

The Comparison in the Amount of Neovascularization Between Autograft Flexor Tendon with Freeze Dried Flexor Tendon Allograft Composite and Auto Mesenchymal Stem Cells in the Reconstruction of Flexor Tendon Defect In New Zealand White Rabbit

Yuli Wicaksono*
Ketut Martiana**
Heri Suroto**

*Resident of Orthopaedic and Traumatology Department ,
**Senior Consultant of Orthopaedic and Traumatology Department,
Medical Faculty of Airlangga University/ Dr Soetomo General Hospital
SURABAYA-INDONESIA

ABSTRACT

Background: To achieve a satisfactory result of flexor tendon repair is still a great challenge to orthopaedic surgeons. Autograft and allograft tendons have been used with variable rates of clinical success. Logistic difficulties such as securing, preserving, and graft implantation are still hindering it from being used widely. This is where the use of allograft tendon coupled with bone marrow stem cell might come in handy as much hope has been put upon them to be able to give results not unlike autograft tendon.

Objective: To compare the amount of neovascularization between autograft tendon and freeze dried allograft tendon injected with bone marrow mesenchymal stem cell.

Materials and Methods: This research was done with the use of pure experimental research design performed on laboratory animals with post test only control group design. It was done in Dr. Soetomo General Hospital Surabaya comparing autograft tendon with freeze dried allograft tendon injected with bone marrow stem cell on the tendon defect. Newly-formed neovascularization is the countable parameter.

Result: No significant difference in the amount of neovascularization between autograft tendon with freeze dried allograft tendon injected with bone marrow stem cell ($p=0,056$).

Conclusion: With roughly the same amount of neovascularization between the two test groups, a conclusion can be drawn that freeze dried allograft tendon injected with bone marrow stem cell gives almost the same result as with autograft tendon.

Keyword: Autograft tendon, freeze dried allograft, bone marrow stem cell, neovascularization.

LATAR BELAKANG

Hasil yang memuaskan dari perbaikan tendon fleksor masih merupakan tantangan yang berat bagi ahli bedah. Berbagai komplikasi masih sering ditemukan pada pasien pasca perbaikan tendon fleksor. Meski komplikasi tersering yaitu adhesi, telah cukup berkurang dengan adanya rehabilitasi dini pasca operasi, tetapi komplikasi lain seperti tendon ruptur dan terbentuknya gap masih sering ditemui. Rupturnya kembali tendon pasca perbaikan telah

coba diatasi dengan teknik penjahitan yang lebih kuat tapi tidak dengan gap tendon. Secara klinis gap tendon lebih dari 3 mm cukup penting, karena sering terjadi rupturnya kembali tendon, terbentuknya adhesi, dan menurunnya kekuatan fleksor tendon pasca operasi. Sedangkan gap kurang dari 2 mm memberikan hasil yang kurang memuaskan pada pasien pasca operasi.

Perkembangan rekonstruksi 2 tahap dari tendon fleksor yang dipopulerkan oleh Hunter

(1971) telah memberikan sesuatu yang penting dalam armamentarium ahli bedah tangan. Prosedur ini meliputi implantasi silikon atau silikon dacron pada sisi parut dari tempat tendon fleksor yang akan menghasilkan *pseudosheath* dari mesothelium disekitar silikon. Setelah maturasi dari *pseudosheath*, tendon graft diinsersikan untuk menggantikan prosthesis, dengan harapan pembentukan perlekatan yang minimal disekitar graft.

Tendon autograft dan allograft telah digunakan dengan angka keberhasilan klinis yang masih bervariasi. Peacock (1969) telah melakukan prosedur *composite sheath tendon allograft* pada sejumlah kecil pasien dengan hasil belum memuaskan. Kesulitan logistik mengenai pengamanan, preservasi dan implantasi graft tersebut masih belum memungkinkan untuk penggunaan secara luas. Sementara itu pendekatan dalam rekayasa jaringan meliputi 3 dimensi, yaitu *scaffold* berongga yang bisa diserap dan diberi sel hidup serta faktor yang menginduksi jaringan untuk memungkinkan terjadinya regenerasi atau penggantian jaringan dengan cara alami. *Scaffold* berongga yang *biodegradable* dan *biocompatible* dengan arsitektur yang optimal, daerah permukaan yang memungkinkan untuk melekatnya sel serta pertumbuhan dan proliferasinya, sifat mekanis serta kecepatan degradasi yang tepat sehingga bisa digantikan oleh

Pada penelitian ini kami mencoba membandingkan pengaruh tendon autograft dengan tendon freeze dried allograft yang diberi auto mesenchymal stem cell terhadap jumlah neovaskularisasi pada defek tendon fleksor.

Hasil dari penelitian ini akan memberikan kontribusi pada proses penyembuhan tendon yang terputus disertai adanya defek yaitu peningkatan proses neovaskularisasi, sehingga akan mempercepat proses penyembuhan.

METODE DAN BAHAN

Unit eksperimen: Unit eksperimen pada penelitian ini adalah *New Zealand White Rabbit*

jenis kelamin jantan yang telah dikondisikan baik lingkungan kandang maupun makanannya

Replikasi : Pada penelitian akan dilakukan uji beda mean 2 kelompok, maka jumlah replikasi ditentukan dengan rumus *Steel and Torrie*.

$$n = \frac{2 \sigma^2 (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_0 - \mu_a)^2}$$

Untuk variabel tergantung jumlah neovaskularisasi didapatkan jumlah replikasinya 7. Sehingga jumlah total kelinci untuk penelitian ini adalah minimal 7 untuk kelompok perlakuan dan 7 untuk kelompok kontrol.

Teknik : Pada kelinci perlakuan, tendon fleksor dipotong secara tajam sepanjang 1 cm, kemudian disambung dengan komposit *freeze dried tendon allograft* yang telah ditanami sel punca *mesenchymal* (BMSC). Teknik penyambungan menggunakan *Modified Kessler*, dengan benang monofilamen nonabsorbable nomor 5.0 untuk *core* dan 6.0 untuk *running suture*. Untuk kelompok kontrol, pelaksanaannya sama namun digunakan tendon autograf tanpa sel punca.

Prosedur Pengambilan Data: Setelah 2,4,6 minggu, tendon diambil untuk preparasi pemeriksaan dengan pengecatan HE. Jumlah sel diperiksa secara morphometrik dengan mikroskop cahaya yaitu menghitung jumlah neovaskularisasi per lapangan pandang, yang akan memberikan gambaran penting pada sisi pencangkakan tendon.

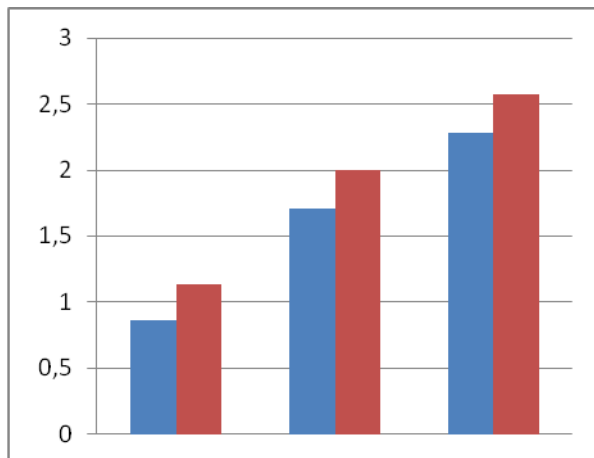
Pengolahan dan Analisis data: Data yang terkumpul diolah dalam tabulasi, kemudian diuji dengan menggunakan **independent t-test**

dengan $\alpha = 0.05$ (jika data homogen dan berdistribusi normal). Jika data tidak homogen dan tidak berdistribusi normal, akan dilakukan uji Mann-Whitney.

HASIL PENELITIAN

No	Neovaskularisasi					
	Minggu ke-2		Minggu ke-4		Minggu ke-6	
1	0	2	1	2	1	3
2	1	1	1	2	3	2
3	1	1	2	3	2	3
4	0	2	1	1	3	2
5	1	0	2	1	2	1
6	2	1	3	3	3	3
7	1	1	2	2	2	4

Scoring group
 +1 : 0-3 unit/view
 +2 : 4-6 unit/view
 +3 : 7-9 unit/view
 +4 : >10 unit/view



allograft + stem cell

autograft

Mann-Whitney neovaskularisasi minggu ke 2. Sample 7 , Mean \pm SD : $P = 1,14 \pm 0,69$. $K = 0,82 \pm 0,69$. Maka didapatkan $P=0,454$

Mann-Whitney neovaskularisasi minggu ke 4. Sample 7. Mean \pm SD : $K = 1,71 \pm 0,75$, $P = 2,00 \pm 0,71$. Maka didapatkan $P=0,510$.

Mann-Whitney neovaskularisasi minggu ke 6. Sample 7. Mean \pm SD : $K = 2,28 \pm 0,75$. $P = 2,57 \pm 0,97$. Maka didapatkan $P= 0,552$.

DISKUSI

Tidak ada perbedaan yang bermakna pada jumlah neovaskularisasi antara freeze dried tendon autograft dengan freeze dried tendon allograft yang diberikan bone marrow stem cel ($p=0,056$).

KESIMPULAN

Dengan didapatkan jumlah neovaskularisasi yang sama pada freeze dried autograft dan freeze dried allograft dengan bone marrow stem cel maka dapat diperoleh gambaran freeze dried allograft dengan bone marrow stem cel mampu memberikan hasil yang hampir sama dengan freeze dried autograft.

REFERENSI

Jozsa LG, Kannus P. Human tendons: anatomy, physiology, and pathology. Champaign, IL: Human Kinetics; 1997.

Biundo (Jr.), J.J., Irwin, R.W., Umpierre, E. 2001. Sports and other soft tissue injuries, tendinitis, bursitis, and occupation-related syndromes. *Curr. Opin. Rheumatol.* **13**:146-149.

Baring, T., Emery, R., Reilly, P. 2007. Management of rotator cuff disease: specific treatment for specific disorders. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* **21**:279-294.

Carpenter, J.E., Thomopoulos, S., Soslowsky, L.J. 1999. Animal models of tendon and ligament injuries for tissue engineering applications. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **367(Suppl.):S296-S311.**

Kannus P, Jozsa L, Jarvinnen M. Basic science of tendons. In: Garrett WE Jr, Speer KP, Kirkendall DT, editors. Principles and practice of orthopaedic sports medicine. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000. p 21-37.

Carr AJ, Norris SH. The blood supply of the calcaneal tendon. *J Bone Joint Surg Br.* 1989;71:100-1.

Lephart SM, Pincivero DM, Giraldo JL, Fu FH. The role of proprioception in the management and rehabilitation of athletic injuries. *Am J Sports Med.* 1997;25:130-7.

O'Brien M. Functional anatomy and physiology of tendons. *Clin Sports Med.* 1992;11:505-20.

Soldatis JJ, Goodfellow DB, Wilber JH. End-to-end operative repair of Achilles tendon rupture. *Am J Sports Med.* 1997;25:90-5. 2003;5:R253-61.

Birch HL, Rutter GA, Goodship AE. Oxidative energy metabolism in equine tendon cells. *Res Vet Sci.* 1997;62:93-7.

Leadbetter WB. Cell-matrix response in tendon injury. *Clin Sports Med.* 1992;11:533-78. *Rev.* 1990;19:139-49.

Oakes BW. Tissue healing and repair: tendons and ligaments. In: Frontera WR, editor. Rehabilitation of sports injuries: scientific basis. Boston: Blackwell Science; 2003. p 56-98.

Manske PR, Gelberman RH, Lesker PA. Flexor tendon healing. *Hand Clin.* 1985;1:25-34.

Marui T, Niyibizi C, Georgescu HI, Cao M, Kavalkovich KW, Levine RE, Woo SL. Effect of growth factors on matrix synthesis by ligament fibroblasts. *J Orthop Res.* 1997;15:18-23.

Murrell GA, Szabo C, Hannafin JA, Jang D, Dolan MM, Deng XH, Murrell DF, Warren RF. Modulation of tendon healing by nitric oxide. *Inflamm Res.* 1997;46:19-27.

Vasko MR, Campbell WB, Waite KJ. Prostaglandin E2 enhances bradykinin-stimulated release of neuropeptides from rat sensory neurons in culture. *J Neurosci.* 1994;14:4987-97.

Kobayashi, M. Graft cells disappear in early phase of healing and host cells contribute to remodeling after autologous tendon graft in bone tunnel. *Department of Orthopaedics, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan.*

Peyton L. Hays, MD. The role of macrophages in early healing of a tendon graft in a bone tunnel. *Laboratory for soft tissue research, The Hospital for Special Surgery, New York, NY,*

Pankaj Sharma and Nicola Maffulli. Tendon Injury and Tendinopathy: Healing and Repair. *J. Bone Joint Surg. Am.* 87:187-202, 2005. doi:10.2106/JBJS.D.01850

