus (FDP) tendonuna ulaşıldı. Sadece proksimal ve distal pulleyler korunarak fleksör kılıf eksize edildi. Proksimal falanks düzeyinde fleksör digitorum superficialis kesildi ve onarılmadan bırakıldı. Zon D seviyesinde FDP tendonuna 5 mm'lik bir tenektomi yapıldı (Şekil 8). Daha sonra 5-0



Şekil 8. Köpek fleksör tendon anatomisi.

etibond kullanılarak modifiye Kesler tekniği ve 6-0 naylon çevre sütürü ile tendon onarımı yapıldı. İnsizyon tabakalar halinde kapatıldı. Peroperatif intramuskuler antibiyoterapi (sefazolin 15 mg/kg) uygulandı. Hayvanların herhangi bir koruyucu splint uygulanmadan kafeste erken postoperatif dönemde serbestçe dolaşmalarına izin verildi.

6.3.2. Tendon greftlerinin hazırlanması ve cd-HA ile muamele edilmesi

6.3.2.1. Ekstrasinovyal otogreft tendon hazırlanması ve cd-HA ile muamele edilmesi

Otogreftle rekonsrüksiyon yapılacak olan 12 tendonunda başarısız onarım modeli uygulanmış olan 6 köpek ameliyat odasına alındı. Seçilen ön ekstremitte ve her iki arka ekstremitte traş edilerek povidon iyotla boyandı. Peroneus longus (PL) tendonları bilek düzeyinde muskületendinoz bileşke düzeyinden yaklaşık 10-15 cm uzunluğunda olacak şekilde alındı. Peroneus tendonlarından biri randomize olarak tedavi grubu için seçildi ve 30 saniye cd-HA solüsyonuna konuldu. cd-HA jelatin solüsyonu %1 sodyum hyaluronat (%95; Acros, Geel, Belgium), %10 jelatin (domuz derisinden; Sigma Chemical, St. Louis, Missouri), %1 1-etil 3-(3-dimetil amino propil) Karbodiimid hidroklorid (EDC) (Sigma), %1 N-hydroxysuccinimide (NHS) (Sigma) 0,1-M NaCl (pH 6.0) içinde ve %0,9 fosfat tamponlu salin solüsyonundan oluşuyordu (10). Hyaluronik asit EDC ile karıştırıldığında oluşan reaksiyonla hızlı bir şekilde jel benzeri bir madde oluşturur. Tendon bu karışımın içine konularak tendon yüzeyi ile kuvvetli bağlar oluşumu sağlandı. Greftleme yapılına kadar tendonu hidrate halde tutmak için yumuşak kauçuk bir örtüye sarıldı (ekstremitte için kullanılan elastik bandajlardan parça kesilerek elde edildi), üzerine de salinle nemlendirilmiş bir havlu sarıldı. Kontrol tendon %0.9 luk NaCl solüsyonuna daldırıldı, aynı şekilde sarıldı ve greftleme prosedürüne geçildi.

6.3.2.2. İntrasinovyal allogreft tendon hazırlanması (liyofilizasyon) ve cd-HA jelatin ile muamele edilmesi

Verici köpekler sakrifiye edildikten sonra arka ayak ikinci ve beşinci parmaklardan fleksör digitorum profundus tendonları alındı. Ön ayak yerine arka ayaktan FDP alınmasının nedeni arka ayak FDP tendonunun birazcık daha küçük olmasıdır. Böylece greft tendon kolaylıkla alıcı alandaki pulleyden geçebilir.

Liyofilizasyon (dondurarak kurutma): Tendonlar intrinsik fibroblastları nekroza uğratarak immunojeniteyi azaltmak için hemen sıvı nitrojene alınıp bir dakika bekletildikten sonra 37 °C salin solüsyonunda 5 dakika eritildi. Bu prosedür tenosit nekrozisini indüklemek için beş defa tekrarlandı. Daha sonra tendonlar -80 °C de iki hafta saklandılar. Deney öncesinde oda sıcaklığına ulaştırmak için tendonlar bir gece boyunca 4 °C de kısmen eritildiler. Bu allogreft tendon ve ligamanlar için dondurma-eritme tekniği literatürde çok iyi tarif edilmiştir (167-169).

Greftleme öncesi köpek FDP allogreft tendonları rastgele yüzey modifikasyonu yapılacak olanlar ve yapılmayacak olanlar olarak iki gruba ayrıldı ve yüzey modifikasyonu yapılacak tendonlar 6.3.a.1. deki yöntem kullanılarak cd-HA jelatin ile muamele edildi.

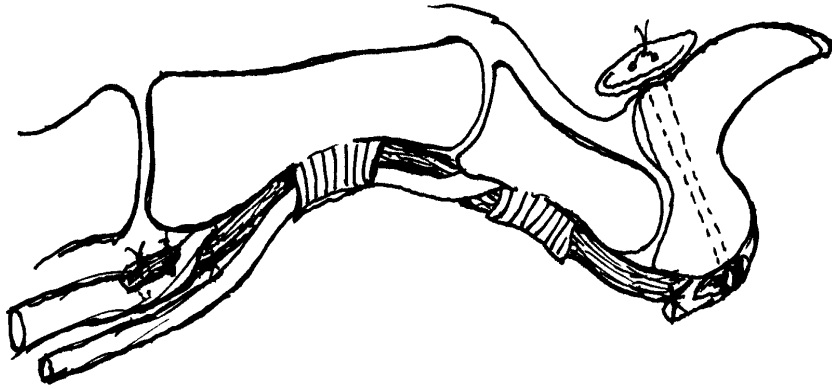
6.3.3. Otogreft ve allogreft ile rekonstrüksiyon için cerrahi prosedür

Başarısız primer onarım uygulanan köpeklerden 8'inin 16 tendonu kullanıldı. Cerrahi uygulanan tendonlar (2. ve 5. FDP) cd-HA jelatin uygulanan allogreftle onarım yapılacak ve kontrol allogreft ile onarım yapılacak olarak rastgele seçildi.

Köpeklere intravenöz ketamin ve diazepam ile anestezi uygulandı. Ön ayak traş edildi, povidon iyot ile boyandı ve steril olarak örtüldü. Elastik bandaj ile ayak sarılarak turnike

uygulandı. Daha önceden ameliyat edilmiş olan ikinci ve beşinci parmaklar in vivo kanin fleksör tendon allogreft için alıcı alanları olarak kullanıldı.

Eski insizyondan primer onarılmış tendona titiz bir diseksiyonla ulaşıldı. Normal proksimal ve distal FDP tendonu bulundu. Daha önceden onarılan FDP tendonu distal falanksa yapıştığı yerin 5 mm proksimali seviyesinden middle falanksa kadar eksize edildi. Bir parmağa cd-HA jelatin ile muamele edilmiş greft uygulanırken diğerine kontrol greft (salin ile muamele edilmiş) uygulandı.



Şekil 9. Köpekte tendon greftleme için cerrahi prosedür ve suture tekniği.

Greftin proksimal ucu proksimal FDP tendonuna iki adet 4-0 Dacron (Ethicon, Sömerville NJ) kullanılarak Pulvertaft zikzak tekniği ile tespit edildi. Tendon greftinin distali distal falankstan açılan deliklerden geçirilerek bir düğme üzerinde bağlanan 3-0 naylon suture ile 'pull-out' yapılarak tespit edildi (Şekil 9). İlk olarak distal onarım yapıldı, böylelikle tendon greftinin gerginliği proksimal onarım sırasında ayarlandı.

Tendon greftlemesi sonrasında insizyon tabakalar halinde kapatıldı. Ardından lateral humoral insizyonla girilerek yüksek radyal norektömi yapıldı ve triseps kası ve ekstensörler

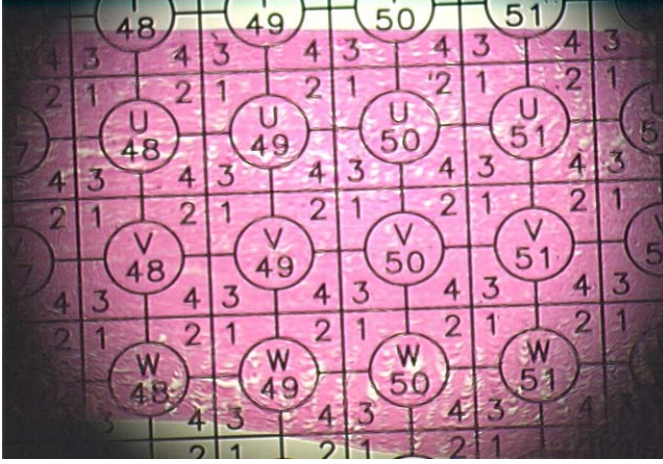
denerve edilmiş oldu. Böylelikle dirsek ve bilek ekstansiyonu önlenmiş, ameliyat edilen ön ayak üzerinde vücut ağırlığının taşınması engellenmiş oldu. Steril pansuman yapıldı ve özel yapım bir kol askısı ile ameliyat edilen ön ayağın gövdeye yapışık kalması sağlanarak vücut yükünü taşıma ihtimali tamamen ortadan kaldırıldı. Ardından hayvanlar hemen kafes içinde serbest bırakıldı. Postoperatif beşinci günden itibaren günlük eşzamanlı bilek parmak hareketleri rehabilitasyon protokolüne başlandı ve sakrifikasyona kadar devam edildi (170).

Greft ameliyatından altı hafta sonra intravenöz aşırı doz fenobarbital uygulanarak (150mg/kg) hayvanlar sakrifiye edildi. Histolojik analiz için parmaklar eksize edildi.

6.3.4. Histolojik inceleme

Eksize edilen parmaklardan elde edilen tendonlar diseke edilerek greftlerden örnekler alındı. Örnek tendonlar orijinal uzunluklarını korumaları ve rotasyona uğramalarını engellemek için klemp ile uzunlukları korunarak %10 formalinde tespit edildi. Longitudinal olarak parafine gömüldü. Dermatomla tendon örneklerinden 5 µm'lik kesitler alındı. Longitudinal kesitlerden tendonun en ortasından geçen kesit (en geniş kesit) temsili örnek olarak alınarak her tendonda standart bir bölgenin incelenmiş olması sağlandı. Tüm kesitler ışık mikroskopunda incelemek için hematoksilen-eozin ile boyandı. Hazırlanan preparatlar bir bilgisayara bağlı özel kameraya monte edilmiş mikroskopta incelendi (Mikroskop: Olympus BX51 □ Kamera: Sony DXC-970MD, 3CCD Renkli Video Kamera). Dijital imaj yakalayıcı bir programla resimler çekildi (İmaj yakalayıcı: MuTech Corporation, İmage/VGA-460 PCİ bus Frame Grabber). Özel gridleri olan lam üzerinde total kesit alanı tarandı (Şekil 10). Kesit alanındaki toplam grid birim alan sayısı tespit edilerek temsili 10 grid birim alanı standart rastgele teknikle tüm kesit içinden seçildi. Her bir alandan hep aynı kordinatta olmak üzere bir 400 büyütme alanı seçilerek dijital resimleri çekildi. Resimlere hangi tendon grubuna ait olduğunu anımsatmayan isimler verilerek

iki ayrı kişi tarafından kör değerlendirme yapılması sağlandı. 400 büyütme altındaki her birim alandaki fibroblastlar iki değerlendirici tarafından resimlerden ayrı ayrı sayıldı. Sayım sırasında grid sol ve alt çizgilere değen nükleuslar sayılmazken, sağ ve üst çizgilere değen nükleuslar sayıldı.

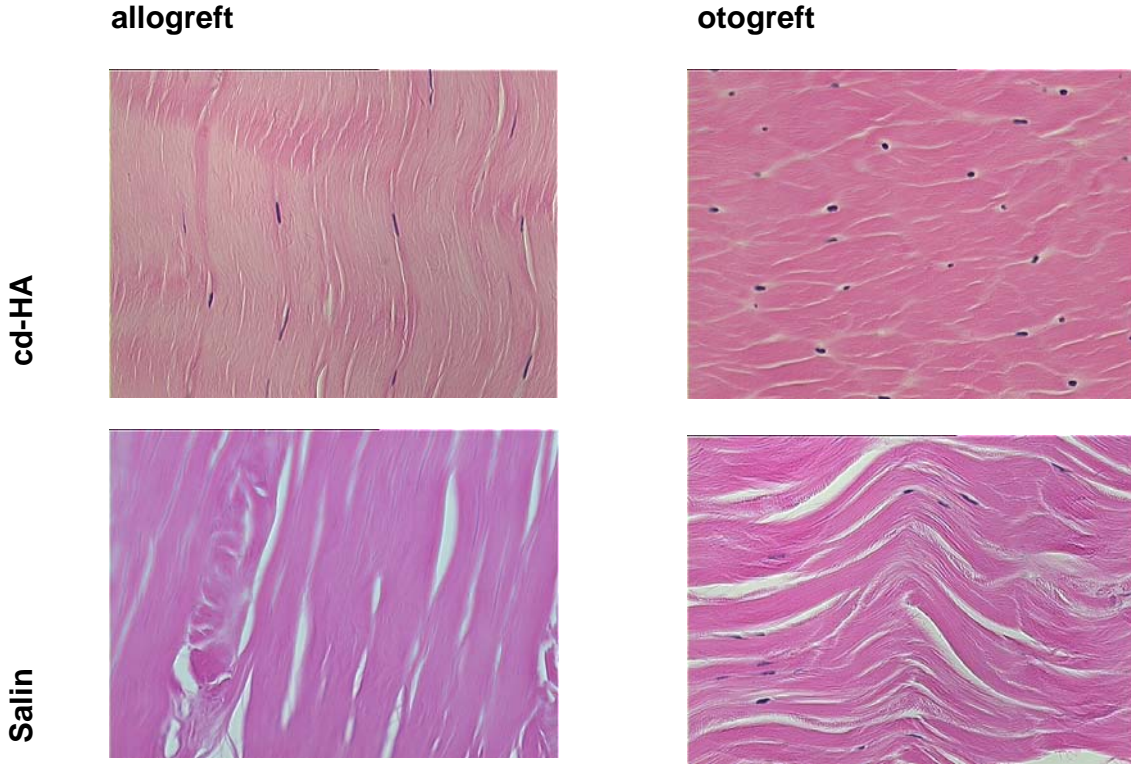


Şekil 10. Gridli lamda tendon kesitinin görünümü

6.3.5. İstatistiksel metot

İstatistiksel analiz için her kesitteki tüm alanlardan elde edilen fibroblast sayılarının ortalaması alındı. Elde edilen kantitatif sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde hesaplandı. Şu gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldı: 1. Allojen cd-HA ve Allojen kontrol, 2. Otojen cd-HA ve otojen kontrol, 3. Allojen cd-HA ve otojen cd-HA, 4. Allojen kontrol ve otojen kontrol ve 5. Tüm allojen gruplar ile tüm otojen gruplar. İstatistiksel analiz için gruplar iki örnekli T testi ile karşılaştırıldı.

7. BULGULAR



Şekil 11. Allojen, otojen, cd-HA uygulanmış ve uygulanmamış tendon preparatlarından 400 büyütme altında sayımın yapıldığı resimler

Preparatlardan 6.3.4' de tarif edildiği şekilde randomize fotoğraflar alınarak iki kişi tarafından sayım yapıp veriler excell dosyasına kayıt edildi (Şekil 11). cd-HA uygulanan intrasinovyal allojen tendon grefti grubunda HE boyama yapılan 8 preparattan sayılan toplam 80 alanda ortalama tenosit sayısı $19.65(\pm 10.91)$ olarak hesaplandı. Buna karşın cd-HA uygulanan otojen tendon grefti grubunda 6 preparattan sayılan toplam 60 alanda ortalama tenosit sayısı $38.15(\pm 17.54)$ olarak hesaplandı. Allojen kontrol grubu tendon greftlerinde HE boyama yapılan 8 preparattan sayılan 80 alanda ortalama tenosit sayısı $13.46(\pm 9.20)$ olarak

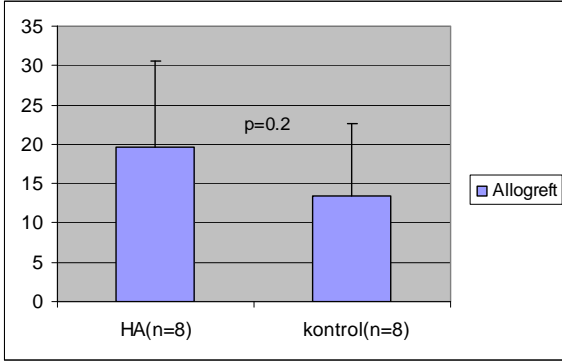
hesaplanırken otojen kontrol grubu tendon greftlerinde HE boyama yapılan preparatlarda sayılan toplam 60 alanda ortalama tenosit sayısı $25.03(\pm 7.24)$ olarak hesaplandı (Şekil 12).

Fibroblast	cd-ha jelatin	Kontrol	p
Allojen	19.65(± 10.91)	13.46(± 9.20)	0.2
Otojen	38.15(± 17.54)	25.03(± 7.24)	0.1
p	0.03	0.02	0.003*

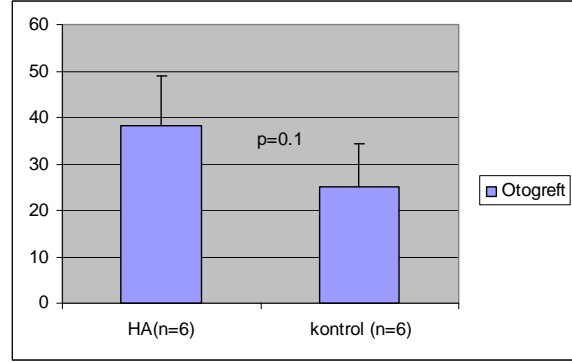
Şekil 12. Allojen ve otojen gruplarda cd-HA ve kontrol gruplarında fibroblast sayıları ve çift kuyruklu T testi ile karşılaştırma sonucu p değerleri. * tüm allojen ve tüm otojen grupların karşılaştırılması sonucu p değeri.

7.1. cd-HA' in tendon greftleri tenosit sayısı üzerinde etkisi

cd- HA uygulanan intrasinovyal allogreft tendon grubu ortalama tenosit sayıları kontrol allogreft grubundan fazlaydı (Şekil 13). Ancak t testi ile yapılan karşılaştırılmada istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,2$). cd-HA uygulanan ekstrasinovyal otogreft tendon grubu ortalama tenosit sayıları da kontrol otogreft grubuna göre fazlaydı (Şekil 14). Ancak t testi ile yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,1$).



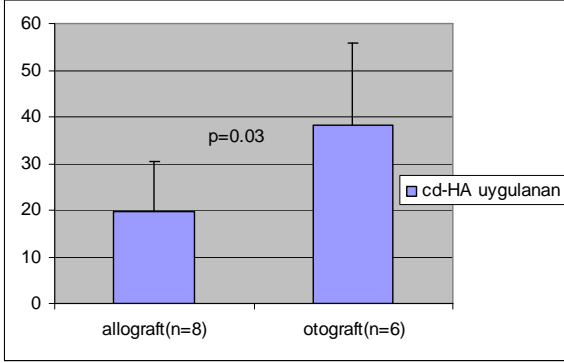
Şekil 13. İntrasinovyal allograft örneklerindeki ortalama tenosit sayılarının karşılaştırılması



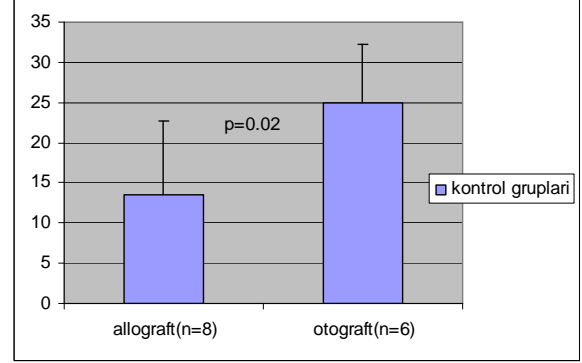
Şekil 14. Ekstrasinovyal otograft örneklerindeki ortalama tenosit sayılarının karşılaştırılması

7.2. Ekstrasinovyal ve intrasinovyal tendon greftlerinin tenosit sayısı açısından karşılaştırılması

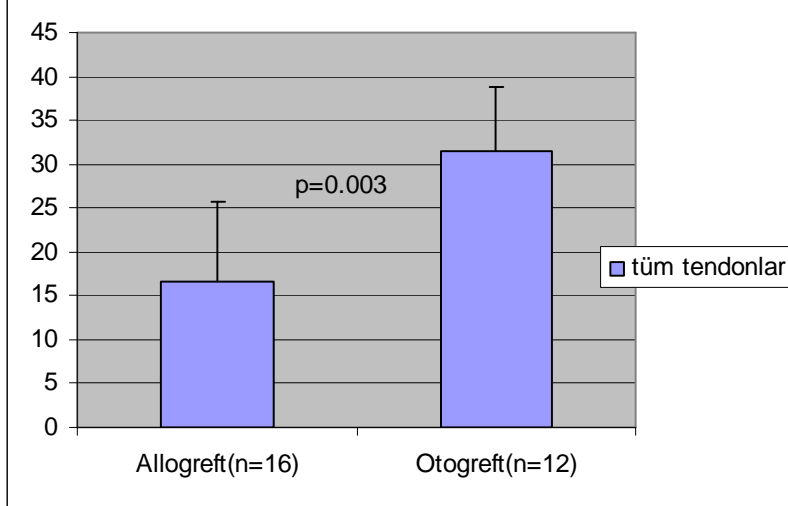
cd-HA uygulanan ekstrasinovyal otograft tendon örneklerindeki ortalama tenosit sayısı intrasinovyal allograft tendonlardan alınan örneklere göre fazlaydı (Şekil 15) ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,03$). Kontrol ekstrasinovyal otograft tendon grubu tendon örneklerindeki ortalama tenosit sayısı da kontrol intrasinovyal otograft tendon grubu tendon örneklerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazlaydı (Şekil 16, $p=0,02$). Tüm otograft ve allograft tendonlar tenosit sayısı açısından karşılaştırıldığında ise fark çok anlamlıydı (Şekil 17, $p=0,003$).



Şekil 15. cd-HA ile muamele edilen otoplast ve allograft tendonların tenosit sayılarının karşılaştırılması



Şekil 16. Kontrol grubu otoplast ve allograft tendonlarının tenosit sayılarının karşılaştırılması



Şekil 17. Tüm allograft tendonlar ile tüm otoplast tendonların tenosit sayısı açısından karşılaştırılması

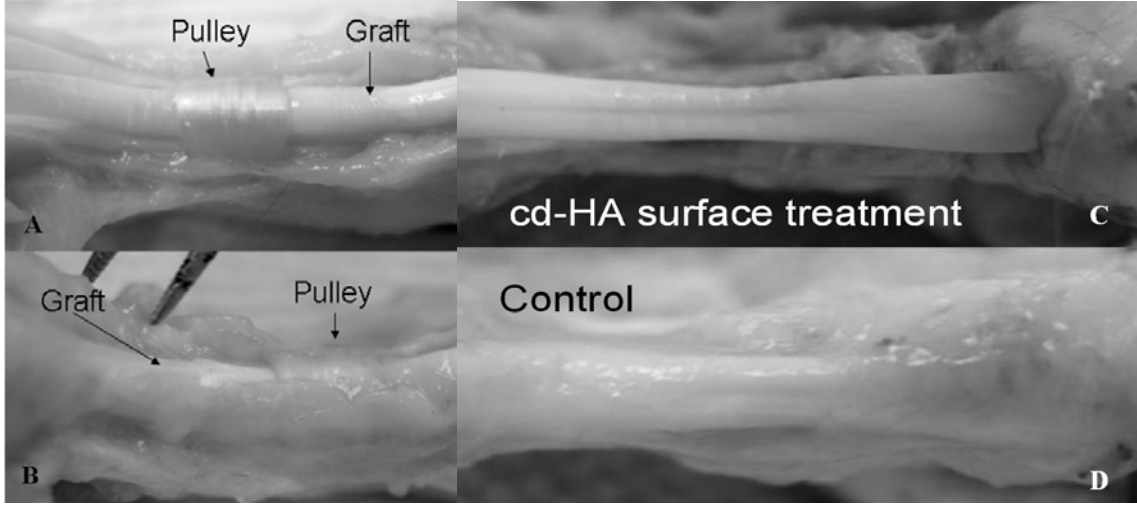
7.3. Subjektif değerlendirme

Graft onarımı sırasında primer onarım yapılan yerde kopma meydana geldiği gözlemlendi. İki tendon ucu yaklaşık 30 mm mesafede skar dokusundan ayırıldı. FDP distal ucu ile çevre doku arasında ciddi skar oluşmuştu. FDP'nin proksimal ucu ise tendon kılıfı içinde proksimale doğru retrakte olmuş durumda ve bir miktar yapışıklık mevcuttu (Şekil 18).

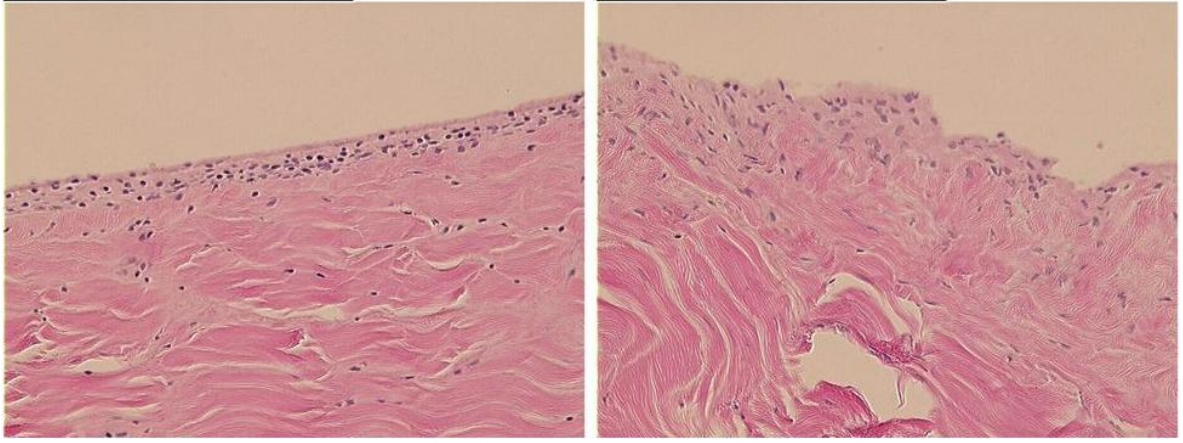
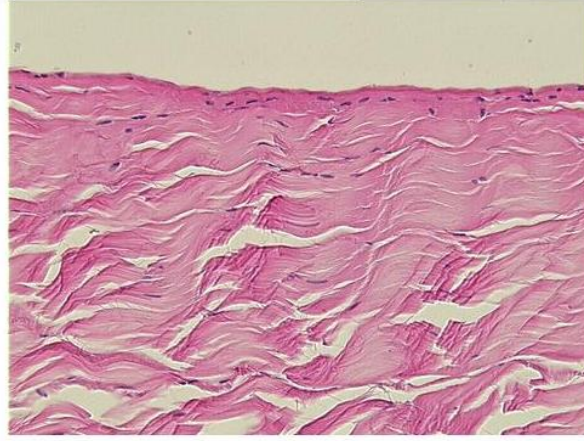


Şekil 18. A. Kopmuş tendon uçları arasında skar oluşumu. B. Tendon proksimal ucunda daha az yapışıklık mevcut.

Greftleme seansında diseksiyon sırasında yapılan gözlemlerde cd-HA uygulanan grup greftlerde kontrol gruplarına göre greft boyunca daha az adezyon gözlemlendi (Şekil 19). Adezyonlar genellikle tendonun proksimal ve distal ucundaydı. Cd-HA jelatin uygulanan tendonların yüzeyi daha düzgün ve parlaktı. Histolojik olarak gerek otogreftler, gerekse allogreftler yapısal olarak intaktı ve herhangi bir rezorpsiyon ya da dağılma gözlenmedi (Şekil 20). HE boyama ile greftlerin normal FDP tendonuna benzer kollajen yapıya sahip oldukları görüldü. Cd-HA ve kontrol grupları arasında belirgin yapısal fark görünmedi. Cd-HA ile muamele edilmiş olsun ya da olmasın, deney ve kontrol gruplarında lenfositler ya da diğer inflamatuvar hücreler gözlenmedi. Proksimal tendon-greft bileşkesinde tenositlerin alıcı alandan grefte doğru proliferasyon olup göç ettiği gözlemlendi (Şekil 21).



Şekil 19. A. Cd-HA uygulanmış ekstrasinovyal otogreft tendon, nispeten yapışıklığı az ve düz bir yüzey sergilemiş. B. Kontrol otogreft C. Cd-HA uygulanmış intrasinovyal allogreft tendon, parlak düz yüzeye sahip, adezyon az. D. Kontrol allogreft tendon.



Şekil 20. A. Normal tendon, HE boyama ile görünüm. B. Cd-HA uygulanmış greft (allogreft).

C. Kontrol greft (allogreft) 100X



Şekil 21. Proksimal alıcı tendon ile allograft birleşme yeri. Noktalı çizginin üst kısmı alıcı alan, alt kısmı greft bölgesi. Prolifere olup göç eden tenositler görülmekte (200X büyütme).

8. TARTIŞMA

Tendon grefti kullanılarak fleksör tendon rekonstrüksiyonu, tendon kesisinin primer olarak onarılamadığı durumlarda, gecikmiş onarım yapılması gereken durumlarda veya ciddi yumuşak doku travması sonrası kötü skarla iyileşme durumlarında endikedir (171, 172). Fleksör tendon greftlemenin diğer bir endikasyonu da başarısız primer onarımdır (129-131). Bu çalışmada insanda sık karşılaşılan tendon grefti endikasyonu olan başarısız primer onarım sonrası tendon greftlemeyi bir hayvan modeline uyguladık.

Yapılan son deneysel çalışmalarda intrasinovyal ve ekstrasinovyal orijinli otojen greftler arasında belirgin fark olduğu gösterilmiştir (173, 174). İntrasinovyal tendonlar donör tendon için ideal tercih olarak görülmektedir (175). Ekstrasinovyal tendonlarla karşılaştırıldıklarında intrasinovyal tendonlar intrinsik olarak epitenon hücrelerinden proliferasyonla ve minimal bir adezyonla iyileşebilirler (173, 176). Yapılan çalışmalar da intrasinovyal tendon grefti uygulamasında proksimal sütür hattında intrinsik neovaskularizasyon meydana geldiğini (174, 177) ve daha az matriks komponenti ve DNA salgılandığı gösterilmiştir. Bu da tendon hücrelerinin sinovyal difüzyonla canlı kaldıklarını gösterir (176, 177). Buna karşın ekstrasinovyal tendonların greft olarak uygulandıklarında adeta bir skafold (scaffold) gibi davrandığı ve yaygın hücre ölümü müteakip hızlı bir onarım sürecine gittiği gösterilmiştir (178).

Silikon rodla onarıma başlanmasından önce tendonun kılıfıyla beraber kompozit allogreft olarak kullanılması tarif edilmiş ve iyi sonuçlar bildirilmiştir (179, 180). Bu da daha önce preservasyon tekniklerinden doğan olumsuz sonuçlardan dolayı uzaklaşılan konuya ilgiyi tekrar arttırmıştır. Preservasyon teknikleri içinde liyofilizasyon (dondurarak kurutma) ve

formaldehitle preservasyonda en başarılı sonuçlar elde edilmiştir (73, 181, 182). Bu çalışmada da liyofilizasyon tekniği kullanılarak allogreftler hazırlanmıştır.

PL 57, plantaris 85 ve ayak 1. parmak ekstansörleri 86 otogreft olarak fleksör tendon onarımında en çok kullanılan donör alanlardır. Bununla birlikte deneysel çalışmalar ekstrasinovyal tendon greftleri uygulamalarının intrasinovyal tendon greftlerine göre çevre dokuya daha çok yapıştığını göstermiştir (173, 183). Sonuçları iyileştirmek için aşamalı tendon onarımı (126, 172, 183), vaskülerize serbest tendon grefti (184) ve tendon yerine kullanılan materyaller (185) buna bir alternatif olarak geliştirilmişse de hala kullanımları tartışmalıdır. İdeal tendon onarımı basit bir cerrahi prosedürle tek aşamalı olarak yapılabilmesi ve kullanıma hazır, herhangi bir morbidite oluşturmayan bir kaynaktan alınabilmesi, doğal intrasinovyal tendon gibi performans gösterebilmesidir. cd-HA jelatin tendonların adezyonunu azaltmak, doğal tendon gibi fonksiyon görebilmesini sağlamak için geliştirilmiştir.

Tendon otogreftleri için çok çeşitli uygun donör alanlar mevcut olduğundan teorik olarak allogreftte multipl yaralanma olan ve çok fazla tendon greftine ihtiyaç duyulan vakalar gibi çok az durumda ihtiyaç duyulur. Ancak gelecekte gerek çalışmamızdaki gibi yüzey modifikasyonlarının geliştirilmesi gerekse yeni deneysel ve klinik çalışmaların yapılmasıyla allogreftlerle rekonstrüksiyon otogreftlerin donör morbiditesine bir alternatif oluşturabilir.

Zhao ve arkadaşları in vivo kanin modelde fleksör tendon otogreftini cd-HA ile muamele ederek kullanmışlar ve kayma direnci ile parmak fonksiyonunu değerlendirmişlerdir (11). Çalışmada 24 köpek kullanılmış, ekstrasinovyal PL tendonu arka ayaklardan alınarak ön ayaklarda oluşturulan defektler rekonstrükte edilmiş. Her köpeğin bir tendonu cd-HA jelatinle bir tendonu ise salinle muamele edilerek postoperatif 1. 3. ve 6. haftalarda HA qantifikasyonu ve diğer testler yapılmış. cd-HA uygulanan grupta fleksiyon için gereken kuvvetin ve kayma

direncinin kontrole göre anlamlı derecede az olduğunu gösterilmişlerdir. Her ne kadar cd-HA uygulanan ekstrasinovyal tendonun parmak fonksiyonunu ve tendon kayma yeteneğini iyileştirdiği gösterilmiş olsa da sağlam parmak ve tendonun kullanıldığı model tam olarak klinikte görülen patolojik şartları taklit etmemektedir. Çalışmamızda kullanmış olduğumuz model eksojen HA ile yüzey modifikasyonunun gerçekten faydalı olup olmadığını saptamada klinik olarak daha güvenilirdir.

Köpek modeli, fleksör tendon araştırmalarında özellikle zon II bölgesinde insan fleksörlerine benzerlikleri olduğundan geniş kabul görmüş bir modeldir. Bununla birlikte köpek parmağı vücut yükünü taşıyan bir organdır. Normal yürüme sırasında distal falankslar fleksiyona gelir ve vücut ağırlığını taşır. Bundan dolayı insan tendonuna göre köpek parmağı fleksör tendonu göreceli olarak daha fazla yük taşır. Bu farktan dolayı fleksör tendon onarımı sonrası kopma kanin modelde çok sıktır. Kanin modelinin kullanıldığı çoğu fleksör tendon araştırmaları yeni onarım teknikleri (164, 186-188), tedavi karşılaştırmaları (128, 189) veya iyileşmeye yardımcı olan topikal tedaviler üzerine odaklanmış, fonksiyonel sonucun değerlendirilmesi (adezyon formasyonu) ve iyileşme durumu sonucu belirleyen başlıca faktörler olmuştur. Genellikle tedavinin ise yaramadığının göstergesi olarak hesaba katılan komplikasyonlara ise daha az dikkat verilmiştir. Çalışmamızla aynı merkezde yapılan bir başka çalışmada, kanin in vivo model kullanılarak zon 2 bölgesinde tendon onarımı yapılmış, ardından kopma ve defekt (gap) oluşumu ile ilgili faktörler analiz edilmiştir (13). Çalışmada postoperatif immobilizasyonun yeterince yapılmamasından dolayı aşırı yük binmesinin tendon onarımı sonrasında kopma ve defekt oluşumunda başlıca faktör olduğu gösterilmiştir. Bu model bizim de çalışmamızda başarısız primer onarım modeli olarak greftleme endikasyonu için kullanılmıştır.

Farklı konsantrasyonlar ve moleköl ağırlıkları ile eksojen uygulanan HA ile yapılan çalışmışlarda yüksek moleköl ağırlıklı ve yüksek konsantrasyondaki HA' in tendon kılıfında daha uzun süre kaldığı gösterilmiştir (190). Bu çalışmada fleksör tendon olmaksızın tendon kılıfına (tendon rezeke edilmiş halde) ideal şartlarda HA koyarak yıkım hızına bakmışlardır. Bununla birlikte fleksör tendon yaralanması, tamiri ya da greftlemesi sonrasında fleksör kılıf genellikle kapatılamaz. Bu da postoperatif dönemde kılıf içinde kalıp tendona temas edecek HA konsantrasyon ve volümünün azalmasına neden olabilir. Dahası, devamlı tendon kayması esnasında, HA' i tendon yüzeyinden kaldıran sürtünme olurken, HA ile tendon yüzeyi arasındaki güçlü bağı sürdürmek HA konsantrasyonundan daha önemli olabilir (191-193).

Yeni biyo polimerler oluşturmak için karbodiimide kullanılarak hyaluronik asitin kullanımı, kollajen gibi diğer biyolojik moleküllerle çapraz bağ oluşturulması daha önce anti-adezyon membranları (157, 194) ve biodegradable scaffold'lar (195, 196) gibi ürünlerde, doku rejenerasyonu ya da zaman bağımlı ilaç dağılımı gereçlerinde yaygın olarak kullanılmıştır. HA' in bu modifikasyonunun suda çözünürlüğü azalttığı, bağlanma kuvvetini arttırdığı ve böylece dokuda kalım süresini arttırdığına inanılmaktadır (157). Karbodiimid ile muamele edilmiş HA (cd-HA)' in ticari formunun (Seprafilm ya da Seprafilm II, Genzyme Corp, Cambridge, Mass) jinekolojik ve abdominal cerrahiler sonrasında postoperatif yapışmayı azalttığı gösterilmiştir (157, 197, 198). Bununla birlikte cd-HA' in tendon allogrefti üzerindeki etkisi bildirilmemiştir.

Sun ve arkadaşlarının çalışmamızla aynı merkezde yaptığı çalışmada 30 kanin PL tendonu beş farklı formül grubuna ayrılmıştır: 1) kontrol, 2) %1 HA + 0.25 ECD (cd-HA), 3) 10% sadece jelatin, 4) 10% jelatin + 0.25% EDC (cd-jelatin), 5) 1% HA + 10% jelatin + 0.25%

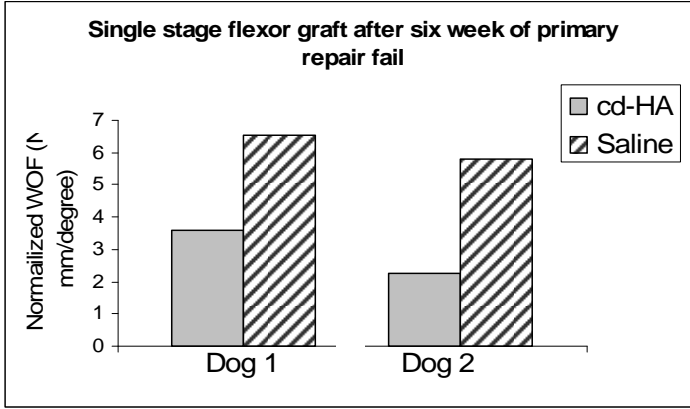
EDC (cd-HA jelatin) 63. Formül muamele edilmiş ve edilmemiş tüm grup tendonların friksiyon kuvvetleri salin banyosunda 37C° de ölçülmüştür. 100 siklus fleksiyon/ekstansiyon hareket tekrarı sonrasında cd-jelatin grubunun kontrol, cd-HA ve jelatin gruplarına göre anlamlı derecede düşük kayma direncine sahip olduğu gösterilmiştir. Çalışmada test sonrası tendonlar tarayıcı elektron mikroskopisi ile incelenmiş cd-HA jelatin tedavisi uygulanan tendon yüzeyinin uygulanmamış tendon yüzeyine göre 500 siklus hareketten sonra daha pürüzsüz olduğu bildirilmiştir (10). Aynı çalışmada yüksek büyütmede PL tendonunun cd-HA jelatin ile muamele sonrası intrasinovyal tendon ile benzer yüzeye sahip olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte bu kimyasal karışımın içindeki komponentlerin optimal konsantrasyon ve oranı hakkında literatürde bilgi yoktu. Tanaka ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma ile friksiyonu azaltmak ve kalıcılığı arttırmak için kullanılan bu tendon yüzey modifikasyonu doku mühendisliği yaklaşımının komponentlerini optimize etmek amaçlanmıştır (199). Çalışmada 40 PL tendonu erişkin mongrel köpeklerinden elde edilip normal kayma direnci ölçülmüş, ardından tendonlar farklı konsantrasyonlarda HA (0.5%, 1%, ve 2%) ve EDC/NHS (0.05%, 0.25%, ve 1%) %10 jelatin karışımına tabi tutulmuşlar. Tendon friksiyonu 1000 siklüs fleksiyon ekstansiyon hareketi simülasyonu sonrasında ölçülmüş, test sonrası tendon yüzeyinde kalan HA biotinize HA bağlayıcı protein boyama ile değerlendirilmiş. Elde ettikleri sonuçlara göre yüzey tedavisi sonrası sadece HA olan grupla anlamlı fark olduğu ancak EDC/NHS konsantrasyonları ve HA konsantrasyonu ve EDC/NHS konsantrasyonları arası anlamlı fark olduğu gösterilmiştir. HA konsantrasyonuna bakılmaksızın 1000 siklus sonrası %1 EDC/NHS konsantrasyonunun friksiyonu anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir. Düşük kayma direncine sahip tendonların daha pürüzsüz yüzeye sahip olduğu ve yüzeylerinde daha fazla rezidüel HA

kaldığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da cd-HA jelatin solüsyonu %1 sodyum hyaluronat, %10 jelatin, %1 EDC/NHS kombinasyonu şeklinde optimum kombinasyonla kullanılmıştır.

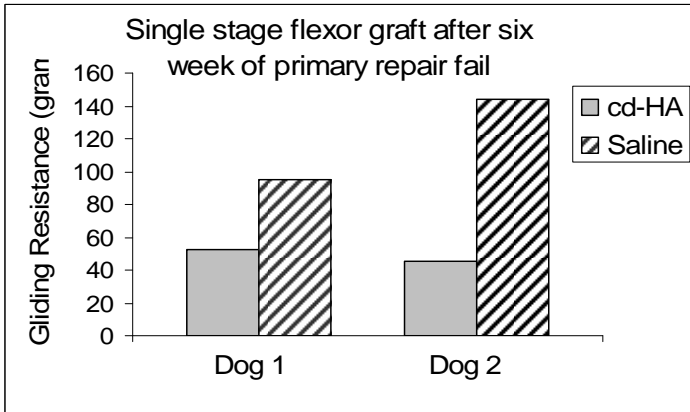
HA' in doku içinde normal yarı ömrü üç günden az olduğundan eksojen uygulanan HA tendon yüzeyinde normal HA turnoverinden dolayı kısa sürede yıkılacaktır. Ancak yapılan çalışmalar cd-HA jelatinin bir hafta sonra bile hala tendon yüzeyinde kaldığını göstermiştir (11). Bu da bir şekilde bu modifikasyonun HA' in yüzeyde kalma süresini uzattığını göstermektedir. Çalışmamızda otogreftlerin yanında allogreftlerde de cd-HA kullanılmış, içerisinde hiç intrinsik tenosit bulunmayan allogreftlerde altıncı haftada bol miktarda tenositler ve düzenli kollajen dizilimi olması cd-HA jelatinin proksimal tendon anastomoz hattından tenosit göçüne mani olmadığını gösterilmiştir.

Çalışmamızın yapıldığı klinikte yapılan bir pilot çalışmada başarısız primer onarım sonrası otogreftleme iki köpeğin 4 tendonunda yapılmıştır (200). Primer onarım sırasında tendon kesisinin iki ucuna radyolüsen markırlar yerleştirilmiş, kopmadan hemen sonra floroskopik incelemede aralarında ki "gap" 10 mm iken bir hafta sonra 28 mm olmuştur. Tek aşamalı tendon greftleme primer onarım rüptüründen 6 hafta sonra yapılmış, cd-HA ve kontrol grupları oluşturulmuştur. PL tendonları çalışmamızdaki gibi transfer edilmiş, postoperatif immobilizasyon ve rehabilitasyon uygulanmıştır. Fleksiyon için gereken güç, fonksiyonu değerlendirmek için, tendon friksiyon kuvveti ise kayma direnci ölçümü için kullanılmıştır. Bu pilot çalışmanın sonucuna göre ekstrasinovyal tendon greftinin cd-HA jelatin ile yüzey modifikasyonunun parmak fonksiyonunu ve tendon kayma yeteneğini başarısız primer onarım modelinde iyileştirdiğini sonucuna varılmıştır (Şekil 22,23). Çalışmamızda elde edilen histolojik

sonuçlarda ise cd-HA jelatin ile yüzey modifikasyonunun otojen tendon greftlerinin tenosit sayısına olumsuz etkisi olmadığı gösterilmiştir.



Şekil 22. Pilot çalışma sonucu cd-HA jel uygulanan parmaklarda fleksiyon için gereken güç salin grubuna göre daha azdı



Şekil 23. cd-HA uygulanmış parmaklarda friksiyon gücü kontrol grubuna göre daha azdı.

Daha önce anyını merkezde cd-HA jelatin uygulamasının intrasinovyal allogreft tendonun in vivo kanin modelde fleksiyon için gereken güç ve kayma direncine etkisini göstermek amacıyla bir yapılan bir çalışma da allogreftle rekonstrüksiyon yapılan 12 köpeğin 24 FDP tendonunda cd-HA jelatin ve kontrol grupları oluşturmuş (12), postoperatif 6. haftada analizler yapmışlardır. Analizler sonucunda fleksiyon için gereken güç ve kayma direncinin kontrol grubuna göre cd-HA uygulanan allogreftlerde anlamlı derecede düşük olduğu ve distal tendon kemik yapışma yeri kopma direnci açısından fark olmadığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise cd-HA jelatin uygulanmış allogreftle tendon rekonstrüksiyonu sonucunda histolojik bulgular incelenmiş, kontrol gruplarına göre greftlerdeki tenositler sayılarak

karşılaştırılmıştır. cd-HA jelatinin tenosit sayısına herhangi bir anlamlı etki göstermediği gözlemlenmiştir. Bu da akla gelen ‘cd-HA tendon yüzeyine uzun süreli yapışıkten epitenona ait tenositlerin göç edeceği alıcı tendon greft temas yüzeyi olan proksimal anastomoz hattında bariyer etkisi yapabilir mi?’ sorusunun cevabını açıklamıştır. Sonuçlarımıza göre hem allogreft hem de otogreft tendon greftlemede cd-HA tenositlerin göçlerinde olumsuz bir etkisi olmayabilir ancak daha ileri çalışmalara özellikle otojen greftlerdeki tenositlerin ne kadarının doğal, ne kadarının göç etmiş olan tendonlardan kaynaklandığını ortaya çıkarmak için ihtiyaç vardır. Ayrıca otojen intrasinovyal ve ekstrasinovyal tendonların da kendi içinde karşılaştırıldığı daha ileri çalışmalara da ihtiyaç vardır.

Hayvan modellerinden elde edilen sonuçlar her zaman klinik tecrübesi gibi değerli değildir. Bununla birlikte kanin modeli tendon araştırmalarında geniş kabul görmüştür (201-206). Her ne kadar tendon grefti genellikle sinovyum olan bir ortama (sinovyal hücre tabakalı kılıfı olan) nakledilse de (207, 208), yapılan çalışmalarda tendon greftleri çoğunlukla ekstrasinovyal kaynaklardan alınmıştır. Hayvan modellerinde ekstrasinovyal tendon greftlerinin intrasinovyal tendon greftlerine göre çevre dokuya daha çok yapıştıkları ve sonuçta fonksiyonun daha kötü olduğu gösterilmiştir (208-210). Maalesef intrasinovyal tendon otogrefti için potansiyel kaynaklar sınırlıdır. Allogreft kaynakları varsa da allogreft intrasinovyal tendon kullanarak fleksör tendon rekonstrüksiyonu çok az bildirilmiştir (7, 211). Çalışmamız bu konuda üzerinde çok az durulan intrasinovyal allogreft rekonstrüksiyonun histolojik yönünü ele alarak literatürde üzerinde yeterince durulmayan bu alana katkı sağlamıştır.

Köpek ve tavuk gibi hayvan modelleri tendon grefti araştırmalarında da 40 yıldır kullanılmaktadır (202, 212). Ancak fleksör tendon greftleme yalnız normal hayvanlarda çalışılmış, gerçek klinik durumu taklid eden primer tamir sonrası kopma modeli

kullanılmamıştır. İdeal modellerde, tendon ve fleksör kılıfta daha önce meydana gelen yaralanmaya bağlı problemler iyileşmesi ve skar oluşumu olmaksızın klinik patolojik şartlar gerçekten sağlanmış olamaz. Çevre dokudaki bu farklılık (normal yerine skarlı doku) donör tendonun mekanik ve biyolojik özelliklerini direkt olarak etkileyecektir. Bu nedenle çalışmamızda uyguladığımız fleksör tendon grefti araştırmasının kopmuş primer onarım hayvan modelinde yapılması klinik olarak daha güvenilir ve kritik öneme sahiptir.

Literatürde sınırlı sayıda kantitatif histolojik değerlendirme yapılan tendon iyileşmesi çalışması (213, 214) olsada tendon greftlerinde iyileşme ile ilgili kantitatif histolojik çalışma bulunmamaktadır. Hasslund ve arkadaşları farelerde otogreft ve allogreft fleksör tendon onarımı karşılaştırmışlardır (215). Ramesh ve arkadaşları ise sığırdaki allogreft tendon ile rekonstrüksiyonu çalışmışlardır (216). Her iki çalışmada histolojik inceleme yapılmış ancak kantitatif bir inceleme yapılmamıştır. Primer fleksör tendon iyileşmesi ile ilgili literatürde çok fazla yayın bulunsada otogreft ve allogreft tendon ile yapılan onarım sonrası gerek histolojik gerekse biomekanik çalışma çok kısıtlıdır. Literatür araştırmamızda tendon greftlerin kantitatif olarak değerlendirmesi yapılan tek çalışma koyun anterior krusiyat ligaman rekonstrüksiyonunu allogreft ve otogreft tendonla yapan bir çalışmadır (217). Çalışmada mm²'ye düşen tenosit sayısı karşılaştırılmış ve otogreft tendonlarda hücre sayısı allogreftlere göre anlamlı düzeyde fazla bulunmuş. Bizim çalışmada da benzer şekilde birim alana düşen ortalama tenosit sayısı otogreftlerde anlamlı düzeyde daha fazlaydı. Yine aynı çalışmada tendonların daha çok proksimal ve distal sütür hatlarında daha çok adezyon olduğu, otogreftlerde daha fazla adezyon olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular da bizim çalışmamızdaki bulgularla uyumluydu. Daha önce yapılmış bir diğer otogreft tendon çalışmasında ise ekstrasinovyal otogreftin önce hücre ölüm sonrasında hızlı bir onarım sürecine girdiği gösterilmiştir (178). Gerek anterior krusiyat

ligamanın otogreftle rekonstrüksiyonu yapılan çalışma da gerekse bizim çalışmamızda otogreftlerin daha fazla sayıda hücreye sahip olmaları çalışmada bahsedilen bu hücrel rejenerasyona bağlı olabilir (217). Bu konuda otogreft tendon rekonstrüksiyonunda farklı zaman intervallerinde histolojik inceleme yapılan daha ileri çalışmalar faydalı olacaktır.

Gerek cd-HA jelatinin tendon greftlerinin iyileşmesine etkisi, gerekse otojen ve allojen tendon greftlerinin iyileşmesi, hakkında çok az çalışma olan bakir konulardır ve literatürde histolojik olarak kantitatif değerlendirme yapılan in vivo fleksör tendon rekonstrüksiyon çalışması yoktur. Bu çalışmamızda in-vivo modelde allojen ve otojen tendon ile greftleme histolojisi kantitatif olarak karşılaştırılmış ve otojen tendon greftlerinin nispeten hipersellüler olduğu gösterilmiştir. Yine çalışmamızda tendon kayma direncini arttıran cd-HA jelatinin hem allojen hem de otojen greftler üzerindeki histolojik etkisini göstermek için yapılan histolojik çalışmada tenosit sayısı açısından anlamlı bir fark oluşturmadığı gösterilmiştir. Tendon greftlerinin farklı iyileşme evrelerinde birim alana düşen tenosit sayılarının tespiti için daha ileri kantitatif histolojik çalışmalar gereklidir.

9. SONUÇ

Otogreft tendonlar greftlemenin 6. haftasında anlamlı derecede daha fazla hücreye sahipler. Bunun nedeni fibroblastların hızlı migrasyonu ve otogreftlerde transfer sırasında bulunan canlı fibroblastlar olabilir. Her ne kadar cd-HA uygulanmış tendonlar daha fazla fibroblast içerse de fark anlamlı değildir. Bu çalışmada cd-HA ile tendon greftlerini muamele etmenin otogreftlerde tendon hücrelerinin yaşayabilirliğine, allogreftlerde de alıcı alandan tendon migrasyonuna herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna varılabilir. cd-HA veya daha ileri modifikasyonları ve yüzey modifikasyonları ile tendon otogreft ve allogreftleri gelecekte tendon cerrahisinde önemli yer tutacaktır.

10. ÖZET

Bu çalışmanın amacı karbodiimid'den derive edilmiş hyaluronik asit (cd-HA) jelatinin ekstrasinovyal otogreft ve intrasinovyal allogreft tendonlara olan histolojik etkisini in-vivo modelde araştırmaktır.

Çalışmada 14 köpeğin bir ön ekstremiteleri 2. ve 5. parmak FDP tendonları kullanıldı. 6 köpeğin 12 tendonuna otogreft ile greftleme yapıldı. 8 köpeğin de 16 tendonuna allogreft ile greftleme yapıldı. Her köpeğin bir tendonuna cd-HA jelatinli diğerine kontrol tendonu ile greftleme yapıldı. Otogreft donörü için aynı hayvanların arka ayak peroneus longus (PL) tendonları kullanılırken allogreft donörü için ayrı donör köpekler kullanıldı. Greftlemeden 6 hafta sonra köpekler kurban edilerek greftler incelendi ve histolojik örnekler alındı. Örneklerden hazırlanan HE boyalı kesitlerde tenositler randomize olarak sayılarak ortalamalar gruplar arasında karşılaştırıldı.

Allojen cd-HA uygulanan grup tenosit sayısı ortalamaları kontrol grubuna göre fazlaydı ancak fark anlamlı değildi ($p=0,2$). Otojen cd-HA uygulanan grup kontrol grubuna göre daha fazla tenosit ortalamasına sahipti ancak fark anlamlı değildi ($p=0,1$). Buna karşın gerek kontrol gruplarında ($p=0,02$), gerek cd-HA uygulanan gruplarda ($p=0,03$), gerekse tüm grup karşılaştırıldığında ($p=0,003$) otojen gruplar allojen gruplara göre daha fazla tenosit ortalamasına sahipti ve farklar istatistiksel olarak anlamlıydı.

Ekstrasinovyal otogreftler greftlemenin 6. haftasında intrasinovyal allogreftlere göre birim alanda daha fazla tenosit içermektedir. Cd-HA uygulanan tendonlarda birim alana düşen

tenosit sayısı daha fazla olsa da fark anlamlı değildir. Cd-HA jelatin yüzey modifikasyonunun tendon greftlerinin histolojik yapısına ve tenosit sayısına bir etkisi yoktur.

ANAHTAR SÖZCÜKLER

Allogreft tendon, otogreft tendon, hyaluronik asit, karbodiimid

11. ABSTRACT

The aim of the study is investigating the histological effect of karbodiimid derivate hyaluronic acid (cd-HA) gelatin on extra synovial autograph and intra synovial allograft tendons in in-vivo model. We hypothesized that the application of cd-HA gelatin to allogenuous and autogenous tendon grafts doesn't disturb the histological structure of the grafts while improving the gliding resistance.

2nd and 5th digits of 14 canines' FDP tendons were used in the study. Grafting with autograft was applied to 12 digits of 6 canines and allograft to 16 digits of 8 Kanin es. Each dogs's one digit was chosen for cd-HA gelatin and the other was chosen for control. While same Kanin e's hind limbs were used as PL tendon donor area for autograft group, different donors were used for allograft group. Six weeks later Kanines were sacrificed and the grafts were examined and histological samples were obtained. Tenocytes were counted randomly in HE stained slices prepared from the samples and the mean values were compared between the groups.

The number of mean tenocytes in allogenuous cd-HA applied groups was higher than the control group but the difference wasn't significant ($p=0.2$). The autogenous group which cd-HA applied also has higher average tenocyte than the control group but it wasn't significant ($p=0.1$).

On the other hand autogenous groups in control group ($p=0.02$), cd-HA group ($p=0.03$) and in all group ($p=0.003$) had higher average of the number of the tenocytes than the allogeneous groups.

The extra synovial autografts has much more tenocytes in unit area at 6th weeks of grafting. Even though the number of the tenocytes in the unit area is higher in cd-HA applied tendons, it wasn't significant. Cd-HA gelatin surface modification has no effect on the histological structure of the tendon grafts.

KEYWORDS

Allograft tendon, autograft tendon, hyaluronic acid, karbodiimid

12. KAYNAKLAR

1. Kleinert HE, Lubahn JD. Current state of flexor tendon surgery. *Ann Chir Main* 1984;3:7-17
2. Idler RS. Anatomy and biomechanics of the digital flexor tendons. *Hand Clin* 1985;1:3-11
3. Cohen MJ, Kaplan L. Histology and ultrastructure of the human flexor tendon sheath. *J Hand Surg Am* 1987;12:25-29
4. Messina A. The double armed suture: tendon repair with immediate mobilization of the fingers. *J Hand Surg Am* 1992;17:137-142
5. Strickland JW. Flexor tendon repair. *Hand Clin* 1985;1:55-68
6. Imbriglia JE, Hunter J, Rennie W. Secondary flexor tendon reconstruction. *Hand Clin* 1989;5:395-413
7. Liu TK. Clinical use of refrigerated flexor tendon allografts to replace a silicone rubber rod. *J Hand Surg Am* 1983;8:881-887
8. Zhao C, Amadio PC, Momose T, et al. The effect of suture technique on adhesion formation after flexor tendon repair for partial lacerations in a canine model. *J Trauma* 2001;51:917-921
9. Nishida J, Araki S, Akasaka T, et al. Effect of hyaluronic acid on the excursion resistance of tendon grafts. A biomechanical study in a canine model in vitro. *J Bone Joint Surg Br* 2004;86:918-924
10. Sun YL, Yang C, Amadio PC, et al. Reducing friction by chemically modifying the surface of extrasynovial tendon grafts. *J Orthop Res* 2004;22:984-989
11. Zhao C, Sun YL, Amadio PC, et al. Surface treatment of flexor tendon autografts with carbodiimide-derivatized hyaluronic Acid. An in vivo canine model. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:2181-2191
12. Zhao C, Sun YL, Ikeda J, et al. Improvement of Flexor Tendon Reconstruction Using Carbodiimide Derivatized Hyaluronic Acid and Gelatin Modified Intrasynovial Allografts. Available

13. Zhao C, Moran SL, Cha SS, et al. An analysis of factors associated with failure of tendon repair in the canine model. *J Hand Surg Am* 2007;32:518-525
14. Field PL. Tendon fiber arrangement and blood supply. *Aust N Z J Surg* 1971;40:298
15. Wilson WF, Hueston JT. The intratendinous architecture of the tendons of flexor digitorum profundus and flexor pollicis longus. *Hand* 1973;5:33-38
16. Enna CD, Ruby JR. Scanning electron microscopic study of long flexors in human fingers. *J Hand Surg Am* 1981;6:329-335
17. Walbeehm ET, McGrouther DA. An anatomical study of the mechanical interactions of flexor digitorum superficialis and profundus and the flexor tendon sheath in zone 2. *J Hand Surg Br* 1995;20:269-280
18. Stein A, Lemos M, Stein S. Clinical evaluation of flexor tendon function in the small finger. *Ann Emerg Med* 1990;19:991-993
19. Kaplan EB. Muscular and tendinous variations of the flexor superficialis of the fifth finger of the hand. *Bull Hosp Joint Dis* 1969;30:59-67
20. Austin GJ, Leslie BM, Ruby LK. Variations of the flexor digitorum superficialis of the small finger. *J Hand Surg Am* 1989;14:262-267
21. Robb JE. the termination of flexor tendon sheath: an anatomic study. *hand* 1979;11:17
22. Strauch B, de Moura W. Digital flexor tendon sheath: an anatomic study. *J Hand Surg Am* 1985;10:785-789
23. Lundborg G, Myrthage R. The vascularization and structure of the human digital tendon sheath as related to flexor tendon function. An angiographic and histological study. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1977;11:195-203
24. Doyle JR. Anatomy and function of the palmar aponeurosis pulley. *J Hand Surg Am* 1990;15:78-82
25. Doyle JR, blyethe WF. the finger flexor tendon sheath and pulleys: anatomy and reconstruction. St.Louis: C.V. Mosby; 1975
26. Lin GT, Cooney WP, Amadio PC, et al. Mechanical properties of human pulleys. *J Hand Surg Br* 1990;15:429-434
27. Barton NJ. Experimental study of optimal location of flexor tendon pulleys. *Plast Reconstr Surg* 1969;43:125-129
28. Van Der Meulen J, Leistikow PA. Tendon healing. *Clin Plast Surg* 1977;4:439-458

29. Mayer L. The physiological method of tendon transplantation. *Surg Gynecol Obstet* 1916;22:183
30. Brockis JG. The blood supply of the flexor and extensor tendons of the fingers in man. *J Bone Joint Surg Br* 1953;35-B:131-138
31. Edwards DA. The blood supply and lymphatic drainage of tendons. *J Anat* 1946;80:147-152
142
32. Peacock EE, Jr. A study of the circulation in normal tendons and healing grafts. *Ann Surg* 1959;149:415-428
33. Colville J, Callison JR, White WL. Role of mesotenon in tendon blood supply. *Plast Reconstr Surg* 1969;43:53-60
34. Smith JW. Blood Supply of Tendons. *Am J Surg* 1965;109:272-276
35. Schatzker J, Branemark PI. Intravital observations on the microvascular anatomy and microcirculation of the tendon. *Acta Orthop Scand Suppl* 1969;126:1-23
36. Lundborg G. The microcirculation in rabbit tendon. In vivo studies after mobilisation and transection. *Hand* 1975;7:1-10
37. Lundborg G, Myrhage R, Rydevik B. The vascularization of human flexor tendons within the digital synovial sheath region--structural and functional aspects. *J Hand Surg Am* 1977;2:417-427
38. Zhang ZZ, Zhong SZ, Sun B, et al. Blood supply of the flexor digital tendon in the hand and its clinical significance. *Surg Radiol Anat* 1990;12:113-117
39. Ochiai N, Matsui T, Miyaji N, et al. Vascular anatomy of flexor tendons. I. Vincular system and blood supply of the profundus tendon in the digital sheath. *J Hand Surg Am* 1979;4:321-330
40. Zbrodowski A, Gajisin S, Grodecki J. Mesotendons of digital flexor muscles and their vasculature. *Hand* 1981;13:231-238
41. Armenta E, Fisher J. Anatomy of flexor pollicis longus vinculum system. *J Hand Surg Am* 1984;9:210-212
42. Potenza AD. Critical Evaluation of Flexor-Tendon Healing and Adhesion Formation within Artificial Digital Sheaths. *J Bone Joint Surg Am* 1963;45:1217-1233
43. Matthews P. The fate of isolated segments of flexor tendons within the digital sheath--a study in synovial nutrition. *Br J Plast Surg* 1976;29:216-224

44. Manske PR, Lesker PA. Nutrient pathways of flexor tendons in primates. *J Hand Surg Am* 1982;7:436-444
45. Manske PR, Whiteside LA, Lesker PA. Nutrient pathways to flexor tendons using hydrogen washout technique. *J Hand Surg Am* 1978;3:32-36
46. Manske PR, Bridwell K, Lesker PA. Nutrient pathways to flexor tendons of chickens using tritiated proline. *J Hand Surg Am* 1978;3:352-357
47. Manske PR, Bridwell K, Whiteside LA, et al. Nutrition of flexor tendons in monkeys. *Clin Orthop Relat Res* 1978:294-298
48. Manske PR, Lesker PA, Bridwell K. Experimental studies in chickens on the initial nutrition of tendon grafts. *J Hand Surg Am* 1979;4:565-575
49. Lundborg G, Holm S, Myrhage R. The role of the synovial fluid and tendon sheath for flexor tendon nutrition. An experimental tracer study on diffusional pathways in dogs. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1980;14:99-107
50. Katsumi M. Experimental investigation of healing process of tendons with or without synovial coverage in or outside of synovial cavity. *Seikei Geki* 1980;31:1394
51. Kain CC, Russell JE, Burri R, et al. The effect of vascularization on avian flexor tendon repair. A biochemical study. *Clin Orthop Relat Res* 1988:295-303
52. Komanduri M, Phillips CS, Mass DP. Tensile strength of flexor tendon repairs in a dynamic cadaver model. *J Hand Surg Am* 1996;21:605-611
53. Soejima O, Diao E, Lotz JC, et al. Comparative mechanical analysis of dorsal versus palmar placement of core suture for flexor tendon repairs. *J Hand Surg Am* 1995;20:801-807
54. Khan K, Riaz M, Murison MS, et al. Early active mobilization after second stage flexor tendon grafts. *J Hand Surg Br* 1997;22:372-374
55. Silfverskiold KL, May EJ. Early active mobilization after tendon transfers using mesh reinforced suture techniques. *J Hand Surg Br* 1995;20:291-300
56. Tang JB, Zhang QG, Ishii S. Autogenous free sheath grafts in reconstruction of injured digital flexor tendon sheath at the delayed primary stage. *J Hand Surg Br* 1993;18:31-32
57. Peterson WW, Manske PR, Dunlap J, et al. Effect of various methods of restoring flexor sheath integrity on the formation of adhesions after tendon injury. *J Hand Surg Am* 1990;15:48-56

58. Pennington DG. The influence of tendon sheath integrity and vincular blood supply on adhesion formation following tendon repair in hens. *Br J Plast Surg* 1979;32:302-306
59. Tang JB, Ishii S, Usui M, et al. Flexor sheath closure during delayed primary tendon repair. *J Hand Surg Am* 1994;19:636-640
60. Gelberman RH, Woo SL, Amiel D, et al. Influences of flexor sheath continuity and early motion on tendon healing in dogs. *J Hand Surg Am* 1990;15:69-77
61. Saldana MJ, Ho PK, Lichtman DM, et al. Flexor tendon repair and rehabilitation in zone II open sheath technique versus closed sheath technique. *J Hand Surg Am* 1987;12:1110-1114
62. Peterson WW, Manske PR, Kain CC, et al. Effect of flexor sheath integrity on tendon gliding: a biomechanical and histologic study. *J Orthop Res* 1986;4:458-465
63. Skoog T, Persson BH. An experimental study of the early healing of tendons. *Plast Reconstr Surg (1946)* 1954;13:384-399
64. Potenza AD. Tendon healing within the flexor digital sheath in the dog. *J Bone Joint Surg Am* 1962;44-A:49-64
65. Lindsay WK, McDougall EP. Digital flexor tendons: an experimental study. III. The fate of autogenous digital flexor tendon grafts. *Br J Plast Surg* 1961;13:293-304
66. Matthews P, Richards H. Factors in the adherence of flexor tendon after repair: an experimental study in the rabbit. *J Bone Joint Surg Br* 1976;58:230-236
67. Matthews P, Richards H. The repair reaction of flexor tendon within the digital sheath. *Hand* 1975;7:27-29
68. Furlow LT, Jr. The role of tendon tissues in tendon healing. *Plast Reconstr Surg* 1976;57:39-49
69. Lundborg G, Rank F. Experimental intrinsic healing of flexor tendons based upon synovial fluid nutrition. *J Hand Surg Am* 1978;3:21-31
70. Hansson HA, Lundborg G, Rydevik B. Restoration of superficially damaged flexor tendons in synovial environment. An experimental ultrastructural study in rabbits. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1980;14:109-114
71. Lundborg G. Experimental flexor tendon healing without adhesion formation--a new concept of tendon nutrition and intrinsic healing mechanisms. A preliminary report. *Hand* 1976;8:235-238

72. Chow SP, Hooper G, Chan CW. The healing of freeze-dried rabbit flexor tendon in a synovial fluid environment. *Hand* 1983;15:136-142
73. Potenza AD, Melone C. Evaluation of freeze-dried flexor tendon grafts in the dog. *J Hand Surg Am* 1978;3:157-162
74. Menon J, Frykman G, Swarm OJ. Role of synovial fluid cells in the healing of flexor tendons. *Clin Orthop Relat Res* 1985:300-305
75. Abrahamsson SO, Lundborg G, Lohmander LS. Tendon healing in vivo. An experimental model. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1989;23:199-205
76. Becker H, Graham MF, Cohen IK, et al. Intrinsic tendon cell proliferation in tissue culture. *J Hand Surg Am* 1981;6:616-619
77. Graham MF, Becker H, Cohen IK, et al. Intrinsic tendon fibroplasia: documentation by in vitro studies. *J Orthop Res* 1984;1:251-256
78. Russell JE, Manske PR. Collagen synthesis during primate flexor tendon repair in vitro. *J Orthop Res* 1990;8:13-20
79. Gelberman RH. Flexor tendon physiology: tendon nutrition and cellular activity in injury and repair. *Instr Course Lect* 1985;34:351-360
80. Gelberman RH, Manske PR, Akeson WH, et al. Flexor tendon repair. *J Orthop Res* 1986;4:119-128
81. Manske PR, Lesker PA. Biochemical evidence of flexor tendon participation in the repair process--an in vitro study. *J Hand Surg Br* 1984;9:117-120
82. Abrahamsson SO, Lundborg G, Lohmander LS. Restoration of the injured flexor tendon surface: a possible role for endotenon cells. A morphological study of the rabbit tendon in vivo. *J Hand Surg Br* 1992;17:553-560
83. Mass DP, Tuel R. Human flexor tendon participation in the in vitro repair process. *J Hand Surg Am* 1989;14:64-71
84. Mass DP, Tuel RJ. Intrinsic healing of the laceration site in human superficialis flexor tendons in vitro. *J Hand Surg Am* 1991;16:24-30
85. Garner WL, McDonald JA, Kuhn C, 3rd, et al. Autonomous healing of chicken flexor tendons in vitro. *J Hand Surg Am* 1988;13:697-700
86. Gelberman RH, Amiel D, Harwood F. Genetic expression for type I procollagen in the early stages of flexor tendon healing. *J Hand Surg Am* 1992;17:551-558

87. Chang J, Most D, Stelnicki E, et al. Gene expression of transforming growth factor beta-1 in rabbit zone II flexor tendon wound healing: evidence for dual mechanisms of repair. *Plast Reconstr Surg* 1997;100:937-944
88. Gelberman RH, Steinberg D, Amiel D, et al. Fibroblast chemotaxis after tendon repair. *J Hand Surg Am* 1991;16:686-693
89. Amiel D, Gelberman R, Harwood F, et al. Fibronectin in healing flexor tendons subjected to immobilization or early controlled passive motion. *Matrix* 1991;11:184-189
90. Gelberman RH, Nunley JA, 2nd, Osterman AL, et al. Influences of the protected passive mobilization interval on flexor tendon healing. A prospective randomized clinical study. *Clin Orthop Relat Res* 1991:189-196
91. Woo SL, Gelberman RH, Cobb NG, et al. The importance of controlled passive mobilization on flexor tendon healing. A biomechanical study. *Acta Orthop Scand* 1981;52:615-622
92. Gelberman RH, Amiel D, Gonsalves M, et al. The influence of protected passive mobilization on the healing of flexor tendons: a biochemical and microangiographic study. *Hand* 1981;13:120-128
93. Rothman RH, Slogoff S. The effect of immobilization on the vascular bed of tendon. *Surg Gynecol Obstet* 1967;124:1064-1066
94. Amadio PC, Hunter JM, Jaeger SH, et al. The effect of vincular injury on the results of flexor tendon surgery in zone 2. *J Hand Surg Am* 1985;10:626-632
95. Takai S, Woo SL, Horibe S, et al. The effects of frequency and duration of controlled passive mobilization on tendon healing. *J Orthop Res* 1991;9:705-713
96. Kleinert HE, Verdan C. Report of the Committee on Tendon Injuries (International Federation of Societies for Surgery of the Hand). *J Hand Surg Am* 1983;8:794-798
97. Masson AJ. *Selected Readings in Plastic Surgery*. Dallas: Baylor University, Medical Center; 2003
98. Frewin PR, Schecker LR. Triggering secondary to an untreated partially-cut flexor tendon. *J Hand Surg Br* 1989;14:419-421
99. Schlenker JD, Lister GD, Kleinert HE. Three complications of untreated partial laceration of flexor tendon--entrapment, rupture, and triggering. *J Hand Surg Am* 1981;6:392-398

100. Gordon SL. Late rupture of one slip on the floor digitorum superficialis: an unusual cause of triggering. *Clin Orthop Relat Res* 1981;142-143
101. Reynolds B, Wray RC, Jr., Weeks PM. Should an incompletely severed tendon be sutured? *Plast Reconstr Surg* 1976;57:36-38
102. Wray RC, Jr., Ollinger H, Weeks PM. Effects of mobilization on tensile strength of partial tendon lacerations. *Surg Forum* 1975;26:557-558
103. Ollinger H, Wray RC, Jr., Weeks PM. Effects of suture on tensile strength gain of partially and completely severed tendons. *Surg Forum* 1975;26:63-64
104. Hariharan JS, Diao E, Soejima O, et al. Partial lacerations of human digital flexor tendons: a biomechanical analysis. *J Hand Surg Am* 1997;22:1011-1015
105. Wray RC, Jr., Holtman B, Weeks PM. Clinical treatment of partial tendon lacerations without suturing and with early motion. *Plast Reconstr Surg* 1977;59:231-234
106. Hoffman S, Simon BE, Nachamie B. Unusual flexor tendon ruptures in the hand. *Arch Surg* 1968;96:259-262
107. Gunter GS. TRAUMATIC AVULSION OF THE INSERTION OF FLEXOR DIGITORUM PROFUNDUS. *ANZ Journal of Surgery* 1960;30:1
108. Smith JH, Jr. Avulsion of a profundus tendon with simultaneous intraarticular fracture of the distal phalanx--case report. *J Hand Surg Am* 1981;6:600-601
109. Leddy JP. Avulsions of the flexor digitorum profundus. *Hand Clin* 1985;1:77-83
110. Matthews RN, Walton JN. Spontaneous rupture of both flexor tendons in a single digit. *J Hand Surg Br* 1984;9:134-136
111. Entin MA. Flexor Tendon Repair and Grafting in Children. *Am J Surg* 1965;109:287-293
112. Bell JL, Mason ML, Koch SL, et al. Injuries to flexor tendons of the hand in children. *J Bone Joint Surg Am* 1958;40-A:1220-1230
113. Vahvanen V, Gripenberg L, Nuutinen P. Flexor tendon injury of the hand in children. A long-term follow-up study of 84 patients. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1981;15:43-48
114. O'Connell SJ, Moore MM, Strickland JW, et al. Results of zone I and zone II flexor tendon repairs in children. *J Hand Surg Am* 1994;19:48-52

115. Gelberman RH, Siegel DB, Woo SL, et al. Healing of digital flexor tendons: importance of the interval from injury to repair. A biomechanical, biochemical, and morphological study in dogs. *J Bone Joint Surg Am* 1991;73:66-75
116. Schneider LH, Hunter JM, Norris TR, et al. Delayed flexor tendon repair in no man's land. *J Hand Surg Am* 1977;2:452-455
117. Salvi V. Delayed primary suture in flexor tendon division. *Hand* 1971;3:181-183
118. Ejeskar A. Flexor tendon repair in no man's land. II. Early versus late secondary tendon repair ad modum Kleinert. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1980;14:279-283
119. Green WL, Niebauer JJ. Results of primary and secondary flexor-tendon repairs in no man's land. *J Bone Joint Surg Am* 1974;56:1216-1222
120. Schneider LH, Wehbe MA. Delayed repair of flexor profundus tendon in the palm (zone 3) with superficialis transfer. *J Hand Surg Am* 1988;13:227-230
121. Posner MA. Flexor superficialis tendon transfers to the thumb--an alternative to the free tendon graft for treatment of chronic injuries within the digital sheath. *J Hand Surg Am* 1983;8:876-881
122. Littler JW. The physiology and dynamic function of the hand. *Surg Clin North Am* 1960;40:259-266
123. Mason ML, Allen HS. The Rate of Healing of Tendons: An Experimental Study of Tensile Strength. *Ann Surg* 1941;113:424-459
124. Kleinert HE, Kutz JE, Atasoy E, et al. Primary repair of flexor tendons. *Orthop Clin North Am* 1973;4:865-876
125. Strickland JW. Flexor tendon surgery. Part 1: Primary flexor tendon repair. *J Hand Surg Br* 1989;14:261-272
126. Amadio PC, Wood MB, Cooney WP, 3rd, et al. Staged flexor tendon reconstruction in the fingers and hand. *J Hand Surg Am* 1988;13:559-562
127. Jansen CW, Watson MG. Measurement of range of motion of the finger after flexor tendon repair in zone II of the hand. *J Hand Surg Am* 1993;18:411-417
128. Zhao C, Amadio PC, Momose T, et al. Effect of synergistic wrist motion on adhesion formation after repair of partial flexor digitorum profundus tendon lacerations in a canine model in vivo. *J Bone Joint Surg Am* 2002;84-A:78-84

129. Leversedge FJ, Zelouf D, Williams C, et al. Flexor tendon grafting to the hand: an assessment of the intrasynovial donor tendon-A preliminary single-cohort study. *J Hand Surg Am* 2000;25:721-730
130. Pulvertaft RG. Tendon grafting for the isolated injury of flexor digitorum profundus. *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst* 1984;44:424-434
131. Strickland JW. Flexor tendon surgery. Part 2: Free tendon grafts and tenolysis. *J Hand Surg Br* 1989;14:368-382
132. Wilson S, Sammut D. Flexor tendon graft attachment: a review of methods and a newly modified tendon graft attachment. *J Hand Surg Br* 2003;28:116-120
133. Sakellarides HT, Papadopoulos G. Surgical treatment of the divided flexor digitorum profundus tendon in zone 2, delayed more than 6 weeks, by tendon grafting in 50 cases. *J Hand Surg Br* 1996;21:63-66
134. Boyes JH. Flexor-tendon grafts in the fingers and thumb; an evaluation of end results. *J Bone Joint Surg Am* 1950;32-A:489-499; passim
135. Fetrow KO. Diagnosis and management of the severed flexor tendon of the hand. *Surg Clin North Am* 1974;54:923-938
136. Stanley BG. Flexor tendon injuries: late solution. Therapist's management. *Hand Clin* 1986;2:139-147
137. Hunter JM, Jaeger SH, Matsui T, et al. The pseudosynovial sheath--its characteristics in a primate model. *J Hand Surg Am* 1983;8:461-470
138. Daseler EH, Anson BJ. The plantaris muscle. An anatomical study of 750 specimens. *J Bone Joint Surg* 1943;25:133
139. Aulicino PL, Ainsworth SR, Parker M. The independent long extensor tendon of the fifth toe as a source of tendon grafts for the hand. *J Hand Surg Br* 1989;14:236-238
140. Snow JW. Ulnar half of extensor digiti quinti proprius tendon for flexor grafts. *Plast Reconstr Surg* 1968;42:603-604
141. Beris AE, Darlis NA, Korompilias AV, et al. Two-stage flexor tendon reconstruction in zone II using a silicone rod and a pedicled intrasynovial graft. *J Hand Surg Am* 2003;28:652-660
142. Coenen L, Boeckx W, Gruwez JA. The treatment of flexor tendon lesions of the fingers. *Acta Chir Belg* 1981;80:195-204

143. Finsen V. Two-stage grafting of digital flexor tendons: a review of 43 patients after 3 to 15 years. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2003;37:159-162
144. LaSalle WB, Strickland JW. An evaluation of the two-stage flexor tendon reconstruction technique. *J Hand Surg Am* 1983;8:263-267
145. Tonkin M, Hagberg L, Lister G, et al. Post-operative management of flexor tendon grafting. *J Hand Surg Br* 1988;13:277-281
146. Balazs EA. *Cosmetic and Pharmaceutical Applications of Polymers*. New York: Plenum Press; 1991
147. St Onge R, Weiss C, Denlinger JL, et al. A preliminary assessment of Na-hyaluronate injection into "no man's land" for primary flexor tendon repair. *Clin Orthop Relat Res* 1980:269-275
148. Namiki O, Toyoshima H, Morisaki N. Therapeutic effect of intra-articular injection of high molecular weight hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1982;20:501-507
149. Peyron JG, Balazs EA. Preliminary clinical assessment of Na-hyaluronate injection into human arthritic joints. *Pathol Biol (Paris)* 1974;22:731-736
150. Amiel D, Ishizue K, Billings E, Jr., et al. Hyaluronan in flexor tendon repair. *J Hand Surg Am* 1989;14:837-843
151. Meyers SA, Seaber AV, Glisson RR, et al. Effect of hyaluronic acid/chondroitin sulfate on healing of full-thickness tendon lacerations in rabbits. *J Orthop Res* 1989;7:683-689
152. Gaughan EM, Nixon AJ, Krook LP, et al. Effects of sodium hyaluronate on tendon healing and adhesion formation in horses. *Am J Vet Res* 1991;52:764-773
153. Salti NI, Tuel RJ, Mass DP. Effect of hyaluronic acid on rabbit profundus flexor tendon healing in vitro. *J Surg Res* 1993;55:411-415
154. Wiig M, Abrahamsson SO, Lundborg G. Tendon repair--cellular activities in rabbit deep flexor tendons and surrounding synovial sheaths and the effects of hyaluronan: an experimental study in vivo and in vitro. *J Hand Surg Am* 1997;22:818-825
155. Foland JW, Trotter GW, Powers BE, et al. Effect of sodium hyaluronate in collagenase-induced superficial digital flexor tendinitis in horses. *Am J Vet Res* 1992;53:2371-2376

156. Band PA. *The Chemistry Biology and Medical Application of Hyaluronan and its Derivatives*. London U.K.: Portland Press Ltd; 1998
157. Tzianabos AO, Cisneros RL, Gershkovich J, et al. Effect of surgical adhesion reduction devices on the propagation of experimental intra-abdominal infection. *Arch Surg* 1999;134:1254-1259
158. Frazier WH, Miller M, Fox RS, et al. Hand injuries: incidence and epidemiology in an emergency service. *JACEP* 1978;7:265-268
159. Kelsey JL. *Upper extremity disorders: frequency, impact, and cost*. New York: Churchill Livingstone; 1997
160. Jacobsen SJ. Rochester Epidemiology Project. Available at: <http://www.researchgrantdatabase.com/g/5R01AR030582-39/ROCHESTER-EPIDEMIOLOGY-PROJECT/>. Accessed 01.10.2008,
161. Strickland JW. Development of flexor tendon surgery: twenty-five years of progress. *J Hand Surg Am* 2000;25:214-235
162. Edinburg M, Widgerow AD, Biddulph SL. Early postoperative mobilization of flexor tendon injuries using a modification of the Kleinert technique. *J Hand Surg Am* 1987;12:34-38
163. Chambon X, Paysant J, Gavillot C, et al. [Rehabilitation protocols after repairs of zone 2 of the flexor tendon of the hand: presentation and indications]. *Chir Main* 2001;20:368-377
164. McLarney E, Hoffman H, Wolfe SW. Biomechanical analysis of the cruciate four-strand flexor tendon repair. *J Hand Surg Am* 1999;24:295-301
165. Momose T, Amadio PC, Zhao C, et al. Suture techniques with high breaking strength and low gliding resistance: experiments in the dog flexor digitorum profundus tendon. *Acta Orthop Scand* 2001;72:635-641
166. Tanaka T, Amadio PC, Zhao C, et al. Gliding characteristics and gap formation for locking and grasping tendon repairs: a biomechanical study in a human cadaver model. *J Hand Surg Am* 2004;29:6-14
167. King GJ, Edwards P, Brant RF, et al. Freezing influences the healing of rabbit medial collateral ligament autografts. *Clin Orthop Relat Res* 1995:244-253
168. Graf BK, Fujisaki K, Vanderby R, Jr., et al. The effect of in situ freezing on rabbit patellar tendon. A histologic, biochemical, and biomechanical analysis. *Am J Sports Med* 1992;20:401-405

169. Ju YJ, Tohyama H, Kondo E, et al. Effects of local administration of vascular endothelial growth factor on properties of the in situ frozen-thawed anterior cruciate ligament in rabbits. *Am J Sports Med* 2006;34:84-91
170. Kutsumi K, Amadio PC, Zhao C, et al. Gliding resistance of the extensor pollicis brevis tendon and abductor pollicis longus tendon within the first dorsal compartment in fixed wrist positions. *J Orthop Res* 2005;23:243-248
171. Honner R, Meares A. A review of 100 flexor tendon reconstructions with prosthesis. *Hand* 1977;9:226-231
172. Strickland JW. Flexor tendon injuries. Part 3. Free tendon grafts. *Orthop Rev* 1987;16:18-26
173. Gelberman RH, Seiler JG, 3rd, Rosenberg AE, et al. Intercalary flexor tendon grafts. A morphological study of intrasynovial and extrasynovial donor tendons. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1992;26:257-264
174. Gelberman RH, Chu CR, Williams CS, et al. Angiogenesis in healing autogenous flexor-tendon grafts. *J Bone Joint Surg Am* 1992;74:1207-1216
175. Seiler JG, 3rd, Reddy AS, Simpson LE, et al. The flexor digitorum longus: an anatomic and microscopic study for use as a tendon graft. *J Hand Surg Am* 1995;20:492-495
176. Seiler JG, 3rd, Gelberman RH, Williams CS, et al. Autogenous flexor-tendon grafts. A biomechanical and morphological study in dogs. *J Bone Joint Surg Am* 1993;75:1004-1014
177. Chaplin DM. The vascular anatomy within normal tendons, divided tendons, free tendon grafts and pedicle tendon grafts in rabbits. A microradioangiographic study. *J Bone Joint Surg Br* 1973;55:369-389
178. Abrahamsson SO, Gelberman R. Maintenance of the gliding surface of tendon autografts in dogs. *Acta Orthop Scand* 1994;65:548-552
179. Peacock EE, Jr., Madden JW. Human composite flexor tendon allografts. *Ann Surg* 1967;166:624-629
180. Liu TK. Transplantation of preserved composite tendon allografts. *J Bone Joint Surg Am* 1975;57:65-70
181. Flynn JE, Wilson JT, Child CG, et al. Heterogenous and autogenous-tendon transplants. An experimental study of preserved bovine-tendon transplants in dogs and autogenous-tendon transplants in dogs. *J Bone Joint Surg Am* 1960;42-A:91-110

182. Vamhidy L, Strauch B, Biro V. Preserved tendon grafts in reconstructive hand surgery: a review. *Acta Chir Hung* 1990;31:209-215
183. Seiler JG, 3rd, Chu CR, Amiel D, et al. The Marshall R. Urist Young Investigator Award. Autogenous flexor tendon grafts. Biologic mechanisms for incorporation. *Clin Orthop Relat Res* 1997:239-247
184. Guimberteau JC, Panconi B, Boileau R. Mesovascularized island flexor tendon: new concepts and techniques for flexor tendon salvage surgery. *Plast Reconstr Surg* 1993;92:888-903
185. Derwin K, Androjna C, Spencer E, et al. Porcine small intestine submucosa as a flexor tendon graft. *Clin Orthop Relat Res* 2004:245-252
186. Winters SC, Seiler JG, 3rd, Woo SL, et al. Suture methods for flexor tendon repair. A biomechanical analysis during the first six weeks following repair. *Ann Chir Main Memb Super* 1997;16:229-234
187. Savage R. In vitro studies of a new method of flexor tendon repair. *J Hand Surg Br* 1985;10:135-141
188. Lee H. Double loop locking suture: a technique of tendon repair for early active mobilization. Part II: Clinical experience. *J Hand Surg Am* 1990;15:953-958
189. Silva MJ, Brodt MD, Boyer MI, et al. Effects of increased in vivo excursion on digital range of motion and tendon strength following flexor tendon repair. *J Orthop Res* 1999;17:777-783
190. Hagberg L, Tengblad A, Gerdin B. Elimination of exogenously injected sodium-hyaluronate from rabbit flexor tendon sheaths. *J Orthop Res* 1991;9:792-797
191. Bulpitt P, Aeschlimann D. New strategy for chemical modification of hyaluronic acid: preparation of functionalized derivatives and their use in the formation of novel biocompatible hydrogels. *J Biomed Mater Res* 1999;47:152-169
192. Hanthamrongwit M, Reid WH, Grant MH. Chondroitin-6-sulphate incorporated into collagen gels for the growth of human keratinocytes: the effect of cross-linking agents and diamines. *Biomaterials* 1996;17:775-780
193. Kuo JW, Swann DA, Prestwich GD. Chemical modification of hyaluronic acid by carbodiimides. *Bioconjug Chem* 1991;2:232-241

194. Shih HN, Fang JF, Chen JH, et al. Reduction in experimental peridural adhesion with the use of a crosslinked hyaluronate/collagen membrane. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2004;71:421-428
195. Mao JS, Liu HF, Yin YJ, et al. The properties of chitosan-gelatin membranes and scaffolds modified with hyaluronic acid by different methods. *Biomaterials* 2003;24:1621-1629
196. Park SN, Park JC, Kim HO, et al. Characterization of porous collagen/hyaluronic acid scaffold modified by 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide cross-linking. *Biomaterials* 2002;23:1205-1212
197. Burns JW, Skinner K, Colt MJ, et al. A hyaluronate based gel for the prevention of postsurgical adhesions: evaluation in two animal species. *Fertil Steril* 1996;66:814-821
198. Leach RE, Burns JW, Dawe EJ, et al. Reduction of postsurgical adhesion formation in the rabbit uterine horn model with use of hyaluronate/carboxymethylcellulose gel. *Fertil Steril* 1998;69:415-418
199. Tanaka T, Sun YL, Zhao C, et al. Optimization of surface modifications of extrasynovial tendon to improve its gliding ability in a canine model in vitro. *J Orthop Res* 2006;24:1555-1561
200. Zhao C. Flexor Tendon Autograft after Primary Repair Failure in Canine Model In Vivo Rochester: Mayo Clinic
201. Zhao C, Amadio PC, Zobitz ME, et al. Effect of synergistic motion on flexor digitorum profundus tendon excursion. *Clin Orthop Relat Res* 2002:223-230
202. Seiler JG, Uchiyama S, Ellis F, et al. Reconstruction of the flexor pulley. The effect of the tension and source of the graft in an in vitro dog model. *J Bone Joint Surg Am* 1998;80:699-703
203. Lieber RL, Silva MJ, Amiel D, et al. Wrist and digital joint motion produce unique flexor tendon force and excursion in the canine forelimb. *J Biomech* 1999;32:175-181
204. Gelberman RH, Vande Berg JS, Lundborg GN, et al. Flexor tendon healing and restoration of the gliding surface. An ultrastructural study in dogs. *J Bone Joint Surg Am* 1983;65:70-80
205. Dobyens RC, Cooney WC, Wood MB. Effect of partial lacerations on canine flexor tendons. *Minn Med* 1982;65:27-32

206. Bishop AT, Cooney WP, 3rd, Wood MB. Treatment of partial flexor tendon lacerations: the effect of tenorrhaphy and early protected mobilization. *J Trauma* 1986;26:301-312
207. Abrahamsson SO, Gelberman RH, Lohmander SL. Variations in cellular proliferation and matrix synthesis in intrasynovial and extrasynovial tendons: an in vitro study in dogs. *J Hand Surg Am* 1994;19:259-265
208. Duffy FJ, Seiler JG, Hergueter CA, et al. Intrinsic mitogenic potential of canine flexor tendons. *J Hand Surg Br* 1992;17:275-277
209. Abrahamsson SO, Gelberman RH, Amiel D, et al. Autogenous flexor tendon grafts: fibroblast activity and matrix remodeling in dogs. *J Orthop Res* 1995;13:58-66
210. Noguchi M, Seiler JG, 3rd, Boardman ND, 3rd, et al. Tensile properties of canine intrasynovial and extrasynovial flexor tendon autografts. *J Hand Surg Am* 1997;22:457-463
211. Webster DA, Werner FW. Mechanical and functional properties of implanted freeze-dried flexor tendons. *Clin Orthop Relat Res* 1983:301-309
212. Farmer AW, Farkas LG, Herbert MA. Healing of a split flexor tendon graft--an experimental study in chickens. *Ann Plast Surg* 1983;10:284-289
213. Jones ME, Mudera V, Brown RA, et al. The early surface cell response to flexor tendon injury. *J Hand Surg Am* 2003;28:221-230
214. Branford OA, Mudera V, Brown RA, et al. A novel biomimetic material for engineering postsurgical adhesion using the injured digital flexor tendon-synovial complex as an in vivo model. *Plast Reconstr Surg* 2008;121:781-793
215. Hasslund S, Jacobson JA, Dadali T, et al. Adhesions in a murine flexor tendon graft model: autograft versus allograft reconstruction. *J Orthop Res* 2008;26:824-833
216. Ramesh R, Kumar N, Sharma AK, et al. Acellular and glutaraldehyde-preserved tendon allografts for reconstruction of superficial digital flexor tendon in bovines: Part I--Clinical, radiological and angiographical observations. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2003;50:511-519
217. Scheffler SU, Schmidt T, Gangey I, et al. Fresh-frozen free-tendon allografts versus autografts in anterior cruciate ligament reconstruction: delayed remodeling and inferior mechanical function during long-term healing in sheep. *Arthroscopy* 2008;24:448-458

