



LOKAL 5-FLUOROURASİL UYGULANMASININ TENDON İYİLEŞMESİNDE ADEZYON AZALTICI ETKİSİ: DENEYSSEL ÇALIŞMA

Güner UYSAL¹, Aykut MISIRLIOĞLU², Selçuk ÖZTUNÇ¹, Tayfun AKÖZ²

Tendon onarımlarından sonra fibrotik yapışıklık gelişimi operasyonun sonucunu etkileyebilen en önemli sorundur. Bugüne kadar tendon yapışıklığını önlemek amacıyla birçok yöntem araştırılmış olmasına rağmen bu sorun el cerrahisinde henüz çözümlenememiş bir problemdir. Prospektif, kontrollü olarak planlanan bu çalışmada, in-vitro olarak 5-Fluorourasilin tendon iyileşmesindeki etkisini araştırmak amacıyla 10 adet erkek Yeni Zelanda tavşanında sağ pençede tendon kesileri ve tenorafi yapılarak, lokal 5-Fluorourasil uygulamasıyla postoperatif dönemde histolojik olarak yapışıklık miktarları araştırıldı. İki farklı deney grubunun, iki kontrol grubu oluşturularak kıyaslandığı bu çalışmada, 5-Fluorourasilin tendon iyileşmesinin erken döneminde, yapışıklıkların oluşmasını anlamlı derecede engellediği gösterildi.

Anahtar kelimeler: Tendon, fibrozis, 5-Fluorourasil

DECREASE IN ADHESION FORMATION BY LOCAL APPLICATION OF 5-FLUOROURACIL ON TENDON HEALING: IN VITRO STUDY

Tendon adhesions that formed after tendon operations are the most important problem, which may effect on results. Up to now, different techniques have been researched to prevent adhesions, but this problem has not been solved yet. In this prospective controlled study, it is aimed to investigate the effect of 5-Fluorouracil on tendon healing. Complete tendon incisions were made on the arms of the 10 New Zealand rabbits. After the standard reparation of the tendons, 5-Fluorouracil was applied on the wounds locally and the amount of tendon adhesions were evaluated in the early postoperative period histopathologically. In this study, two control and two test groups were constituted and it has showed that application of 5-Fluorouracil after tendon repairing can prevent tendon adhesions significantly in the early postoperative period.

Key words: Tendon, fibrosis, 5-Fluorouracil

Tendon yaralanmalarının cerrahi tedavisi iyi bir anatomi bilgisi, temel cerrahi prensiplere uyulması, iyi planlanmış bir ameliyat, atravmatik teknik ve ameliyat sonrası programlı takip gerektirir. Ancak cerrahi tekniklerin giderek daha mükemmelleşmesine, dikiş teknikleri ve dikiş materyallerindeki ilerlemelere rağmen özellikle tendon yaralanmalarının tendon kılıfı içerisinde onarımı, halen en güç problemlerden biri olmaya devam etmektedir. Tendon cerrahisini etkileyen en önemli problem olan yapışıklıkların engellenmesi amacıyla, bugüne kadar deneysel olarak birçok biyolojik ve sentetik maddeler kullanılabildiğine rağmen, henüz bunların hiçbiri rutin klinik kullanıma girememiştir¹⁻¹¹.

Günümüzde genellikle kabul gören yaklaşım primer tendon onarımı ve erken kontrollü harekettir¹²⁻¹⁴. Tenorafiden sonraki ilk 7 gün tendonun gerilmeye en hassas, erken hareketin en riskli olduğu, ayrıca iyileşmenin en aktif olmasından dolayı yapışıklık teşekkülünün en fazla olduğu zaman dilimidir¹⁵. Bir antimetabolit olan 5-Fluorourasilin fibroblastik aktivitede uzamış baskılama oluşturduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir¹⁶.

Bu bilgiler doğrultusunda, tenorafilerden sonra gelişen yapışıklıkların önlenmesi amacıyla, klinik kullanım alanı bulabileceğini düşündüğümüz 5-Fluorourasilin primer onarılmış tendonlarda, ilk 7 günde fibrozis oluşumu üzerindeki etkisini araştırdık.

¹Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği, ²Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği
Başvuru tarihi: 27.10.2004, Kabul tarihi: 13.6.2005

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda kullanılmak üzere 10 adet, ortalama yaşları 12 ay ve ağırlıkları ortalama 3 kg olan, erkek Yeni-Zelanda tavşanları seçildi. Fibrotik yapışıklıkları engellemek amacıyla 5-fluorourasil 25 mg/ml (Fluorourasil 250 mg/10 ml amp Roche®) kullanıldı.

Anestezik madde olarak ketamin ve diazepamın 2/1'lik karışımı, lokal anestezik olarak lidokain %5 ve uygulama için 2 ml dental enjektör kullanıldı.

Çalışmada tavşanların sağ ön pençesinde 2, 3, 4 ve 5. parmakları kullanıldı. İkinci ve üçüncü parmaklar 1. ve 2. deney grubu (Grup A ve Grup B), 4. ve 5. parmaklar ise kontrol grupları olarak planlandı (Grup C ve Grup D). Birinci ve ikinci deney gruplarında tendon kesisi ve tamirini takiben, kesi bölgesi ve sinoviyal kılıf üzerine uygulanan 5-fluorourasil ile 5 dakika muamele edildi. Pozitif kontrol grubu sadece serum fizyolojikle yıkandı, negatif kontrol grubunda ise hiçbir işlem yapılmadı.

Hayvanların tüm parmaklarında distal falanks ile metakarp distali arası cilt insizyonları ile tendonlar sinoviyal kılıf üzerinden disseke edildi. Sinoviyal kılıf A2 ve A3 pulleylerin orta noktasından boylamasına kesilerek yüzeysel ve derin tendonlara ulaşıldı. Derin tendonlar kesildikten sonra, modifiye Kessler tekniğine uygun olarak onarıldı. İlk iki gruptaki parmaklarda tenorafi bölgelerine 25 mg/ml'lik 5-Fluorourasilden dental enjektör yardımıyla 25 mg (1 ml) uygulandı ve 5 dakika sonra bu bölge 3 ml serum fizyolojikle yıkandı. Grup C'de parmaklar sadece serum fizyolojikle yıkandıktan sonra tüm cilt kesileri 6/0 prolen ile kapatıldı. Postoperatif dönemde tüm ekstremitelerde immobilizasyon amacıyla alüminyum atel kullanıldı.



Operasyon sonrası 7. günde, tüm tendonlar dissekte edilerek sinoviyaları korunmak suretiyle eksize edildi ve Bovin solüsyonunu içerisinde 30 dakika muamele edildikten sonra gruplara ayrılarak histopatolojik değerlendirmeye alındı. Saf alkolle yıkanan preparatlar %23 formik asit ve %9 sodyum sitrat solüsyonu ile dekalsifikasyon işlemine alındı. Dekalsifikasyon işlemi tamamlandıktan sonra, preparatlar Shandon Hypercentre otomatize sistemi ile rutin doku takibine alınarak parafin kalıba gömüldü. Sonraki aşamada ise 3-4 mikron kesitler uzunlamasına taranarak, tendon kalınlığının ortasından ardışık 10 kesit alındı. Toplam 400 adet preparat hematoxilen-eosin ile boyandıktan sonra incelendi.

Tenorafî sonrası oluşan yapışıklıklar üç parametre kullanılarak değerlendirildi:

1. Yüzeysel tendon bifurkasyon bölgesindeki sinoviyal kalınlaşma,
2. Aynı bölgede birim alandaki sinoviyal fibroblast sayısı,
3. Tendon boyunca oluşmuş sinoviyal yapışıklığın yüzde oranı.

Sinoviyal kalınlık (reaksiyon) ışık mikroskopunda 100X büyütme ile tendon yüzeyinden dışa doğru ve tendona dik bir hatta, mikrometre cinsinden ölçüldü. Ölçüm yeri yüzeysel tendon bifurkasyonu alanına ve tenorafî bölgesi yakınlarına standardize edildi.

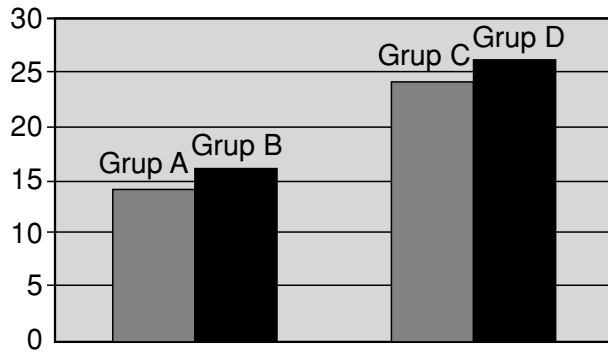
Çalışmada istatistiksel analizler, GraphPad Prisma V.3 paket programı ile yapıldı. Verilerin değerlendirmesinde tanımlayıcı istatistiksel yöntemlerin (standart sapma, ortalama) yanı sıra gruplar arası karşılaştırmalarda student-t testi ($p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde) kullanıldı.

BULGULAR

Makroskopik değerlendirme: Deney hayvanlarında herhangi bir komplikasyon görülmedi. Tendon disseksiyonları sırasında deney grupları ile kontrol grupları arasında belirgin fark tespit edildi. Deney gruplarında sinoviyal kılıf çoğu kez daha ince ve şeffaf, kontrol gruplarında ise daha kalın ve yoğun olarak görüldü.

Kalitatif histoloji: Sinoviyal kalınlaşma ve yapışıklığın sadece kesi alanında değil, tendon boyunca proksimal ve distale uzandığı ve tüm gruplarda sinoviyanın pullelere sıklıkla yapışık olduğu gözlemlendi. Fleksör tendonların volar yüzlerinde yapışıklığın daha fazla olduğu görüldü. Kontrol gruplarında 7. günde, PNL ve mezotel hücrelerinin fazla sayıda varlığı dikkatimizi çekti. Deney gruplarında ise

tek hücre tipi olan fibroblast hakimdi. Tenorafî sonrası 7. günde, yapışıklık bölgesinde sinoviyal kılıfta uzun çekirdekli oval ve iç şekilli hücrelerin (fibroblastlar) hakim olduğu ve yine aynı hücrelerin kesik tendon bölgesini doldurduğu gözlemlendi. Kontrol gruplarında iç şekilli hücrelerin daha fazla olduğu görüldü. Pozitif ve negatif kontrol grupları arasında kalitatif olarak belirgin farklılık gözlemlenmedi (Grafik 1, Tablo I).

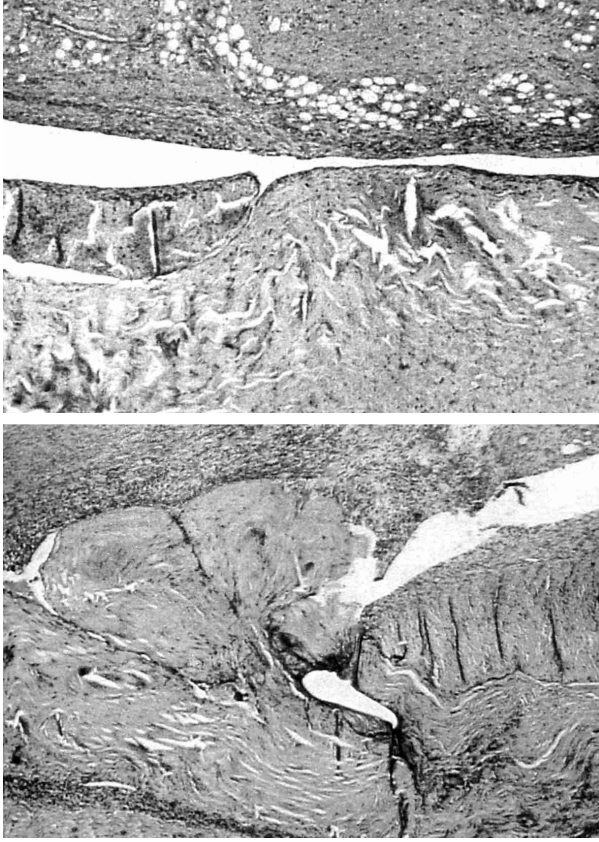


Grafik 1. Deney ve kontrol gruplarında yüzde yapışıklık oranları (A: Birinci deney grubu, B: İkinci deney grubu, C: Pozitif kontrol grubu, D: Negatif kontrol grubu)

Tablo I. Deney ve kontrol gruplarında ortalama sinoviyal kalınlık, yapışıklık oranları ve ortalama hücre sayıları (Grup A: Birinci deney grubu, Grup B: İkinci deney grubu, Grup C: Pozitif kontrol grubu, Grup D: Negatif kontrol grubu).

	Grup A	Grup B	Grup C	Grup D
Sinoviyal kalınlık	185.8 (± 25.3)	170 (± 26.5)	273 (± 29.4)	270.1 (± 32.2)
Yapışıklık oranları (%)	20.2 (± 3.24)	17.5 (± 2.64)	26.4 (± 3.3)	28.1 (± 4.13)
Ortalama hücre sayıları	283.9 (± 50.2)	281 (± 44.8)	368 (± 44.2)	366 (± 53.04)

Kantitatif histoloji: 5-Fluorourasil kullanılan tendonlarda sinoviyal kalınlıkta belirgin azalma görüldü. Deney ve kontrol grupları arasında hücre sayısındaki fark anlamlı bulundu (Tablo I). Yapışıklık oranları deney gruplarında açık olarak azdı. Özellikle hücre sayımı ve sinoviyal kalınlaşma açısından, deney ve kontrol çalışma grupları arasında belirgin farklılık tespit edildi (tavşan 1 / deney grubunda hücre sayısı ortalama 319, tavşan 2 / deney grubunda ortalama 422) ve tüm ölçümlerde genellikle anlamlı olarak korundu. Aynı tavşanda hücre sayımı, sinoviyal kalınlık ve yapışıklık oranlarının artma ve azalma yönünde paralel seyrettiği dikkati çekti. Sonuç olarak 5-Fluorourasil uygulanan toplam 20 deney tendonunda daha az yapışıklık ve daha az reaksiyon gelişti (Şekil 1).



Şekil 1. Postoperatif 7. günde histopatolojik görünüm: Üstte görülen 5-fluorourasil uygulanan tendonda (Grup A) sinoviyal reaksiyon, yapışıklık ve hücre hiperplazisi oldukça azdır. Altta görülen kontrol grubunda (Grup C), derin ve yüzeysel tendonlarda şiddetli yapışıklık gözlenmektedir.

Deney grupları arasında istatistiksel açıdan fark bulunamadı. Aynı şekilde kontrol grupları arasında da istatistiksel bir fark bulunamadı. Deney ve kontrol grupları arasındaki fark ise çok anlamlı bulundu (Tablo II). Deney grupları (A/B) ve kontrol grupları (C/D) arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$). Deney ve kontrol grupları (A+B/C+D) arasındaki fark ise anlamlı olarak bulundu ($p<0.05$).

Tablo II. Bulguların istatistiksel analizi ($\alpha=0.05$, nA=100, nB=100, nC=100, nD=100, nA+B=200, nC+D=200). A: Birinci deney grubu, B: İkinci deney grubu, C: Pozitif kontrol grubu, D: Negatif kontrol grubu.

	A/B t-test	C/D t-test	A+B/C+D t-test	Ortalama/STD A+B	Ortalama/STD C+D	%95 Güvenlilik A+B/C+D
Sinoviyal kalınlık	0.171	0.3689	1.1271 E-24	165.36/35.862	278.55/89.380	5.298/14.91
Yapışıklık oranı	0.2861	0.3377	1.1788 E-13	15.297/5.678	23.662/11.090	0.838/1.863
Hücre sayımı	0.1565	0.9434	1.6543 E-17	289/72.976	339/81427	10690/13253

TARTIŞMA

Tendon iyileşmesindeki en önemli problem, çevre dokulara yapışıklıklar ile tendonun kolayca kaymasının sağlanamamasıdır¹⁷. Yapışıklık gelişiminde cerrahi sütür önemli bir faktör olup, kılıfın yaralanması ve immobilizasyonu da buna yardımcıdır. Tendon iyileşmesinde intrinsek mekanizmanın tanımlanmasından sonra, araştırmaların çoğu yapışıklığın asıl nedeni olan ekstrinsek tendon iyileşmesini baskılamak ya da önlemek üzerine olmuştur. Bu çalışmalar üç ana başlık altında toplanabilir:

1. Tendon tamir sahasının komşu dokulardan izolasyonu,
2. Tamir sahasının mobilizasyonu,
3. İntrensek ve ekstrinsek iyileşme mekanizmalarının modifikasyonu.

Tendonun çevre dokulardan ayrılması amacıyla birçok araştırmacı, biyolojik kökenli çeşitli materyalleri tendon etrafına sarmayı denemişlerdir. Bunlar fasya cargini membranı, tunica vaginalis, amnioplastin, jelatin ve fibrin, ven, arter gibi biyolojik materyallerdir. Bunların çoğunun kullanımı ek bir fayda sağlamadığı gibi olumsuz sonuçlar da bildirilmiştir¹⁸⁻²⁰. Bu maddelerin çoğu ile ilgili ilk çalışmalar başlangıçta memnuniyet verici olsa da, zamanla kullanımlarından vazgeçilmiştir²¹⁻²³.

Radyasyon tedavisi, "growth" faktörler, matriks metalloproteaz inhibitörlerinin kullanımı gibi ekstrinsek ve intrinsek iyileşme mekanizmaları arasındaki dengeyi değiştirmek amacıyla yapılmış çalışmalar mevcuttur. Bu yöntemlerin çeşitli dezavantajlarından dolayı genel olarak kullanımları çok sınırlı olmuştur^{2,16}.

Tendon yapışıklıklarını engellemede kullanılan ilaçlar arasında en iyi bilineni steroidlerdir. Cohen²⁴, lokal steroid enjeksiyonuyla kollajen sentezi değişmeden kollajen yıkımı olduğunu göstermiştir. Steroidler iyileşme zamanında uzama ve kollajenolitik etkileri nedeniyle germe gücünde %40 oranında azalmaya neden olduğundan, sadece bazı merkezlerde sınırlı olarak kullanılmaktadır^{24,25}.

Antimetabolitler oftalmolojistler tarafından glokom cerrahisi sonrası yapışıklığı önlemek amacıyla kullanılmış ve hücre ölümüne neden olmadan fibroblastların büyüme ve çoğalmalarında uzun süre duraklama elde edilmiştir^{15,26,27}. Khan ve ark.¹⁶, tavşanlarda 5-Fluorourasille sinoviyal fibroblastların kontraktıl kabiliyetlerinde azalma tespit etmişlerdir. Kullanılan düşük doz ilaçla hücre ölümü olmamış, fibroblastların kontraktıl kabiliyetlerinde azalma meydana gelmiştir. Bu arada migrasyon ve sekresyon fonksiyonları devam etmiştir.



Bu çalışma 5-Fluorourasille tendon iyileşmesinde intrinsek ve ekstrinsek iyileşme mekanizmalarındaki dengenin, intrinsek iyileşme lehine değiştirilebileceğini ve yapışıklıkların tendon iyileşmesinde gecikme olmadan azaltılabileceğini göstermiştir. 5-Fluorourasille fibroblastların çoğalma ve kontraktıl kabiliyetleri baskılansa da, kollajen sentezlerinde azalma olmamaktadır. Sonuç olarak 5-Fluorourasil uygulaması yaralanmış tendonlarda iyileşmede gecikme veya germe gücünde azalmaya neden olmamaktadır.

Çalışmamızda klinik uygulamaya daha yakın olduğu için, sütür varlığında 5-Fluorourasilin etkinliğini araştırmaya karar verdik. Doz olarak Khan ve ark.nın¹⁶ yaptığı çalışmada hücre ölümüne sebep olmayan en yüksek konsantrasyon olan 25 mg/ml dozu seçtik. Yaptığımız ön çalışmalarda, tenorafı sonrası metakarpofalengeal eklem tendon kompleksine koyduğumuz sütür ve rijit olmayan atellemenin tavşanlarda immobilizasyon için yeterli olmadığını ve tenorafı bölgesinde rüptür oluştuğunu tespit ettik. Bu nedenle Augustine ve ark.nın² yaptığı çalışmada tendonda mevcut %50 sağlam liflerin rüptürü önlediği kanaatine vardık. Biz çalışmamızda mutlak immobilizasyon amacıyla, derin tendonu metakarp ortası seviyeden yeniden tam kat kestik ve ameliyat sonrası ekstremiteye rijit atel uyguladık.

Bu çalışmada 5-Fluorourasilin tendon onarımlarında lokal olarak uygulanması ile daha az yapışıklık oranları elde edildi. Uygulamanın operasyon sırasında lokal ve tek doz olarak yapılması, onarım süresine etki etmemesi, teknik olarak tecrübe gerektirmemesi yöntemin başlıca avantajlarıdır. Kemoterapi amacıyla kullanılan bir ilaç olan 5-Fluorourasil kolay elde edilebilen ve düşük maliyetli bir üründür. 5-Fluorourasilin tendon iyileşmesinde yapışıklıkları önlemekle beraber, germe gücünde azalmaya neden olmadığı önceki çalışmalarda gösterilmiş olsa da¹⁶, daha uzun dönem histolojik çalışmalar gereklidir.

Çalışmanın sonucunda; özellikle damar sinir eklem ve kemik yaralanmalarının olduğu kompleks sinoviyal fleksör tendon yaralanmalarında veya immobilizasyonun uzatılması gereken durumlarda, 5-Fluorourasilin lokal tek doz uygulamasının etkili olduğu kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Adamson JE, Wilson JN. The history of flexor tendon grafting. *J Bone Joint Surg* 1961; 43-A: 709-16.
2. Augustine A, Khan U, Khaw PT. Decrease in adhesion formation by a single application of 5-Fluorourasil after flexor tendon injury. *Plast Reconstr Surg* 1999; 103: 151.
3. Sarkin TL. The plastic replacement of severed flexor tendons of the fingers. *Br J Surg* 1956; 4: 232-40.
4. Gonzales R. Experimental use of Teflon in tendon surgery. *Plast Reconstr Surg* 1959; 23/5: 525-39.

5. Vandeput J, Jolicofu A. Greffes de veine en chirurgie réparatrice dans des cas de lésion tendineuse. *Excerpta Medica Surg* 1963; 2: 1012.
6. Wheeldon T. The use of cellophane as a permanent tendon sheath. *J Bone Joint Surg* 1963; 21: 393.
7. Gonzales RI. Experimental tendon repair within the flexor tunnels: Use of polyethylene tubes for improvement of functional results in the dog. *Surgery* 1949; 26/2: 181-98.
8. Ashley FL, Mc Connel DV, Polak T, et al. An evaluation of the healing process avian digital flexor tendons and grafts following the application of an artificial tendon sheath. *Plast Reconstr Surg* 1964; 33: 411.
9. Ksander GA, Vistnes L, Fogarty D. Experimental effects on surrounding fibrosis capsule formation from placing steroid in silicone bag-jel prosthesis before implantation. *Plast Reconstr Surg* 1978; 62: 873-83.
10. Weckesser EC. Prophylaxis of joint stiffness with triamcinolone acetone treatment of hand injuries. 2nd edition, Year Book Medical Publishers Inc, Chicago, 1974: 61-3.
11. Meredith J, Coker TP, Ward WM. The effect of fibrinolysin upon tendon healing in the dog. *Southern Med J* 1965; 58: 1267.
12. Green WL, Niebauer JJ. Primary and secondary flexor tendon repairs in "No Man's Land". *J Bone Joint Surg* 56: 1216-22.
13. Kleinert HE, Kutz JE, Atasoy E. Primary repair of flexor tendons. *Orthop Clin North Am* 1973; 4: 865-76.
14. Lundborg G. Experimental flexor tendon healing without adhesion formation. A new concept of tendon nutrition an intrinsic healing mechanism. *Hand* 1976; 8: 235-8.
15. Mason ML, Allen SH. The rate of healing of tendons. An experimental study of tensile strength. *Ann Surg* 1941; 113: 424-59.
16. Khan U, Occleston ML, Khaw PT. Single exposures to 5-Fluorourasil: A possible mode of targeted therapy to reduce contractile scarring in the injured tendon. *Plast Reconstr Surg* 1997; 99: 465-71.
17. Lindsay WK, Birch JR. The fibroblast in flexor tendon healing. *Plast Reconstr Surg* 1964; 34: 223-32.
18. Guekdjian SA. New method of canalizing tendon sutures with vein grafts. *Arch Surg* 1956; 73: 1018-21.
19. Randelli NL. Innesto di arteria coservata in funzione di guaiana tendinea. *Arch Orthop* 1961: 1229-34.
20. Wilmoth CL. Tendinoplasty of flexor tendons of the hand. *J Bone Joint Surg* 1973; 19: 152.
21. Hunter MJ, Salisbury ER. Use of gliding artificial implants to produce tendon sheaths. *Plast Reconstr Surg* 1970; 45: 564-72.
22. Wilson CL. The formation of new bursae with cellophane. *Bone Joint Surg* 1958; 30: 195-200.
23. Hunter MJ. Salvage of scarred tendon systems using tendon prosthesis. In: Flynn JE (Ed). *Hand Surgery*. 2nd edition. Williams&Wilkins Comp, 1998: 201.
24. Cohen IK, Diegelman RF. Effect of corticosteroids on collagen synthesis. *Surg* 1977; 82(1): 15-20.
25. Mulliken JB, Hopes JE. Effects of intralesional injection of triamcinolone on glucose-6 phosphate dehydrogenase an alanin aminotransferase activity on keloids. *Plast Reconstr Surg* 1975; 56: 660-3.
26. Lindsay WK, Thompson HG. Digital flexor tendons an experimental study. *Br J Plast Surg* 1960; 12: 289-316.
27. Mason ML, Shearon CG. The process of tendon repair. An experimental study of tendon suture and tendon graft. *Arch Surg* 1932: 2617.