

ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΤΕΝΟΝΤΙΩΝ ΣΥΜΦΥΣΕΩΝ ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ ΜΕ ΧΗΜΙΚΟ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΥΔΡΟΧΛΩΡΙΚΗΣ ΤΕΤΡΑΚΥΚΛΙΝΗΣ ΚΑΙ ΚΙΤΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ. ΝΕΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ.

Ζωή Τζημορώτα¹, Τρύφωνας Χατζημάνου², Παναγιώτης Μαυρομάτης Παρασιδης³, Ευάγγελος Ρινώτας⁴, Μαριέττα Αρμακά⁴, Αναστασία Τσιγκοτζίδου², Παναγιώτης Γκιβίσσης⁵

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι μελέτες αντισυμπτωτικών παραγόντων για την πρόληψη των περιπεπόντων συμφύσεων στη χειρουργική του χεριού, εμφανίζονται με αύξουσα συχνότητα στη διεθνή βιβλιογραφία, δεδομένου ότι παρά τη βελτίωση των χειρουργικών τεχνικών συρραφής τενόντων και αποκατάστασης του τενόντιου ελύτρου και τα προγράμματα μετεχειρητικής φυσικοθεραπείας και αποκατάστασης, το πρόβλημα των συμφύσεων παραμένει.

ΥΛΙΚΟ- ΜΕΘΟΔΟΙ

Η μελέτη της δημιουργίας περιπεπόντων συμφύσεων εγγέοντας κίτρικο οξύ και τετρακυκλίνη μέσα στο έλυτρο των καμπτήρων τενόντων είναι πρωτότυπη για το λόγο αυτό απαιτήθηκε η διενέργεια ενός **προπειράματος**. Το ερευνητικό πρωτόκολλο αδειοδοτήθηκε από την Κτηνιατρική Υπηρεσία της Περιφέρειας Κεντρικής Μακεδονίας και διεξήχθη σε ενήλικους, αρσενικούς επίμυες της φυλής Sprague Dawley, βάρους 300 gr. (±50 gr), υπό γενική αναισθησία και μεγέθυνση του χειρουργικού πεδίου.

Η τετρακυκλίνη που χρησιμοποιήθηκε στο πρωτόκολλό μας είναι η υδροχλωρική τετρακυκλίνη σε μορφή σκόνης της εταιρείας BUFA, Spruyt Hillen, IJsselstein, Netherlands, Art. Nr 132609 και το κίτρικο οξύ που χρησιμοποιήθηκε είναι το ένυδρο κίτρικο οξύ, Fagnot Hellas/Kertus ABBE, Τρίκαλα, Ελλάδα.

Τυχαίωση των ζώων σε τρεις ομάδες:

Πρώτη ομάδα: ομάδα μαρτύρων – καμία παρέμβαση (n = 2).

Δεύτερη ομάδα: δεξιό οπίσθιο άκρο: χειρουργική παρασκευή του ελύτρου. Αριστερό οπίσθιο άκρο: έγχυση κίτρικου οξέος/ τετρακυκλίνης με Ph 1,6 σε ποσότητες 60 και 40 μL αντίστοιχα (n = 2).

Τρίτη ομάδα: δεξιό οπίσθιο άκρο: έγχυση κίτρικου οξέος/ τετρακυκλίνης με Ph 1,6 σε ποσότητες 120, 100 και 80 μL αντίστοιχα. Αριστερό οπίσθιο άκρο Ph 1,8 και Ph 2,0 σε ποσότητες 60 και 40 μL αντίστοιχα (n = 4).

Στα ζώα πραγματοποιήθηκε μικρή τομή στην πελματιαία επιφάνεια των 3^{ων} δακτύλων στα δεξιά οπίσθια άκρα του στο ύψος της βασικής φάλαγγας ανάμεσα στους A1 και A3 δακτυλοειδείς συνδέσμους (pulleys) και ακολούθησε αποκάλυψη του ελύτρου και η έγχυση μικρής ποσότητας διαλύματος (60- 120 μL) τετρακυκλίνης και κίτρικου οξέος μέσα στο έλυτρο χρησιμοποιώντας μια σύριγγα Hamilton με βελόνα μήλη 30G (gauge).

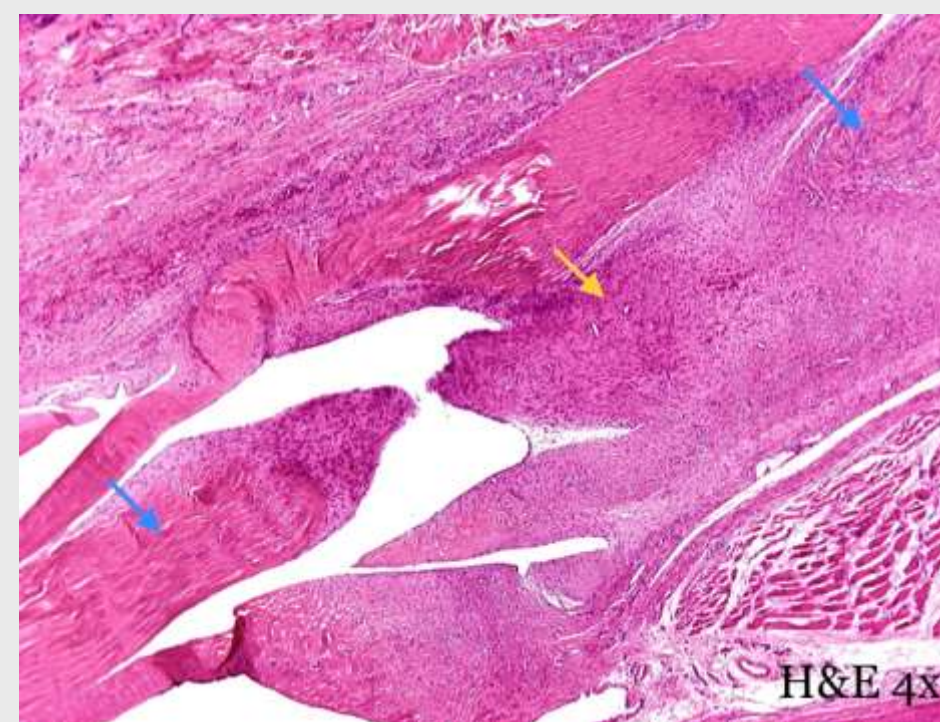
Η ερεθιστική ουσία που χρησιμοποιήθηκε είναι ένα διάλυμα 50% ένυδρου κίτρικου οξέος και 50% υδροχλωρικής τετρακυκλίνης. Για να πετύχουμε το Ph 1,6 οι συγκεντρώσεις είναι αντίστοιχα 150 mg/ml και 100mg/ml, για το pH 1,8 είναι 100 mg/ml και 50mg/ml και για το pH 2,0 είναι 50 mg/ml και 25 mg/ml.

Το διάλυμα της τετρακυκλίνης και κίτρικου οξέος, που χορηγήθηκε είχε Ph 1,6 και ποσότητα 120 μL, 100 μL, 80 μL στο δεξί οπίσθιο άκρο και Ph 1,6 σε ποσότητες 0,6 μL και 0,4 μL Ph 1,8 και Ph 2,0 σε ποσότητες 40 μL και 20 μL στο αριστερό οπίσθιο άκρο.

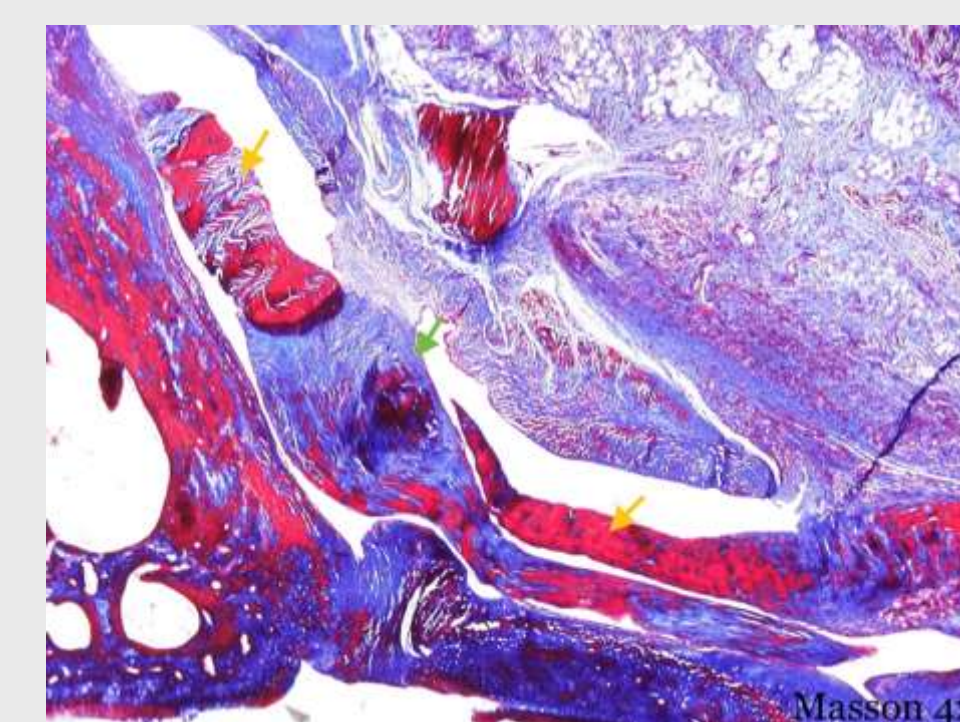
ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΙ

Κάθε μέρα πραγματοποιούνταν έλεγχος των τραυμάτων και κάθε εβδομάδα κλινική εξέταση για να διαπιστώνεται η κίνηση του δακτύλου. Για την κλινική εξέταση υποβάλαμε τα ζώα σε εβδομαδιαία **δοκιμασία βάδισης**. Το εύρος της παθητικής κίνησης των φαλάγγων του τρίτου δακτύλου του οπίσθιου άκρου καταγράφηκε με τη βοήθεια ενός ηλεκτρονικού γωνιόμετρου την 1η ημέρα και με τη συμπλήρωση της 3ης εβδομάδας. Το εύρος της παθητικής κίνησης των φαλάγγων του τρίτου δακτύλου του οπίσθιου άκρου θα καταγραφεί με τη βοήθεια ενός ηλεκτρονικού γωνιόμετρου την 1η ημέρα και με τη συμπλήρωση της 3ης εβδομάδας.

Στη συνέχεια με ένα **ηλεκτρονικό δυναμόμετρο**, μετρήθηκε η δύναμη που απαιτείται για την έλξη των δακτύλων από την πλήρη κάμψη σε θέση πλήρους έκτασης. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν την 1η ημέρα (προ της χειρουργικής παρασκευής) και εβδομαδιαίως μέχρι τη συμπλήρωση της 3ης εβδομάδας πραγματοποιήθηκαν ακόμη η **δοκιμασία του πλέγματος**, η **δοκιμασία Von Frey** και η **δοκιμασία Rotarod**.



Εικ. 1 HE: μπλε βέλος- φυσιολογικός τένοντας, κίτρινο βέλος- περιοχή συμφύσεων.



Εικ. 2 Masson stain: κίτρινο βέλος- φυσιολογικός τένοντας, πράσινο βέλος- περιοχή συμφύσεων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Η θανάτωση των ζώων πραγματοποιήθηκε με ενδοκαρδιακή έγχυση με μονιμοποιητικό ψευδαργύρου (zinc formalin fixative της εταιρείας Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany (Z2902)). Η αναισθητοποίηση των ζώων έγινε με διάλυμα κεταμίνης/ξυλαζίνης/saline 0,9% (2ml/1,2ml/6,75ml) σε ποσότητα 0,3 ml/ 100gr. (ketamidol-Richter Pharma AG, Wels, Austria , Xylaran- Vetoquinol, Paris, France). Τα οπίσθια άκρα τοποθετήθηκαν σε μονιμοποιητικό ψευδαργύρου μετά τη θανάτωση με ενδοκαρδιακή έγχυση για 48 ώρες 4 C°. Στη συνέχεια ο άξονας (συμπεριλαμβανομένου και του μετατάρσιου οστού) του τρίτου δακτύλου απομονώνεται και αφαιρούνται σε διάλυμα 20% EDTA για 4 εβδομάδες, με αλλαγές του διαλύματος ανά 5 ημέρες. Ακολουθεί η έγκλειση των δακτύλων σε κύβους παραφίνης. Οι τομές των κύβων έγιναν στα 7 μm. Κατόπιν, προχωρήσαμε στη χρώση των τομών με διάλυμα H&E και Masson's trichrome (Εικ. 1, 2). Η ιστολογική κατάταξη της παρουσίας περιπεπόντων συμφύσεων έγινε σύμφωνα με τον Πίνακα 1.

Ιστολογική κατάταξη παρουσίας περιπεπόντων συμφύσεων	
ΒΑΘΜΟΣ I	Χωρίς ιστολογικές αλλοιώσεις, όπως παρουσία φλεγμονώδους κοκκώδους ιστού ή λεμφοκυτταρικών διηθήσεων (λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα), στην περιοχή του τραύματος.
ΒΑΘΜΟΣ II	Παρουσία φλεγμονώδους κοκκώδους ιστού στην περιοχή του τραύματος. Ποικίλη παρουσία φλεγμονωδών κυτταρικών διηθήσεων, χωρίς αξιοσημείωτη παρουσία ινοβλαστών.
ΒΑΘΜΟΣ III	Παρουσία φλεγμονώδους κοκκώδους ιστού στην περιοχή του τραύματος, με αξιοσημείωτη παρουσία ινοβλαστών. Παρατηρούνται ήπιες εναποθέσεις κολλαγόνων ινών Masson.
ΒΑΘΜΟΣ IV	Απουσία φλεγμονώδους κοκκώδους ιστού στην περιοχή του τραύματος, με ήπια αυξημένη παρουσία ινοβλαστών. Παρατηρούνται έντονες, πυκνές εναποθέσεις κολλαγόνου.
ΒΑΘΜΟΣ V	Απουσία φλεγμονώδους κοκκώδους ιστού στην περιοχή του τραύματος, με έντονα αυξημένη παρουσία ινοβλαστών. Οι ινοβλάστες συρρέουν σε δεσμίδες. Παρατηρούνται έντονες, πυκνές εναποθέσεις κολλαγόνου. Οι ινοβλάστες και οι δεσμίδες κολλαγόνου συνεχίζονται με τον υπάρχοντα τένοντα. Παρατηρείται σαφής δημιουργία περιπεπόντων συμφύσεων.

Πίν. 1 Ιστολογική κατάταξη περιπεπόντων συμφύσεων



Εικ. 3 Micro CT



Εικ. 4 Κλινική απεικόνιση τενόντιων συμφύσεων



Εικ. 5 Ιστικές βλάβες

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Micro- CT

Μετά τη θανάτωση των ζώων, τα οπίσθια άκρα τοποθετήθηκαν σε μονιμοποιητικό ψευδαργύρου και ακολούθησε η διενέργεια απεικονιστικής εξέτασης στο Ερευνητικό Κέντρο Alexander Fleming. Η απεικόνιση των κάτω άκρων πραγματοποιήθηκε με μικροϋπολογιστική τομογραφία υψηλής ανάλυσης (mCT) χρησιμοποιώντας τον μικροτομογράφο σάρωσης Skyscan 1172 (Bruker, Aartselaar, Belgium). Οι παράμετροι σάρωσης που εφαρμόστηκαν περιλαμβάνουν πηγή ακτίνων X στα 70 KeV, 100 μA και φίλτρο αλουμινίου 0,5mm. Η ανοικοδόμηση των δεδομένων απεικόνισης έγινε με την εφαρμογή Nrecon και η τρισδιάστατη απεικόνιση (3D) των κάτω άκρων με την εφαρμογή CTvox (Bruker) (Εικ. 3).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η έγχυση κίτρικου οξέος και υδροχλωρικής τετρακυκλίνης μέσα στο έλυτρο των καμπτήρων τενόντων του τρίτου δακτύλου του οπίσθιου άκρου των επίμυων οδηγεί στο σχηματισμό τενόντιων συμφύσεων (κλινική εξέταση, ιστολογική εξέταση). Φαίνεται κλινικά με την ολοκλήρωση της 3ης εβδομάδας ότι οι συμφύσεις έχουν εγκατασταθεί. Επομένως, η διάρκεια του πειραματισμού μας θα μπορούσε να μειωθεί.
- Μετά την έγχυση κίτρικου οξέος και υδροχλωρικής τετρακυκλίνης τα δάκτυλα των ζώων παρουσιάζουν περιορισμό εύρους παθητικής κίνησης στην εγγύ μεσοφαλαγγική άρθρωση (Εικ. 4).
- Η έγχυση διαλύματος της ερεθιστικής ουσίας σε ποσότητα 120 μL και 100 μL οδήγησε σε εκτεταμένες ιστικές βλάβες στο σημείο και ύψος της έγχυσης (Εικ. 5).
- Το χαμηλότερο pH και η μέγιστη ποσότητα της ερεθιστικής ουσίας (κίτρικου οξέος και υδροχλωρικής τετρακυκλίνης) με τις λιγότερες επιπλοκές από το τραύμα είναι το pH 1,6 και τα 60 μL.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- McCombe D, Kubicki M, Witschi C, Williams J, Thompson E W. A collagen prolyl 4-hydroxylase inhibitor reduces adhesions after tendon injury. Clin Orthop. 2006;451, 251–6.
- Khanna A, Friel M, Gougoulis N, Longo UG, Maffulli N. Prevention of adhesions in surgery of the flexor tendons of the hand: what is the evidence? British Medical Bulletin. 2009;90(1):85 – 109.
- Bora FW, Lane JM, Prockop DJ. Inhibitors of collagen biosynthesis as a means of controlling scar formation in tendon injury. J Bone Joint Surg Am. 1972;54:1501-8.
- Manske PR, Lesker PA: Histologic evidence of intrinsic flexor tendon repair in various experimental animals. An in vitro study. Clin Orthop 1984, 297–304
- Wong J, Bennett W, Ferguson MW, McGrouther DA: Microscopic and histological examination of the mouse hindpaw digit and flexor tendon arrangement with 3D reconstruction. J Anat 2006, 209:533–545
- Wong JK, Cerovac S, Ferguson MW, McGrouther DA: The cellular effect of a single interrupted suture on tendon. J Hand Surg [Br] 2006, 31:358–367
- Wojciak B, Crossan JF: The accumulation of inflammatory cells in synovial sheath and epitenon during adhesion formation in healing rat flexor tendons. Clin Exp Immunol 1993, 93:108 –114

¹ Κλινική Εγκαυμάτων, Πλαστικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Χειρός, Γ.Ν.Θ. «Γ. Παπανικολάου», Θεσσαλονίκη
² Εργαστήριο Ανατομικής, Ιστολογίας και Εμβρυολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΑΠΘ
³ Τμήμα Εφαρμογών στη Βιολογία, Εφαρμοσμένη Γενετική και Βιοδιαγνωστική, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη
⁴ Ε.ΚΕ.Β.Ε. Αλέξανδρος Φλέμινγκ, Αθήνα
⁵ Α' Ορθοπαιδική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, Γ.Ν.Θ. «Γ. Παπανικολάου», Θεσσαλονίκη



ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ

Ζωή Τζημορώτα

Κλινική Εγκαυμάτων, Πλαστικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Χειρός, Γ.Ν.Θ. «Γ. Παπανικολάου», Θεσσαλονίκη

z.tzamorota@gmail.com