



T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ
ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**AŞIL TENDON RÜPTÜRLERİNİN TEDAVİSİNDE
SCAFOLDUN HİSTOPATOLOJİK VE
BİYOMEKANİK DAYANIKLILIĞIN
İNCELENMESİ**

Arş. Gör. Dr. Serkan SAVAŞ
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet Nuri KONYA

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ
ANABİLİM DALI

AFYONKARAHİSAR 2024

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

AŞİL TENDON RÜPTÜRLERİNİN TEDAVİSİNDE SCAFOLDUN
HİSTOPATOLOJİK VE BİYOMEKANİK DAYANIKLILIĞIN
İNCELENMESİ

Arş. Gör. Dr. Serkan SAVAŞ
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet Nuri KONYA

Bu çalışma; Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 23.TUS.010 kodlu proje ile
desteklenmiştir.

AFYONKARAHİSAR 2024

KABUL ONAY SAYFASI

T.C.

AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tez Başlığı : Aşıl Tendon Ruptürlerinin Tedavisinde Scaffoldun
Histopatolojik Ve Biyomekanik Dayanıklılığın İncelenmesi

Tezi Hazırlayan : Arş. Gör. Dr. Serkan Savaş

Tez Savunma Tarihi: 24.10.2024

Tez Kabul Tarihi : 24.10.2024

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mehmet Nuri KONYA

İş bu çalışma jürimiz tarafından ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ
ANABİLİM DALI' nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Özal Özcan

Üye

Prof. Dr. Mehmet Nuri Konya

Üye

Doç. Dr. Murat Yeşil

ONAY

DEKAN

Prof. Dr. Necip Becit

TEŞEKKÜR

Ortopedi ve Travmatoloji asistanlık süresi boyunca değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tezimin planlanması ve yürütülmesi sürecinde beni destekleyen değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Nuri Konya' ya, eğitimimde büyük emekleri olan, bilgi ve deneyimlerini daima benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Özal Özcan, Prof. Dr. Gökhan Maralcan, Doç. Dr. Murat Yeşil, Dr. Öğr. Üyesi Recep Altın, Dr. Öğr. Üyesi Bilge Kağan Yılmaz' a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık sürecimde bana her zaman destek olan uzman Dr. Uğur Yüzügöldü, Dr. Mohammed Salah Ahmed Ali, Dr. Çağlar Tuna Issı, Dr. İbrahim Ethem Bütüner, Dr. Erdal Keskin, Dr. Mohamed Hamid Shırzad, Dr. Sakhi Ahmad Fazli' ye, araştırma görevlisi arkadaşlarım Dr. Osman Emre Tosun, Dr. Halil Sami Postallı, Dr. Mevlüt Özbahçe, Dr. Oğuz Şimşek, Dr. Fatih Ay, Dr. Musa Can Çelikbaş, Dr. Osman Şan, Dr. Ramazan Kaplan, Dr. Yunus Candaş, Dr. Fatih Kan, Dr. Oğulcan Göz, Dr. Mehmet Batuhan Tunca, Dr. Fazlı Tosun, Dr. Serkan Özdemir, Dr. Muhammed Fatih Koşar, Dr. Alican Tuna'ya ayrıca yaptığımız çalışmada anestezi konusunda bilgi ve tecrübelerini paylaşan Dr. Öğr. Üyesi Bilal Atilla Bezen nezdinde Anestezi ve Reanimasyon bölümü araştırma görevli arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tezin istatistik kısmında destek veren Op. Dr. Osman Gerçek'e teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen sevgili annem ve babama, değerli abim ve ablama teşekkürlerimi sunuyorum. Özellikle asistanlık hayatım olmak üzere her zaman bana desteğini hissettiren ve daima yanımda olan değerli eşim Dr. Merve Savaş'a teşekkürlerimi sunup sevgilerimi iletiyorum.

Dr. Serkan SAVAŞ
Afyonkarahisar, Ekim 2024

AŞIL TENDON RÜPTÜRLERİNİN TEDAVİSİNDE SCAFOLDUN HİSTOPATOLOJİK VE BİYOMEKANİK DAYANIKLILIĞIN İNCELENMESİ

Arş. Gör. Dr. Serkan Savaş

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi
Ekim 2024
Danışman: Prof. Dr. Mehmet Nuri Konya

ÖZET

Amaç: Aşil tendonu insan vücudundaki en kalın ve en güçlü tendondur. Güçlü olmasına rağmen en sık yaralanan tendonlardan birisidir. Aşil tendon rüptürleri konservatif ya da cerrahi olarak tedavi edilebilir. Konservatif tedavi genellikle yaşlı ve sedanter yaşamı olan hastalarda tercih edilir. Cerrahi tedavisi açık olarak ya da perkütan olarak uygulanabilir. Cerrahi tedavide başarı şansını artırmak amacıyla farklı biyolojik uygulamalar hayvan deneylerinde denenmektedir. Bunlar arasında, Prp enjeksiyonu, hiyalüronik asit uygulaması, c vitamini uygulaması, büyüme faktörlerinin eklenmesi gibi faktörler olarak sıralanabilir. Biz çalışmamızda, tavşanların aşil tendonlarına açık cerrahi onarımında scaffold (tip 1 kolajen emdirilmiş polilaktik-ko-glikolik asit membran) tendon etrafına uyguladık. Ardından histopatolojik ve biyomekanik sonuçlarını istatistiksel olarak incelemeyi hedefledik.

Metod: Çalışmamızda iki grup olarak 24 tavşanın randomize bir şekilde dağılımı sağlandı. Kontrol grubuna aşil tendon rüptürü oluşturulduktan sonra Modifiye Kessler süturu uygulandı. Scaffold grubuna ise aşil tendon rüptürü oluşturulduktan sonra Modifiye Kessler süturu uygulanıp, tendon yaralanma bölgesine Tip 1 kollajenli PLGA scaffold uygulandı. 6.hafta sonunda tavşanların aşil tendonları bütün olarak alındı. 4 grup randomize dağıtılarak histolojik incelemeler yapıp, biyomekanik testler uygulandı. Histolojik incelemede Bonar ve Modifiye Movin skorları kullanıldı. Biyomekanik testler de ise tendonun maksimum dayanma kuvveti ve kopma süresi ölçüldü.

Bulgular: Biyomekanik testlerde kopma süresi ve kopma kuvveti değerlendirildi. Kopma kuvveti değerlendirildiğinde scaffold grubunda 110.17 ± 15.35 Newton, kontrol grubunda 100.67 ± 13.93 Newton olduğu görüldü. Scaffold grubunda kopma kuvveti yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark izlenmedi. ($P=0.288$) Kopma süresi, scaffold grubunda 6.17 ± 1.16 sn, kontrol grubunda ise 4.83 ± 0.75 sn olup istatistiksel olarak kontrol grubuna göre daha yüksek ölçüldü. ($p=0.041$)

Histolojik incelemeler de Bonar skorlamasında vaskülarite ve zemin görünümü skorlarının scaffold grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu izlendi (sırasıyla; $p=0.010$, $p=0.022$). Toplam Bonar skoru gruplar arasında karşılaştırıldığında; scaffold grubunda 5.33 ± 0.51 , kontrol grubunda 7.67 ± 0.51 saptanmış olup, kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulundu. ($P<0.001$) Modifiye Movin skorlamasında ise lif yapısı, lif düzeni, artmış vaskülarite skorları scaffold grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük olduğu

görüldü. (Sırasıyla; $p=0.002$, $p=0.001$, $p=0.010$). Toplam Movin skoru gruplar arasında karşılaştırıldığında; scaffold grubunda 10.50 ± 1.04 , kontrol grubunda 13.67 ± 1.50 saptanmış olup kontrol grubunda anlamlı olarak scaffold grubuna göre daha yüksek bulundu. ($P=0.002$)

Sonuç: Aşıl tendon rüptürleri sonrası tedavi yöntemi genellikle cerrahidir. Cerrahi işlem başarısının artması ya da cerrahi dönem sonrası komplikasyonları da düşürmek açısından günümüz çağında biyoteknolojiden de destek alınmaya çalışıldığını görüyoruz. Bizde tavşan aşıl tendonlarında yapmış olduğumuz çalışmada kolajen emdirilmiş PLGA membran kullanımının tendon iyileşmesine pozitif etki edeceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Aşıl tendon, Rüptür, Tavşan, Scaffold, Cerrahi



INVESTIGATION OF HISTOPATHOLOGICAL AND BIOMECHANICAL DURABILITY OF SCAFFOLD IN THE TREATMENT OF ACHILLES TENDON RUPTURES

Res. Asst. Dr. Serkan Savaş

Afyonkarahisar Health Sciences University
Faculty of Medicine Department of Orthopedics and Traumatology Medical
Specialization Thesis
October 2024
Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Nuri Konya

ABSTRACT

Object: Achilles tendon is the thickest and strongest tendon in the human body. Even though the tendon is so strong, it is one of the most frequently injured tendons. After achilles tendon rupture the patients can be treated conservatively or surgically. Conservative treatment and follow up is preferred for patients who are old and live sedentarily. Surgical treatment can be done via percutaneous tendon repair or open surgical repair. These include PRP injection, hyaluronic acid application, vitamin C application, and addition of growth factors. In our study, we applied scaffold (type 1 collagen impregnated polylactic-co-glycolic acid membrane) around the tendon in open surgical repair of rabbit Achilles tendons. Then, we aimed to statistically examine the histopathological and biomechanical results.

Methods: In our study, twenty-four rabbits were randomly distributed into two groups. Modified Kessler suture was applied to the control group after Achilles tendon rupture was created. In the scaffold group, Modified Kessler suture was applied after Achilles tendon rupture was created and Type 1 collagen PLGA scaffold was applied to the tendon injury area. At the end of the sixth week, the rabbits' Achilles tendons were taken as a whole. Histological examinations were performed, and biomechanical tests were applied by randomly distributing four groups. Bonar and Modified Movin scores were used in histological examination. In biomechanical tests, the maximum endurance force and rupture time of the tendon were measured.

Results: Biomechanical tests showed that the rupture force was 110.17 ± 15.35 Newton in the scaffold group and 100.67 ± 13.93 Newton in the control group. Although the rupture force was higher in the scaffold group, the difference between the two groups was not statistically significant ($p=0.288$). The rupture time was 6.17 ± 1.16 seconds in the scaffold group compared to 4.83 ± 0.75 seconds in the control group, with the scaffold group showing a statistically significant longer rupture time ($p=0.041$).

Histological evaluations revealed that vascularity and ground appearance scores on the Bonar scoring scale were significantly lower in the scaffold group compared to the control group ($p=0.010$ and $p=0.022$, respectively). When comparing total Bonar scores, the scaffold group had a score of 5.33 ± 0.51 , while the control group scored 7.67 ± 0.51 , with the control group showing significantly higher values ($p<0.001$). In the modified Movin scoring system, fiber structure, fiber alignment, and

increased vascularity scores were significantly lower in the scaffold group than in the control group ($p=0.002$, $p=0.001$, and $p=0.010$, respectively). The total Movin score was 10.50 ± 1.04 in the scaffold group and 13.67 ± 1.50 in the control group, with the control group showing a statistically significant higher score ($p=0.002$).

Conclusion: If surgical intervention is decided for Achilles tendon ruptures, there remains no consensus in the literature regarding the preference for open surgery or minimally invasive techniques. Biotechnology is increasingly being utilized to improve surgical outcomes and reduce post-operative complications. Based on our study on rabbit Achilles tendons, we believe that using collagen-impregnated PLGA membranes can positively influence tendon healing.

Keywords: Achilles tendon, Rupture, Rabbit, Scaffold, Surgery



İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. AŞİL TARİHÇESİ	3
2.2. AŞİL ANATOMİSİ.....	3
2.2.1. Tendonun Makroskopik ve Mikroskopik Yapısı.....	6
2.2.2. Aşil Tendonu Biyomekanik Özellikleri.....	7
2.2.3. Aşil Tendonu Kanlanması	7
2.2.4. Aşil Tendonu Sural Sinirle İlişkisi	9
2.3. TENDON İYİLEŞMESİ	10
2.4. AŞİL TENDON RÜPTÜRÜ	11
2.4.1. Klinik Değerlendirme	13
2.4.2. Radyolojik Bulgular	14
2.5. TEDAVİ.....	16
2.5.1. Konservatif Tedavi	16
2.5.2. Cerrahi Tedavi	17
2.5.2.1. Açık Uç Uca Onarım	18
2.5.2.2. Aşil Tendon Rüptürü Açık Onarımı- Lindholm	19
2.5.2.3. Aşil Tendon Rüptürünün Plantaris Tendonu Kullanılarak Onarımı	20
2.5.3. Cerrahi Sonrası Rehabilitasyon	20
2.6. TİP 1 KOLAJEN	21
2.7. PLGA (POLİ-D-LAKTİK-KO-GLİKOLİK ASİT) SCAfold.....	23
2.7.1. PLGA Özellikleri.....	23
2.7.2. PLGA Scaffold Hazırlama Yöntemleri.....	24

2.7.3. PLGA Scaffold Üretim Yöntemi	25
2.7.4. Hücre Kültürü	28
2.7.4.1. Proliferasyon Testi	28
2.7.4.2. Sonuçlar	28
2.7.5. Doku mühendisliği ve PLGA	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. ÇALIŞMA PLANI	30
3.2. CERRAHİ TEKNİK.....	31
3.3. HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER.....	37
3.3.1. Hematoksilen-Eozin Prosedürü	37
3.3.2. Masson Trichrome Boya Prosedürü	38
3.4. BİYOMEKANİK İNCELEME	43
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. BİYOMEKANİK BULGULAR.....	47
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇ	65
7. KAYNAKLAR	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat
µm	: Mikrometre
Ab	: Antibiyotik
AKÜ-DEHUAM	: Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi
AT	: Aşıl Tendon
Cm	: santimetre
CO ₂	: Karbondioksit
COVID-19	: Korona Virüs Hastalığı- 19
DM	: Diyabetes Mellitus
DVT	: Derin Ven Trombozu
EMA	: Avrupa İlaç Ajansı
ESWT	: EkstraKorporeal Şok dalga terapisi
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GA	: Glikolik Asit
Gr	: Gram
H&E	: Hematoksilen ve Eozin
HDF	: İnsan Fibroblast Hücre Hattı
HFIP	: Hekzafloro-2-propanol
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
İ.m	: İntramüsküler
Kv	: Kilovolt
LA	: Laktik Asit
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
Mg	: Miligram
MR	: Manyetik Rezonans
MW	: Moleküler Ağırlık
NM	: Nanometre
PA	: Peroneal Arter
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PGA	: PoliGlikolik Asit
PLA	: PoliLaktik Asit

PLGA	: Poli-D-laktik-ko-glikolik asit
PRP	: Trombositten Zengin Plazma
PTA	: Posterior Tibial Arter
Sn	: Saniye
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TEM	: Taramalı Elektron Mikroskop
USG	: Ultrasonografi
UV	: Ultraviyole
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.	Rüptür nedenleri pasta grafik gösterimi	12
Tablo 2.	İskele üzerindeki Fibroblast hücreleri için proliferasyon testi. Grafik, üçlü bağımsız deneylerin ortalama Standart Değerini ifade eder.	28
Tablo 3.	Grupların dağılımının şematik gösterimi	31
Tablo 4.	Bonar Skorlaması	40
Tablo 5.	Modifiye Movin Skorlaması	43
Tablo 6.	Grupların biyomekanik verilerinin karşılaştırılması	47
Tablo 7.	Kopma Kuvveti Sütun Grafiği	48
Tablo 8.	Kopma Süresi Sütun Grafiği	49
Tablo 9.	Kopma kuvveti ile kopma süresinin lineer regresyon analizi	50
Tablo 10.	Grupların histolojik Bonar skorlarının karşılaştırılması.....	51
Tablo 11.	Toplam Bonar skoru.....	52
Tablo 12.	Grupların histolojik Movin skorlarının karşılaştırılması.....	53
Tablo 13.	Toplam Movin Skoru	54
Tablo 14.	Kopma kuvveti, kopma süresi, Movin ve Bonar skorlarının korelasyon analizi	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.	Aşil tendonun anatomisi arka taraftan görüntüsü.....	4
Şekil 2.	Aşil tendonun anatomisi yan görüntüsü	4
Şekil 3.	Aşil tendonunun çizimsel olarak görünümü.....	5
Şekil 4.	Tendon yapısı ve Kolajen Fibriller.....	6
Şekil 5.	Aşil tendon kanlanması kadavra görüntüsü	8
Şekil 6.	Aşil tendonun sural sinir ile ilişkisi.....	9
Şekil 7.	Aşil tendon rüptürünün palpasyonla hissedilmesi.....	12
Şekil 8.	Thompson Testi.....	13
Şekil 9.	Matles Testi	13
Şekil 10.	Rüptüre olmuş aşil tendon.....	14
Şekil 11.	Normal aşil tendonu usg görüntüsü.....	14
Şekil 12.	Rüptüre olmuş aşil tendon T1 ağırlıklı sekans yan görüntüsü	15
Şekil 13.	Rüptüre olmuş aşil tendon T2 ağırlıklı sekans yan görüntüsü	15
Şekil 14.	Rüptüre olmuş aşil tendonuna Krackow suture örneği	17
Şekil 15.	Rüptüre olmuş aşil tendonu cerrahi anında görüntüsü	18
Şekil 16.	Açık cerrahi onarımla uçtan uca onarım yapılmış aşil tendon	19
Şekil 17.	Aşil tendon rüptürü Lindholm tekniği ile onarım	19
Şekil 18.	Plantaris tendonu kullanılarak yapılmış aşil tendonu cerrahi görüntüsü. 20	
Şekil 19.	Tip 1 kolajenin fibriller yapısı.....	21
Şekil 20.	Kolajenin üçlü helikal yapısı.....	22
Şekil 21.	Çalışmada kullanılan sığır tendonundan izole edilmiş Tip 1 kolajen	22
Şekil 22.	PLGA kopolimerinin laboratuvarında üretim aşamasından bir kesit.....	26
Şekil 23.	5 cm boyunda 1 cm eninde üretilmiş olan PLGA nanofiber makro görüntüsü.....	26
Şekil 24.	Taramalı elektron mikroskopunda 2000'lik büyütme altında nanofiberin görüntüsü.....	27
Şekil 25.	Taramalı elektron mikroskopunda 10000'lik büyütme altında nanofiberin görüntüsü.....	27
Şekil 26.	Taramalı elektron mikroskopunda 20.000'lik büyütme altında nanofiberin görüntüsü.....	27
Şekil 27.	Tavşanların kafes içi görünümü	31

Şekil 28.	Preoperatif anestezisi uygulanmış tavşanın görüntüsü.....	32
Şekil 29.	Aşıl tendonunun cerrahi anındaki görünümü	32
Şekil 30.	Aşıl tenotomi uygulanmış ve suture edilen tendonun görüntüsü	33
Şekil 31.	Kontrol grubunda onarım yapılmış aşıl tendonun görüntüsü.....	33
Şekil 32.	Steril edilmiş Tip 1 kolajenli PLGA'ların uygulamadan önceki görüntüsü	34
Şekil 33.	Tek olarak Tip 1 kolajenli PLGA'nın uygulamadan önceki görüntüsü ..	35
Şekil 34.	Scaffold grubunda Aşıl tendonuna uygulanmış Tip 1 kolajenli PLGA'nın görüntüsü.....	35
Şekil 35.	Cerrahisi tamamlanmış tavşanda yara yeri kapatılıp pansuman yapılmış görüntü	36
Şekil 36.	Operasyon sonrası kafesinde takibi devam eden tavşan	37
Şekil 37.	Kontrol grubu tendon kesit görüntüsü.....	41
Şekil 38.	Scaffold grubu tendon kesit görüntüsü.....	41
Şekil 39.	Scaffold grubunda dizilimin normale yakın olduğu ve zemin görünümünün daha normal tendona yakın olduğu görülüyor.....	42
Şekil 40.	Kontrol grubu aşıl tendonu artmış vaskülarite ve zemin görünümünde sitoplazmaların olması görülüyor.....	42
Şekil 41.	Geratech SH-5000 biyomekanik test cihazında testler gerçekleştirildi ..	44
Şekil 42.	Biyomekanik değerlendirmeye alınmadan önce tendonun örgülü suturela hazırlanması	44
Şekil 43.	Test cihazına alınmış ve teste hazır hale gelmiş tendonun görüntüsü.....	45
Şekil 44.	Test anında olan ve çekme testinde kopmak üzere olan tendonun görünümü	45

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Aşil tendonu insan vücudundaki en güçlü ve en kalın tendondur ancak boyutuna ve dayanıklılık mukavemetine rağmen sıklıkla yaralanır. Tendonun rüptürleri daha çok spor aktiviteleri sırasında meydana gelir. Erkek cinsiyette kadınlara oranla daha sık izlenir. Genellikle 4-5. dekat aralığında görülmekle birlikte ikinci pik olarak 60 yaş üstündeki insanlarda görülür. En sık yaralanma mekanizması ani ve zorlamalı bir ayak bilek dorsifleksiyon hareketinin yapılmasıdır (1).

Aşil tendon rüptürü olduğunda tanısının konulması için hastadan alınan anamnez değerlidir. Hastalar genellikle bacak arkasına birisinin vurduğunu, şiddetli bir ağrı ya da güçlü bir kopma sesi duyduklarını tarif ederler. Bununla birlikte normalde elle palpe edilebilen aşil tendonu, rüptür oluştuğunda devamlılık kaybı hissedilebilir. Ayrıca tanıyı koymamıza yardımcı testler olarak da Thompson ve Matles testleri kullanılabilir (2).

Aşil tendon rüptür tanısına yardımcı olarak da radyolojik tetkiklerden yararlanabilir. Bunun için basit ve ulaşılabilir olmasından kaynaklı direkt grafi ile inceleme yapılabilir. Ancak yumuşak doku yaralanması olduğu için USG (ultrasonografi) ve MR (manyetik rezonans) tanıyı koymakta daha faydalı radyolojik tetkiklerdir (3).

Tedavi seçeneklerine bakıldığında konservatif, açık cerrahi, minimal invaziv cerrahi ve fonksiyonel rehabilitasyon seçenekleri mevcuttur. Literatürde en iyi tedavinin hangisi olduğuna dair varılmış bir fikir birliği yoktur. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda konservatif olarak gidildiğinde rerüptür riskinin diğer tedavi basamaklarına göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (4).

Uygulanan tedaviler sonucunda da bazı komplikasyonlar görülebilmektedir. Bunlar tendonun tekrar rüptüre olması, DVT (derin ven trombozu), yara yeri komplikasyonları, sural sinir hasarı ya da eski aktif yaşantıya tekrar dönememe gibi başlıkları içerir (5).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bu komplikasyonları düşürmek amacıyla tedaviye farklı modalitelerde eklenilmektedir. Bunlar arasında PRP (trombositten zengin plazma), proloterapi, kriyoterapi, ESWT (ekstracorporeal şok

dalga terapisi) gibi yöntemlerde denenmektedir (6). Ayrıca biyolojik yapıda malzemelerin üretiminin sağlanması ve deneylerin yapılmasıyla da farklı tedavi metotlarının oluşturulmaya çalışıldığını gözlemliyoruz.

Bunlar arasında scaffoldların kullanımı da sayılabilir. Scaffoldlar kullanım yerleri arasında kanser tedavisi, antibiyotik ilaç taşınması, sinirsel defektlerin onarımı, kemik defektlerinde kullanımı konusunda yapılmış hayvan deneyleri mevcuttur (7).

Biz de scaffold yapılarının tendon yaralanmalarında olan etkisini incelemeyi hedefledik. Bu amaç doğrultusunda Tip 1 kolajenli PLGA (poli-d-laktik-ko-glikolik asit) scaffoldunun tavşan aşıl tendon yaralanmalarında tendon iyileşme sürecine yönelik etkisini histopatolojik ve biyomekanik olarak değerlendirdik. İki gruptan oluşan çalışma da kontrol grubumuza Modifiye Kessler süturu uyguladık, Scaffold grubumuza ise Modifiye Kessler süturu ve tendon yaralanma bölgesine Tip 1 kolajenli PLGA uyguladık. Çalışmanın sonunda opere edilen aşıl tendonlarına histopatolojik ve biyomekanik incelemeler yaptık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AŞİL TARİHÇESİ

Aşil tendonunun tarihine bakacak olursak, adını Yunan şair Homeros'un İlyada'da M.Ö. 750 ile 650 yılları arasında yazdığı betimlemeden almaktadır (8).

“Achilleus Truva'ya sırtını döndü ve zaferle elini kaldırdı. Fırsatını gören Paris, okunu fırlattı. Öldürmek için uçan bir şahin gibi uçtu- acımasız, hevesli, değişmez. Ardından yere doğru eğilmeye ve güç kaybetmeye başladı. Yine de düz ve ölümcül uçtu. Achilleus, annesi onu Styx Nehri'nin karanlık sularına daldırdığından beri insanların silahlarından korunuyordu. Ok, Thetis'in parmaklarının kapattığı çalkantılı suların dokunmadığı tek yeri buldu. Ok, Achilleus'un topuğuna sert bir şekilde saplanarak onu öldürdü.” (9).

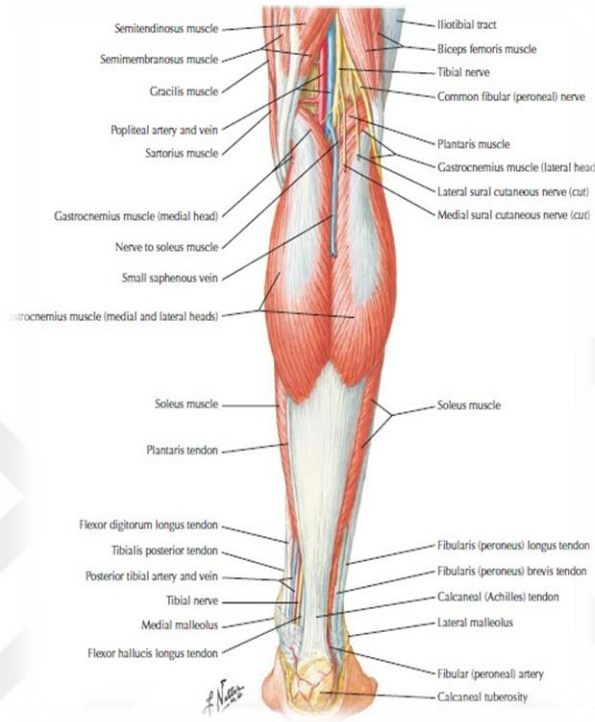
Aşil tendonu yaralanmalarının ilk tanımı Hipokrat tarafından yapıldığı ve ‘Neura Megala’ olarak bahseden ilk kişi olabileceği düşünülüyor. Hipokrat bu tendon için "Bu tendon ezilir veya yırtılırsa, akut ateşe neden olur, zihni bulanıklaştırır ve sonunda ölüme yol açar." ifadesini kullanmıştır. On ikinci yüzyıla doğru kopmuş bir tendonun kendiliğinden iyileşemeyeceği ve cerrahi müdahale gerekeceği konusunda fikirler üretilmeye başlanılmış. On sekizinci yüzyılın sonuna doğru aşil tendonuna cerrahi müdahaleler konusunda fikir birlikleri artmıştır (9).

Günümüzde de cerrahi yöntemle mi yoksa konservatif yöntemle tedavinin yanında cerrahi yöntem uygulanacaksa açık cerrahi mi yoksa minimal invaziv cerrahi uygulanacağı konusunda halen bir fikir birliğine varılamamış olsa da tendon rüptürünün etyolojisini aydınlatmaya yönelik çok sayıda literatür çalışması da bulunmaktadır.

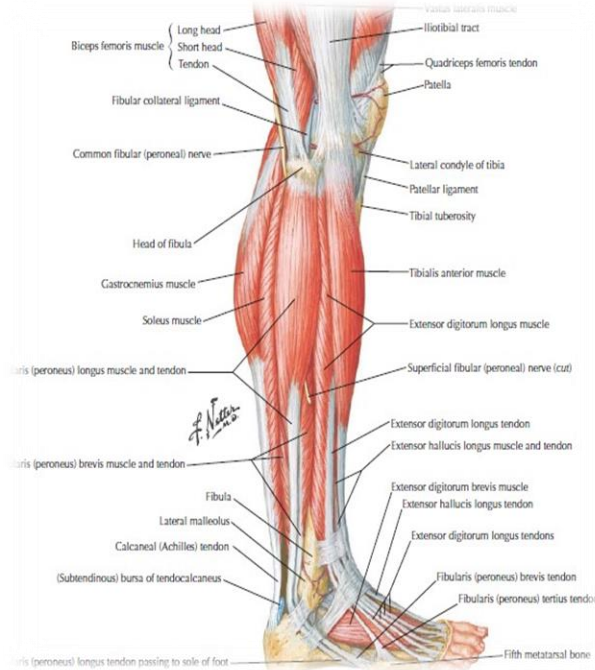
2.2. AŞİL ANATOMİSİ

Aşil Tendonu insan vücudunda bulunan en kuvvetli ve en büyük tendon yapısıdır. Özellikle günlük hayatta yürüme ve koşma durumunda en önemli yapıların başında gelir. Bu kadar kuvvetli ve günlük hayatta kullanılıyor olması tendonun yaralanma durumunu da bir o kadar artırır. Tendonun travmatik olarak yaralanması genellikle yüksek enerjili hadiseler ile ilişkilidir (10).

Aşil tendonu femur posterior kondillerinden başlangıcını alan gastrocnemius kasının bacak ortasında muskulotendinöz bileşke oluşturmasıyla başlar ayrıca bacak orta hattında soleus kasının da katılmasıyla triceps surae ismiyle de bilinir. Tendonun sonlanma noktası ise kalkaneus kemiğinin arka tarafıdır (11) (Şekil:1,2).



Şekil 1. Aşil tendonun anatomisi arka taraftan görüntüsü (12)



Şekil 2. Aşil tendonun anatomisi yan görüntüsü (12)

Aşil tendonun uzunluğu ortalama olarak 15 cm olup 10-20 cm arasında değişmektedir. Kişinin boyu arttıkça tendonun uzunluğu da artmaktadır. Tendonun kalınlığı ise tüm uzunluk boyunca farklılık göstermektedir. Proksimalde kalınlığı 4,5-8,6 cm iken distale doğru gidildikçe 1.5-2.6 cm aralığında değişir. Tendon insersiyosunda yuvarlak bir vaziyetteyken proksimale doğru gidildikçe yassı bir hal alır. Kalkaneus yapışma yüzeyinin sınırları ve boyutları kişiden kişiye farklılık gösterse de büyük oranda orta yüzeyde sonlanır (Şekil:3). Aşil tendonunun kalkaneus posterior yüzeyinin orta noktalarında sonlandığı yerdeki ortalama kalınlığı 3,5 cm olarak belirlenmiştir (10).

Kalkaneusun arka yüzü tipik olarak konvektir. aşil tendonu'nun insersiyosunu gösteren çoğu anatomi kitabı ve atlasında aşil tendonu'nun sadece posteriordan, medialden veya lateralden görünüşüne yer verilmiştir. Bu şekillerden tendonun şeklinin insersiyosunda değişmediği yorumu yapılabilir. Ancak, transvers kesitlerde aşil tendonu'nun insersiyosunun hilal şeklinde olduğu ve olguların çoğunda tendon liflerinin uzantılarının kalkaneusun medialinde laterale göre daha belirgin olduğu bildirilmiştir.



Şekil 3. Aşil tendonunun çizimsel olarak görünümü

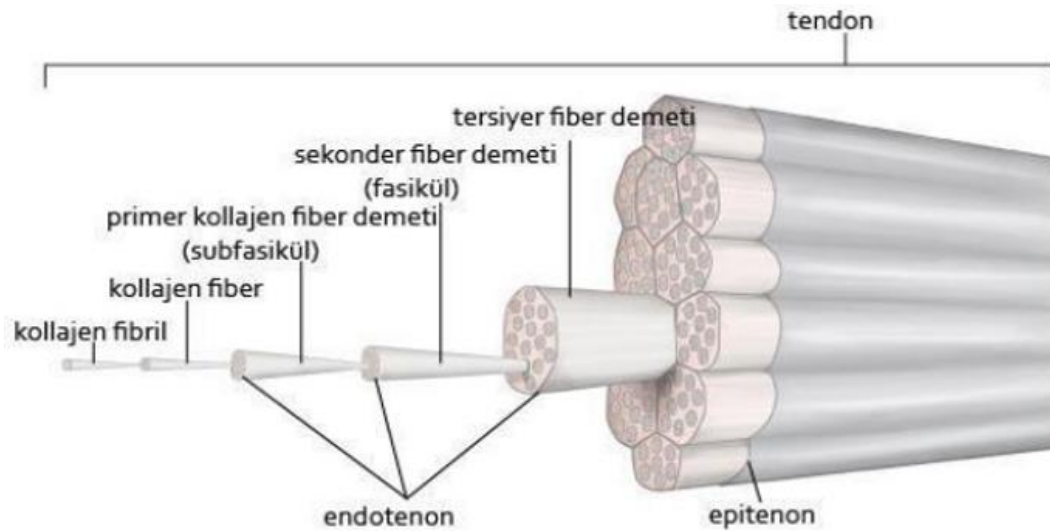
Bir tendon, bağ veya eklem kapsülünün kemiğe yapıştığı bölge enthesis olarak bilinir. Enthesis oluşturan yapılar, periosteal fibro kıkırdak, retrokalkaneal bursa, Kager'in yağ dokusu, sesamoid yapı olarak kabul edilir (10).

Plantaris kası Aşil tendonun yapısına katılmaz ancak iki tendonunda insersiyosu birbirine yakındır. Plantaris kası kalkaneus kemiğinde dört farklı şekilde insersiyoyu yapar. Tip 1 (%47) en sık görüleni olup, aşil tendonunun tutunduğu yerin medial kenarında yelpaze şeklinde genişleyerek sonlanır.

2.2.1. Tendonun Makroskopik ve Mikroskopik Yapısı

Aşil tendonun yapısı %90 oranında tip 1 kolajenden oluşur. Kolajen oranının bu kadar fazla olması sayesinde tendon uzunluğunun %5'i kadar esneyebilir. İlerleyen yaşla birlikte tendon dejenerasyonu artar ve tip 3 kolajen yoğunluğu da artar. Tip 3 kolajen, tip 1 kolajen kadar esnek olmamasından kaynaklı tendon dejenerasyonu arttıkça rüptüre olma ihtimalide artmaktadır (10).

Aşil tendonunu oluşturan kolajen lif demetleri endotenon ile sarılmıştır. Bir araya gelen endotenon üniteleri ise epitenon ile sarılır. Tendonu oluşturan bütün demetler sonunda paratenon adıyla bilinen bir bağ dokusu ile sarılır. Paratenon yapısı aşil tendonuna dayanıklılık ve koruma sağlamasıyla birlikte, sinovyası bulunmadığı için gerçek bir tendon kılıf birimi de değildir. Vasküler yapısı sayesinde tendonun beslenmesine katkı sağlar (Şekil: 4).



Şekil 4. Tendon yapısı ve Kolajen Fibriller

Tendonun lifleri bütünüyle vertikal seyretmemekle birlikte bir spiralleşme de gösterir. Spiralleşmenin en belirgin olduğu alan insersiyosunun 5-6 cm proksimalidir. Gastroknemius kasından başlayan lifler insersiyos alanında laterale yönelirken, soleustan başlayan lifler insersiyoda medial alanda sonlanırlar. Mekanik anlamda avantaj sağlayan spiralleşme vasküler yapıların ise bir miktar daralmasına sebebiyet vermektedir (10).

2.2.2. Aşıl Tendonu Biyomekanik Özellikleri

Aşıl tendonu'nun biyomekanik özelliklerini anlamak için öncelikle yürümenin biyomekaniğini anlamak gerekir. Yürüme iki safhadan oluşmaktadır: Duruş (stance) ve salınım (swing). Duruş safhası boyunca ayak yere tam temas halindedir. Salınım safhasında ise ayak yerden kalkar ve öne doğru yaylanır. Salınım safhası üç aşamada incelenebilir: temas (supinasyon), orta-duruş (mid-stance) ve ileriye sürüklenme (propulsion). Temasta öncelikle topuk yere temas eder ve ayağın geri kalanının yere değmesi ile bu aşama tamamlanır. Orta-duruş ise ayağın tamamının yere temas etmesiyle başlar. İleriye sürüklenme aşaması da topuğun yerden kalkmasıyla başlar ve parmakların yerden kalkmasıyla sona erer. Bu son iki aşama özellikle ayak bileğinin esas plantar fleksörleri olan gastroknemius kası ve soleus kası tarafından kontrol edilmektedir.

Aşıl tendonun da ki kas gerilimi duruş safhasının sonunda vücut ağırlığının yaklaşık 2,5 katı kadardır. Koşma durumunda bu yük 6-8 kata kadar yükselebilmektedir (10).

Orta-duruş safhasında ayak pronasyondadır. Bu pronasyon, tibia üzerinde bir internal rotasyona neden olur. Böylece triceps surae kası (m. triceps surae) aktifleşir. Kasın aktifleşmesi gerici bir güç oluşturur ve ayak plantar fleksiyona ve inversiyona geçer. Ayak pronasyonda ve diz ekstansiyondayken yapılan inversiyon aşıl tendonu'ndaki gerimi artırır ve bu gerim kalkaneus da sonlandığı yere kadar yayılır. Bu durum insersiyonel aşıl tendinopatilerin oluşum mekanizmasını açıklayabilir.

2.2.3. Aşıl Tendonu Kanlanması

Vücutta bulunan en sağlam tendon olmasına rağmen ne yazık ki kanlanması kısıtlıdır. Bundan dolayı tendon inflamatuvar patolojilere ve rüptürlere yatkındır (13).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar beslenmeyi sağlayan vasküler yapıların aslında paratenonu beslediğini göstermiştir.

Bacağın arka kompartmanından medialde Posterior Tibial Arter (PTA) ve lateralde Peroneal Arter (PA) geçer. Tendonun proksimal ve distal kısımları PTA tarafından, orta kısım ise PA tarafından sağlanır. Arterlerin çok sayıda ve geniş çaplı olmasından dolayı tendonun anterior tarafı daha iyi beslenmektedir (13). AT'nin kanlanması yaşa bağlıdır ve ilerleyen yaşla birlikte tendonun beslenmesi azalabilir. Baskın arter, esas olarak peritendinöz dokuları besleyen posterior Tibial arterin rekürren bir dalıdır (10). Peroneal arter, muhtemelen PTA ile anastomozlar yoluyla küçük katkılarda bulunurken anterior tibial arterin katkısına rastlanmaz. Tendonun orta bölgesinin damarlanması nispeten zayıftır, ancak bu noktada tendonun ön yüzeyinden bir miktar beslenmesi olur (Şekil:5). Paratenonun yüksek derecede damarlı olduğu bilinmekle birlikte, damarların tendonun uzunluğu boyunca eşit olarak dağılıp dağılmadığı veya insersiyon bölgesinde daha fazla kan akışına izin verip vermediği konusunda fikir birliği yoktur (8).



Şekil 5. Aşil tendon kanlanması kadavra görüntüsü

Sonuç olarak aşı tendonu kanlanması açısından 3 bölgeye ayrılır. Proksimal ve distal 1/3'lük kısım posterior tibial arter tarafından beslenirken, orta 1/3'lük kısım peroneal arter tarafından beslenir. Tendonun görece daha az beslenen orta 1/3'lük kısmı distal yapışma yerinin 5 cm lik kısmına tekabül etmekle birlikte rüptürlerin de daha çok bu kısımda meydana gelmesini açıklamaktadır (11).

2.2.4. Aşil Tendonu Sural Sinirle İlişkisi

Aşil tendonu yüzeysel bir yapı olduğu için sadece yüzeysel sinirlerle ilişkisi vardır. Yüzeysel bir sinir olan sural sinir, bacağın arka kısmının ve ayak sırtının lateralinin duyusal inervasyonundan sorumludur. Aşil tendonunun arkasında ilerleyen sural sinir, Vena saphena parva ile yan yana seyrederek. Her ne kadar sural sinirin seyri bilinse de aşil tendonu'nun cerrahi tedavi sırasında iatrojenik yaralanma riski çok yüksektir (13). Kalkaneusun üst sınırının 8–10 cm proksimalinde, sural sinir, AT'nin lateral sınırını geçer (10) (Şekil:6). Sural sinirin farklı seyirleri ve varyasyonları olması nedeniyle sinir hasarını önlemeye yönelik minimal invazif cerrahiler sırasında dikkat edilmelidir. Sinirin iatrojenik yaralanması neticesinde hastalarda parestezi görülebilir.



Şekil 6. Aşil tendonun sural sinir ile ilişkisi (14)

2.3. TENDON İYİLEŞMESİ

Tendonlar, öncelikle kas tarafından üretilen kasılma kuvvetini kemiğe ileterek hareket etmemizi sağlayan yapı birimleridir. Tendonlarda %55-70 oranında su bulunur ve hücre dışı matriks öncelikle düzenli dizilmiş tip I kolajen liflerinden (%65-80 kuru ağırlık) oluşur ve elastin, dekorin, biglikan ve fibromodulin gibi küçük hücre dışı matris bileşenleri içerir (15).

Endotenon, her bir lifi çevreleyen retiküler bir bağ dokusu ağıdır. Epitenon, tendonun vasküler, lenfatik ve sinir desteğini içeren ve tüm tendonu çevreleyen bağ dokusu kılıfıdır; paratenon ise tip I ve III kolajen fibrillerinden, bazı elastik fibrillerden ve sinovyal hücrelerin iç astarından oluşan gevşek bir areolar bağ dokusudur (15).

Her dokuda olduğu gibi tendonlarda da tedavi sonucunda başarılı sonuç alabilmek adına iyileşme basamaklarına hâkim olmak gerekir. Tedavi yöntemi seçilirken konservatif mi olacağı yoksa cerrahi yöntem mi uygulanacağı hastanın yaşı, sigara içip içmediği, kronik hastalık öyküsü, cinsiyeti, hastanın cilt durumu gibi faktörlere göre değerlendirilir. Diyabet Mellitus gibi metabolik bozukluklar tendon iyileşme sürecini önemli ölçüde etkiler (16). Bu değerlendirmelerin ardından cerrahın da tecrübesine göre uygun tedavi yöntemi seçilir.

Tedaviye başlandıktan sonra tendondaki iyileşme basamakları birbirini ardı ardına izleyen üç adımdan oluşur. Birinci basamak inflamatuvar faz adını alır. İnflamatuvar faz da inflamasyonun başlamasıyla sahaya ilk gelen hücreler olan nötrofiller fazı başlatan hücrelerdir. Nötrofillerin gelmesinden sonra ilk 24 saatte salgılanan sitokinler aracılığıyla monositler ve makrofajlar nekrotik dokuları temizler. Salgılanan sitokinlere ikincil cevap olarak yeni damar oluşumunun başlaması, artan damarsal geçirgenlik, proliferasyon ve tenositlerin uyarılması sağlanır. Tenositlerin yara yerine ulaşması ile tip 3 kolajen sentezi başlar. İnflamasyon fazı ortalama olarak 15 gün kadar sürmekte olup bu süreç sonunda proliferasyon fazı başlar (15).

Proliferasyon fazı da yaklaşık olarak 15-30 günler arasında devam eder. Bu süreçte sentezlenen tip 3 kolajen en üst seviyesine ulaşır (10). Tendon yaralanması gerçekleşikten sonra yaklaşık 1. ayda remodelling fazı başlar. Remodelling fazı da kendi içinde 2'ye ayrılır. 10. Haftaya kadar sürecek olan konsolidasyon fazında iyileşme dokusu hücresel halden lifli hale geçiş yapar. Tip 1 kolajen sentezinin en

yüksek olduğu dönem konsolidasyon fazıdır. Yaralanmanın olmasından sonra 1. Yıla kadar remodelasyon dönemi devam etmekte ve iyileşme dokusu olgunlaşma aşamasında sağlamlık kazanıp skar benzeri bir dokuya dönüşerek süreç tamamlanır.

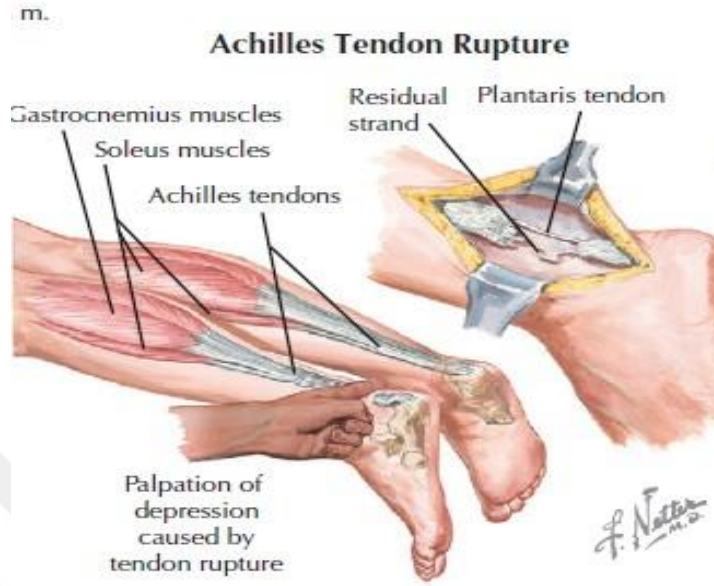
İyileşme basamaklarından sonra tendon iyileşmesinin gerçekleşmesi intrinsik olarak veya ekstrinsik olarak gerçekleşir (17). İntrinsik iyileşme de epitenon ve endotenon da bulunan tenositlerin çoğalması ile gerçekleşir. Ekstrinsik iyileşme ise paratenon ve sinovyumda bulunan hücrelerin invazyonu ile gerçekleşir. İnternal bölgede bulunan tenositler, intrinsik iyileşme sürecinde epitenon hücrelerinden daha büyük ve daha matür kolajen salgırlar. İntrinsik iyileşmenin pozitif etkisi tendon kılıfı içinde normal kayma mekanizması korunur ve daha az komplikasyon ile sonuçlanır. Ekstrinsik iyileşmede oluşan fibrotik doku çevre dokulara adezyon oluşumu yaparak tendonun kayma hareketini engelleyebilir.

Tendon iyileşmesinde biyokimyasal olarak pozitif yönde etkileyen faktörlerde vardır. Bunlar içinde: insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) bulunur (18). Tendon yaralanması gerçekleştikten sonra bu faktörler düzenlenir ve iyileşme sürecinde aktif olarak rol alırlar. IGF-1 tendon fibroblastlarının çoğalmasına katkı sağlarken kolajen ve proteoglikan üretimini de artırır (19). VEGF, anjiyogenezi artırıp damarsal geçirgenliğin artışı sağlar.

2.4. AŞİL TENDON RÜPTÜRÜ

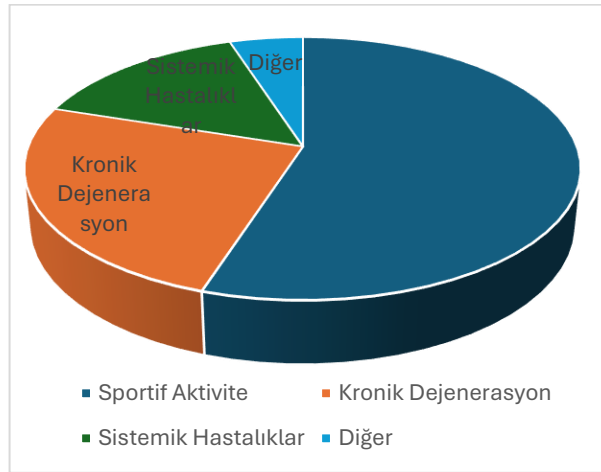
Aşil tendon rüptürü insan vücudundaki büyük tendon yaralanmalarının %20'sini oluşturur. İnsidansı 11-37 / 100.000 kişi olarak değişmektedir. Erkek cinsiyette kadınlara oranla 2 -12 kat daha fazla rüptürle karşılaşılır. Yaralanmanın bimodal bir yaş dağılımı vardır; ilk pik 25 ila 40 yaş arasındaki hastalarda, ikinci pik ise 60 yaş üstü hastalarda görülür (6). En sık olarak tendon rüptür mekanizmaları, diz ekstansiyon pozisyonunda ağırlığı taşıyan ön ayağın itilmesi, ayak bileğinin ani dorsifleksiyonu, yüksekten düşmede olduğu gibi plantar fleksiyon postüründe olan ani ve zorlamalı dorsifleksiyon hareketini yapması olarak tanımlanabilir (2). Bu faktörlere ek olarak kronik dejenere olmuş tendon hipovasküleritenin olduğu insersiyon yerinin 2-6 cm proksimalinde de tendon rüptürleri görülebilmektedir (10). Yine romatolojik rahatsızlığı bulunan hastalarda da kolajen sentez ve yapısında oluşan hatalardan

kaynaklı da rüptürler oluşabilir. Uzun süreli kinolon grubu antibiyotik ve steroid kullanım öyküsü olan hastalarda da rüptürler bildirilmiştir (Tablo:1).



Şekil 7. Aşil tendon rüptürünün palpasyonla hissedilmesi (20)

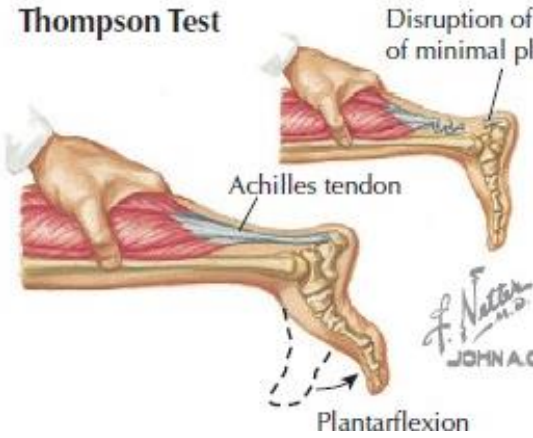
Tablo 1. Rüptür nedenleri pasta grafik gösterimi



Tendonun en büyük vasküler beslenmesi anterior mezenter bölgesinden gelen mezotendondandır. İlerleyen yaş ile birlikte anterior mezenterik beslenme azalır (2). Yaşa bağlı olarak kolajen çapraz bağlanmasındaki değişiklikler, rüptüre olmayı yatkın duruma getirir olacak şekilde değişiklikler gözlenir.

2.4.1. Klinik Değerlendirme

Aşil tendon rüptürünün tanısı genellikle hastadan alınan anamnez ve palpe edilebilir bir yapı olmasından kaynaklı muayene ile konulabilir (Şekil:7). Birçok hastanın travma öyküsü vardır ve topuk bölgesine alınan darbeden ve bununla birlikte duyulan bir sestten bahsederler. Akut dönemde hastada aşil bölgesinde şişlik, ağrı, hematoma oluşumu gözlenebilir (1). Bunlarla birlikte yürümekte güçlük, merdiven inip çıkmada güçlük de şikayetler arasındadır. Muayeneyi yapan hekimin baldır kasını sıkmasıyla ayak bileğinde plantar fleksiyonun olmayışı (Thompson Testi) ve prone pozisyonda yatan hastanın her iki dizi fleksiyona alındığında etkilenen tarafta ayak bileğinde artmış ekstansiyon görülmesi (Matles Testi) tanıyı koymakta yardımcı bulgulardır (Şekil: 8,9).



Şekil 8. Thompson Testi



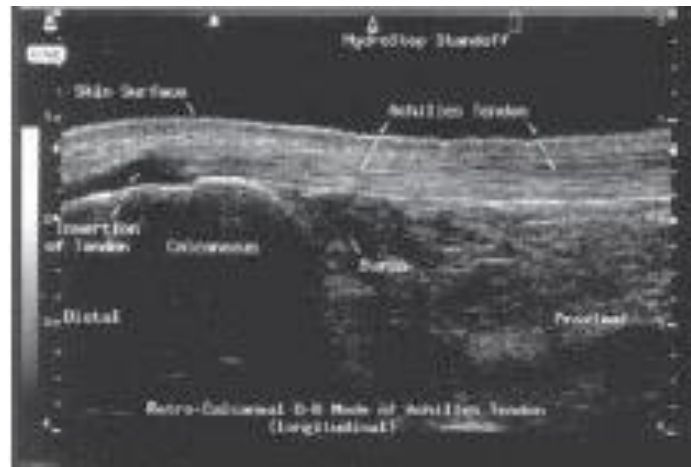
Şekil 9. Matles Testi

2.4.2. Radyolojik Bulgular

Aşil tendon rüptürünün tanısında ilk basamak klinik anamnez ve muayene olup şüphelenilen vakalarda tanıyı desteklemek amaçlı radyolojik tetkiklerden yararlanılır. Manyetik rezonans görüntüleme ve ultrasonografi bunlar arasında en sık kullanılan tetkiklerdir (Şekil:11,12,13). Direkt grafi sayesinde kalsifik lezyon olup olmadığı, Haglund deformitesi, kalkaneal avulsiyon kırığı olup olmadığı konusunda fikir sahibi olunur (6).



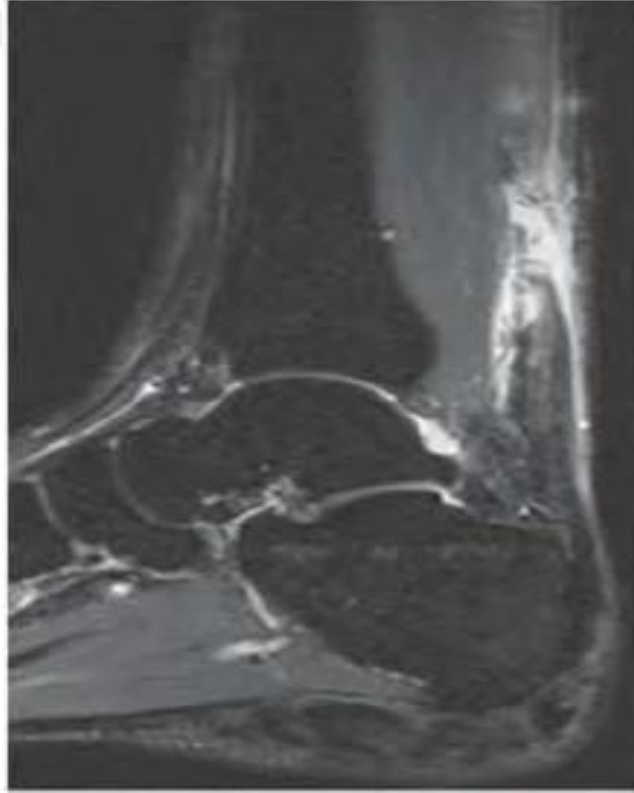
Şekil 10. Rüptüre olmuş aşil tendon



Şekil 11. Normal aşil tendonu usg görüntüsü (14)



Şekil 12. Rüptüre olmuş aşil tendon T1 ağırlıklı sekans yan görüntüsü



Şekil 13. Rüptüre olmuş aşil tendon T2 ağırlıklı sekans yan görüntüsü

2.5. TEDAVİ

Akut aşı tendon rüptürlerini konservatif ya da cerrahi olarak tedavi etme kararı, her iki tedavi biçimini de destekleyen kanıtlarla birlikte bir miktar tartışmalıdır (6).

2.5.1. Konservatif Tedavi

Aşı tendon rüptürlerinin konservatif tedavisinde, uzun bacak alçı, fonksiyonel olarak breysleme ve erken harekete izin veren agresif bir rehabilitasyon programını içerir (2). Konservatif tedavi kararını vermek için önerilen ultrason tabanlı kriterler arasında;

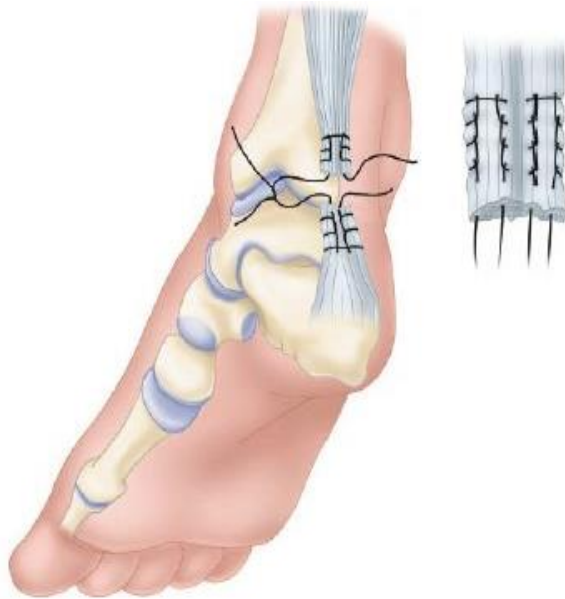
1. Maksimum plantar fleksiyonda 5 mm'den az boşluk bulunması
2. Ayak nötr konumdayken 10 mm'den az boşluk
3. Ayak 20 derece plantar fleksiyondayken %75'ten fazla tendon apozisyonu yer almaktadır.

Konservatif tedavi yöntemlerinde aşı tendinopatisi durumlarında da kullanılır. Bu yöntemler Ekstrakorporeal şok dalga tedavisi (ESWT), Kriyoterapi, Non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar, steroid enjeksiyonu, trombosit zengin plazma (PRP), Proloterapi bu yöntemlerden bazılarıdır. ESWT duysal ve miyelinsiz sinir liflerinin selektif fonksiyon bozukluğuna ve dorsal kök ganglionunda değişime neden olarak etki gösterir. ESWT için etkili doz ve süre ise halen netlik kazanmamıştır. Kriyoterapi yönteminde artmış kılcal kan akımını ve ağrıyı azaltmak için kullanılan yöntemlerden birisidir. PRP yönteminde yapılan deneysel hayvan çalışmalarında tip 1 ve tip 3 kolajen ekspresyonunu artırarak tendonda iyileşme ve yeniden şekillenme sürecini desteklediğini göstermiştir. Proloterapi yönteminde hiperosmolar dekstrozu uygulaması lokal inflamatuvar yanıt ve tendon kuvvetinde artışı sağlamakta olduğu düşünülüyor. Yakın zamanda yapılan sistematik derleme ve meta-analizde proloterapinin aşı tendinopatisinde etkili ve güvenli bir tedavi seçeneklerinden birisi olabileceği düşünülüyor.

2.5.2. Cerrahi Tedavi

Aşil tendonun cerrahi tedavisine bakacak olursak aktif ve genç bireyler için önerilmektedir. Cerrahi tedavinin, konservatif tedaviye göre daha düşük yeniden rüptür oranına sahip olduğu gösterilmiştir. Buna rağmen cerrahi tedavide konservatif tedaviye göre komplikasyon oranlarının bir miktar daha yüksek olduğu bulunmuştur (2). Yeni yapılan çalışmalarda ise gelişen teknoloji ve cerrahilerin minimal invaziv yöntemlere doğru evrilmesinden kaynaklı komplikasyon oranlarında da belirgin düşüş olduğu gösterilmiştir. Aşil tendon rüptürlerinin cerrahi olarak tedavi edilmesine kontrendikasyon teşkil eden durumlar arasında, arteriyel yetmezlik, zayıf deri ve yumuşak doku kalitesi, yetersiz kontrol edilen tıbbi komorbiditeler (örn:diyabetes mellitus) ve cerrahi sonrası rehabilitasyon protokollerine uyulmaması yer almaktadır. Artan yaş tek başına cerrahi tedaviye kontrendikasyon oluşturmaz.

Cerrahi tedavi yöntemleri açık ve minimal invaziv olarak kabaca 2 başlık altında incelenebilir. Ek olarak tendon onarımında tek ve çift Bunnell, Kessler ve Krackow teknikleri ve bunların konfigürasyonları olmak üzere çok sayıda suture malzemesi ve modifikasyonu tanımlanmıştır (Şekil:14). Yakın dönemde yapılan bir kadavra çalışmasında, tamamı çift suture tekniği ile yapıldığında Krackow, Bunnell, ve Kessler sutureları arasında biyomekanik dayanıklılık açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (2).



Şekil 14. Rüptüre olmuş aşil tendonuna Krackow suture örneği

Açık aşil tendon rüptürlerinin onarımı tarihsel olarak daha düşük yeniden rüptür oranı ve spora dönüşün yüksek oranda olması nedeni özellikle sporcularda cerrahi tedavide ‘altın standart’ olarak devam etmektedir (2).

Minimal invaziv ve perkütan onarımlarda daha küçük kesiler ile yapılması özellikle yara yeri sorunlarını ve enfeksiyonlarını azaltır. Ancak sural sinirin yaralanması, tendon uçlarının uyumsuzluğu ise açık cerrahiye göre dezavantajlarıdır (6).

2.5.2.1. Açık Uç Uca Onarım

Hasta prone pozisyonda yatırılır. Aşil tendonunun 1 cm medialinden olacak şekilde 10 cm uzunluğunda longitudinal kesi yapılır. Medial insizyon tercih edilmesinin sebebi sural sinir için güvenli olduğu düşünülmektedir. Cilt altı dokular geçildikten sonra tendon kılıfı açılır. Rüptüre olan tendonun proksimal ve distal parçaları bulunur. Bulunan kısımların uçları debride edilir. Proksimal ve distal parçalar literatürde fazlasıyla tarif edilen suture tekniklerinden birisiyle (Bunnell, Kessler, Krackow , ...) suturezasyon işlemi uygulanır. Suturezasyon yapılırken proksimal ve distal parça birbirine temas etmez ya da az olursa iyileşmeyi hızlandırmak açısından ayak bilek plantar fleksiyona alınarak da işlem uygulanabilir (Şekil: 15, 16). Tendon onarımında sonra korunmuşsa paratenon muhakkak tendonun üzerine uygun şekilde dikilir. Paratenon tabakasının kapatılması cilt gerginliğini azaltıp yapışıklıkları önler.



Şekil 15. Rüptüre olmuş aşil tendonu cerrahi anında görüntüsü



Şekil 16. Açık cerrahi onarımla uçtan uca onarım yapılmış aşil tendon

2.5.2.2. Aşil Tendon Rüptürü Açık Onarımı- Lindholm

Hasta pron pozisyonunda yatırılır. Bacak ortasından kalkaneusa uzanan bir posterior eğrisel kesi yapılır. Derin fasya geçildikten sonra tendona ulaşılır. Tendonun rüptüre olan uçları bulunur ve debride edilir. Proksimal tendon ve gastroknemius aponevrozundan her biri yaklaşık 1 cm genişliğinde ve 7-8 cm uzunluğunda iki flep oluşturulur. Her bir flep 180 derece döndürülerek tendonun distal güdüğüne suture edilir (Şekil: 17). Tendon kılıf onarımı ve cilt altı ve cilt dokularının kapatılması ile işleme son verilir.



Şekil 17. Aşil tendon rüptürü Lindholm tekniği ile onarım

2.5.2.3. Aşil Tendon Rüptürünün Plantaris Tendonu Kullanılarak Onarımı

Aşil tendonu medial tarafında 15 cm’lik longitudinal insizyon açılır. Orta hatta tendon kılıfı açılıp proksimal ve distal güdükler bulunur. Plantaris tendonu sağlamsa kalkaneus yapışma yerinden bulunup diseke edilerek bir membran gibi hazırlanır. Ardından aşil tendonunun proksimal ve distal parçaları onarılıp plantaris tendonundan oluşturulan membran üzerine dikilir. Tendon kılıfı uygun şekilde tekrardan dikilir. Cilt altı ve cilt uygun şekilde kapatıldıktan sonra işleme son verilir (Şekil: 18).



Şekil 18. Plantaris tendonu kullanılarak yapılmış aşil tendonu cerrahi görüntüsü

2.5.3. Cerrahi Sonrası Rehabilitasyon

Konservatif veya cerrahi tedavide de amaç oluşan problemleri çözümlmek ve tekrarlayan yaralanmaları engellemektir. Bunun için hastaları mutlak surette rehabilitasyon ile eş güdümlü olarak tedavi etmek gerekir. Artık değişen koşullarla birlikte günümüzdeki rehabilitasyonun amaçları arasında kas ve tendonun kuvvet ve işleyişini artırmanın yanında yapısını da düzeltmeye yöneliktir (21). Bunun için fazlasıyla egzersiz tanımlanmıştır. İyi ve düzgün bir iyileşmenin sağlanabilmesi için rehabilitasyon ve antrenman süresince tendon üzerine binen ve basınç oluşturan aşırı

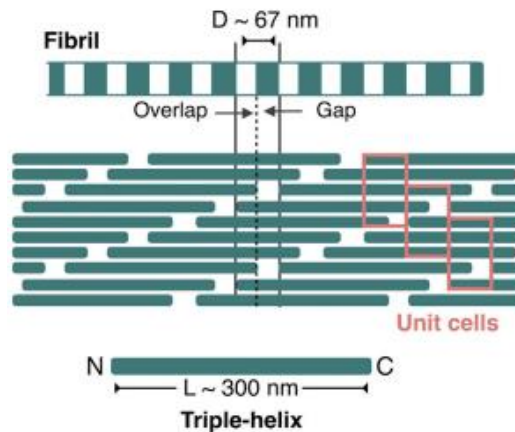
aktivitelerden kaçınmak gerekir. Aşıl tendon cerrahisi uygulanmış bir hasta 6 hafta boyunca orteziyle birlikte duracaktır.

Aşıl tendon cerrahileri sonrası klinisyenler tarafından farklı protokoller izlense de tendonun iyi ve kaliteli iyileşmesi, aşırı uzama, kas kuvveti, aerobik kapasiteyi geliştirmek, proprioseptif duyuyu normal seviyeye getirmek için en erken dönemde rehabilitasyon süreci başlatılmalıdır.

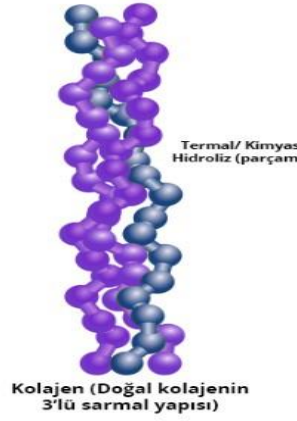
2.6. TİP 1 KOLAJEN

Kolajen, hayvan bağ dokusunun hücre dışı matriksinin birincil bileşenidir. Omurgalı ve omurgasız hayvanlarda bugüne kadar 28 farklı kolajen türü tanımlanmıştır. Bunlar arasında tip 1 omurgalılarda en çok bulunan kolajendir. Yapısında 18 aminoasit barındıran tip 1 kolajende en çok glisin, prolin ve 4-hidroksiprolin aminoasitleri bulunur. Bazal membranlar, bağlar, tendonlar, deri ve kan damarları gibi çeşitli dokularda değişen oranlarda bulunur (22).

Tip 1 kolajenin yapısı birbirinin etrafına sarılmış üç paralel polipeptit zincirinden oluşan 300 nm(nanometre) uzunluğunda üçlü bir sarmaldır. Bu üçlü sarmallar, fibriller oluşturmak üzere bir araya gelir. Kademeli olarak düzenleme, fibril eksenini boyunca düşük ve yüksek protein yoğunluklu, tekrarlayan bir uzunluk birimi olan D dönüşümlü bölgeler oluşturur. Bu D periyotları çeşitli kolajen tiplerinin yapısal özellikleridir. Lifler ise, proteoglikanlar gibi diğer kolajenli ve kolajensiz moleküllerle birleşerek fibril demetleri ve lifleri oluşturur. Bunlar da daha sonra doku iskeleleri oluşturmak üzere bir araya gelir (23) (Şekil:19,20).



Şekil 19. Tip 1 kolajenin fibriller yapısı



Şekil 20. Kolajenin üçlü helikal yapısı

Tip 1 kolajen tendonlardaki kolajenin %95' ini oluşturur. Bu lifler birbirine paralel seyir düzenlenmiştir. Yaralanmış bir tendon da iyileşme aşamasında öncelikle Tip 3 kolajen oluşup ilerleyen zamanlarda yerini Tip 1 kolajene bırakır. İyileşmiş tendon dokusu nadiren yaralanmamış tendonun mekanik özelliklerine ulaşır. Tendon iyileşme aşamasında yapılan çalışmalar ile fazlasıyla yol katedilmiştir. Bunun yanında doku mühendisliğinin işin içine girmesiyle birlikte çeşitli yaklaşımlar tanımlanmıştır. Bunlar arasında, mekanik destek sağlama, matris üretimi ve organizasyonu hızlandırmak için endojen hücreleri yönlendirme fikirleri de ortaya çıkmıştır. Bu malzemeler yaralanma bölgesine uygulanırlar. Kök hücreli ya da kök hücresiz, karmaşık yapılarda doku scaffoldları da tanımlanmıştır. Tüm bu çalışmaların yanında dışarıdan eklenen büyüme faktörleri, kolajenler ve diğer destek materyallerinin iyileşme aşamasına olan etkilerinin incelenmeleri halen devam etmektedir.

Biz çalışmamızda sığır tendonundan izole edilmiş tip 1 kolajen kullandık. (Sigma- Aldrich Bovine Collagen Type I) Asidik çözeltideki kolajen, biyomühendislik ve hücre kültürü uygulamalarındaki kullanımla üç boyutlu scaffoldlara sentez edildi (Şekil:21).



Şekil 21. Çalışmada kullanılan sığır tendonundan izole edilmiş Tip 1 kolajen

2.7. PLGA (POLİ-D-LAKTİK-KO-GLİKOLİK ASİT) SCAFOLD

Polimerik malzemeler, çok çeşitli uygulamalarda kullanılan son derece dikkat çekici malzemeler haline gelmişlerdi (24). Kapsamlı olarak araştırılan biyomateryallerden birisi olan poli-laktik-ko-glikolik asit FDA (Amerika Gıda ve İlaç Dairesi) ve EMA (Avrupa İlaç Ajansı) onaylı bir kopolimerdir (25). PLGA herhangi bir boyutta işlenerek, suda çözünürlüğü ayarlanabilir ayrıca kontrollü ilaç salınımına olanak tanır (26). PLGA genellikle laktik asit (LA) ve glikolik asidin (GA) kopolimerizasyonu yolu ile sentezlenir ve çözünme ürünleri toksik değildir (7).

Son yıllarda PLGA kopolimerleri nanoteknolojinin de devreye girmesiyle küçük moleküllü ilaçlar, aşılar, proteinler ve manyetik nanopartiküller gibi hem organik hem de inorganik malzemeleri PLGA ile sentezlemek mümkündür (7). PLGA tabanlı olarak üretilen kopolimerler hidrofobik ya da hidrofilik olarak ayarlanabilmesiyle ideal bir ilaç taşıma sistemi haline getirilir (24). Genel olarak biyomedikal alanda kullanılan PLGA' lar antiseptikler, antibiyotikler, anti inflamatuvar ya da antioksidan ilaçlar üretilerek spesifik hedeflere yönelik etkin yanıtlar alınabilir (7).

PLGA' nın inorganik nanopartiküllerle sentez edilmesiyle nanokompozit malzemeler oluşturulması bu polimerin uygulama alanını daha da genişletir. Farklı yöntemler ile üretilen PLGA bazlı nanokompozitler kemoterapi, kanser teşhisi ve görüntüleme, gen terapisi ve protein dağılımı gibi alanlardaki kullanımı son yıllarda kapsamlı şekilde araştırılmıştır (26).

2.7.1. PLGA Özellikleri

PLGA, LA ve GA birimlerinin senteziyle üretilir. Polimerizasyon sırasında monomerik birimler ester bağları aracılığı ile birbirine bağlanır (25). PLGA polimerindeki ester bağlarının hidrolize olması ile ortaya çıkan biyoyumlu moleküller olan laktat ve glikolat molekülleri ortaya çıkar. Bu monomerler daha sonra Krebs döngüsüne katılır ve toksik olmayan yan ürünler su ve karbondioksit ürünleri ortaya çıkar (7).

Polimerizasyon sırasında poli(laktik asit):poli(glikolik asit) (PLA:PGA) oranı değiştirilerek farklı PLGA formları elde edilebilir. Nanoteknolojide sıklıkla kullanılan

PLGA 50:50 oranında laktik asit ve glikolat bileşimine sahiptir (24). PGA hidrofilik bir polimerken, PLA sert ve daha hidrofobik bir polimerdir. Daha yüksek PLA içeriğine sahip bir PLGA kopolimeri daha az hidrofilik olup, daha az su emme eğilimindedir. Bundan dolayı da daha uzun bir bozunma süresi vardır. Bozunma süresi, moleküler ağırlığa (Mw) ve kopolimer oranına bağlı olarak birkaç aydan birkaç yıla kadar değişebilir (24). PLGA, kloroform, aseton, etil asetat ve tetrahidrofuran gibi organik çözücülerde dahil olmak üzere farklı çözücülerde çözünebilir. Bu faktörlerin önemi özellikle kontrollü ilaç salınımı olmak üzere çeşitli uygulamalar için yararlı olduğu kanıtlanmıştır.

Biyomedikal olarak uygulamalarına bakılırsa PLGA, 1989 yılından bu yana klinikte kullanılmakta olup çoğunlukla mikroküre formülasyonları tanıtılmaktadır. PLGA çoğunlukla ilaç dağıtımı için kullanılır ve FDA ve EMA onaylı yaklaşık 20 formülasyon mevcuttur (7).

Ortopedi alanındaki uygulamalarına bakılacak olursa hayvan deneylerinde defektli kemik kırıkları, kırık psödo artrozları, kırıkta rejenerasyonu ve enfekte kemik tablolarında kullanıldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (27).

Kemik defekti oluşturan tavşan deneyinde hidroksiapatit kaplı PLGA partikülleri ile yapılan çalışma da defektin küçülmesine yönelik olumlu sonuç alınmıştır (27). Ayrıca enfekte kemik alanına linezolid taşıyan PLGA modelinde çalışma sonucunda enfekte alandaki enfektif patojenlerin azaltıldığını belirten sonuçlarda gösterilmiştir (28). Magnezyum hidroksit kaplı PLGA kopolimerlerinin kondrojenesis de etkisinin araştırıldığı çalışma da mevcuttur (29). Kemik ve kırıkta dokunun yanında kas ve iskelet sisteminin diğer fizyolojik biriminde de kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Elektrospinning yöntemiyle üretilmiş PLGA nanofiberleri iskelet kası rejenerasyonun da kullanılmıştır (30). Ancak üretilen sentetik materyal hidrofobik olması nedeniyle konak hücrelerin adezyon olması ile yaşanan sıkıntılar nedeniyle kolajen, Kito san ve aljinat gibi doğal polimerler eklenerek daha hidrofilik yapı oluşturularak daha başarılı sonuçlar alınacağı düşünülmüştür (30).

2.7.2. PLGA Scaffold Hazırlama Yöntemleri

Optimize edilmiş sonuçlar elde etmek için farklı PLGA parçacık hazırlama yöntemlerini anlamak büyük önem taşır. Her biri farklı avantajlara sahip kurulmuş

yöntemler olsa da PLGA malzemelerinin hazırlanmasında ve geliştirilmesinde dikkate alınması gereken sınırlamalar da vardır.

Kullanılan organik çözücü dikkatli seçilmelidir. Çünkü karıştırma cihazına benzer şekilde emülsifikasyon, çözücü ekstraksiyonu ve parçacık homojenliği açısından sınırlamalar yaratabilir (7). PLGA sentezinde çok farklı teknikler kullanılsa da en yaygın olanı hem tekli hem çift emülsiyonlu emülsifikasyon-çözücü buharlaştırma yöntemidir. Tuzlama, nano presipitasyon, emülsifikasyon-çözücü difüzyonu ve püskürtmeli kurutma diğer yöntemlerdir. Elektrospraying, lifli scaffold sentezi için en çok kullanılan standart tekniklerden birisidir (7).

Bizim çalışmamızda kullanmış olduğumuz PLGA scaffoldu şu şekilde üretildi.

PLGA: tip 1 kolajen (9:1 w/w) nanofiberlerin hazırlanması;

Malzemeler, sığır tendonundan liyofilize tip 1 kolajen (buga-col) buga-med biotechnology'den satın alındı. Resomer rg 503, poli(d laktit-ko-glikolit) laktit:glikolit 50:50 (mw:24000-38000) ve hekzafloro-2-propanol (HFIP) sigma-aldrich' den satın alındı. Asetik asit (glasiyal) merck'den satın alındı.

2.7.3. PLGA Scaffold Üretim Yöntemi

Nanofiberler literatür protokollerine göre birkaç revizyon ile üretildi (31,32). %90 oranında PLGA ve %10 oranında Tip 1 kolajenden oluşan nanofiberlerin hazırlanması için öncelikle iki ayrı solüsyon hazırlandı. Daha sonra PLGA ve tip 1 kolajen solüsyonları (plga: tip 1 kollajen (9:1 v/v) kapalı bir şişe içerisinde oda sıcaklığında bir gece boyunca kuvvetlice karıştırıldı. Elektrospraying, 20 kv altında 3 ml/saat akış hızı ile gerçekleştirildi. İğne ucu toplayıcı plakadan 12 cm uzağa yerleştirildi. Elektrospraying işleminin sonunda nanofiberler, kalan çözücüleri uzaklaştırmak için 2 gün boyunca liyofilizatör ile dondurularak kurutuldu. 5 cm uzunluğunda, 1 cm genişliğinde ve 1 mm kalınlığında dondurularak kurutulmuş nanofiberler UV (ultraviyole) ışığı ile sterilize edildi ve ameliyattan önce en az 2 saat boyunca sterilize edilmiş tuzlu suya daldırıldı (Şekil:22,23).



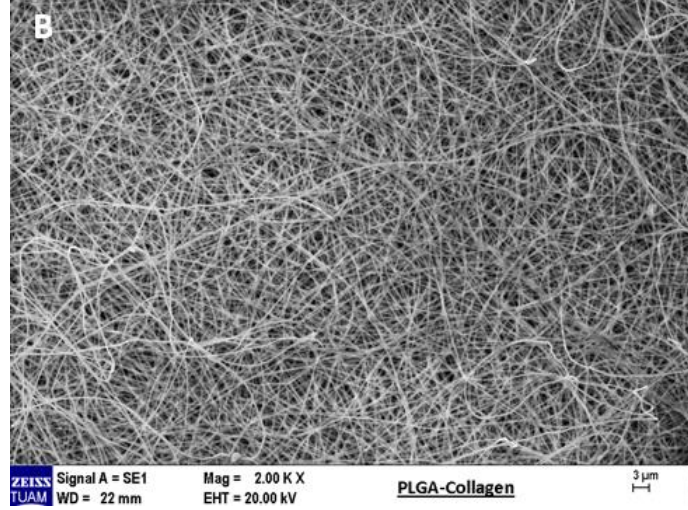
Şekil 22. PLGA kopolimerinin laboratuvarda üretim aşamasından bir kesit

Nanofiberlerin TEM (Taramalı Elektron Mikroskop) Görüntülenmesi:

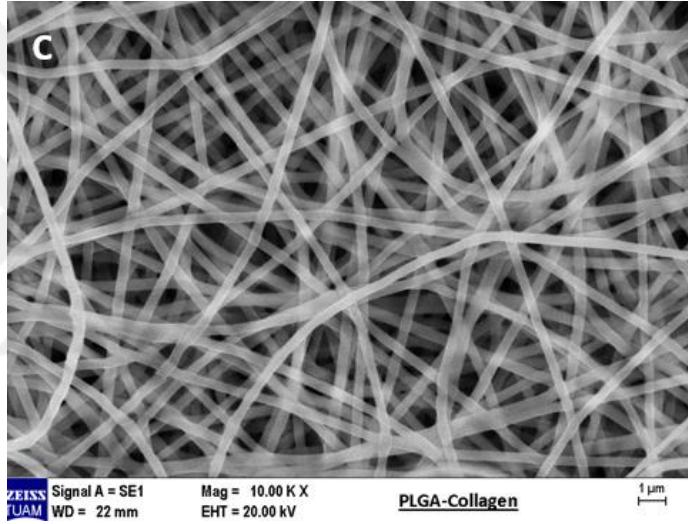
Taramalı Elektron Mikroskobu (TEM) analizinden önce nanofiber örnekleri Sputter Coater (Bal-Tec SCD005) kullanılarak altınla kaplandı. Nanofiber örneklerinin morfolojileri LEO 1430 VP Taramalı Elektron Mikroskobu ile 20 kV (kilovolt) hızlandırma voltajında analiz edildi. Nanofiber örneklerinin temsili bölgeleri çeşitli büyütme oranlarında görüntülendi (Şekil:24,25,26).



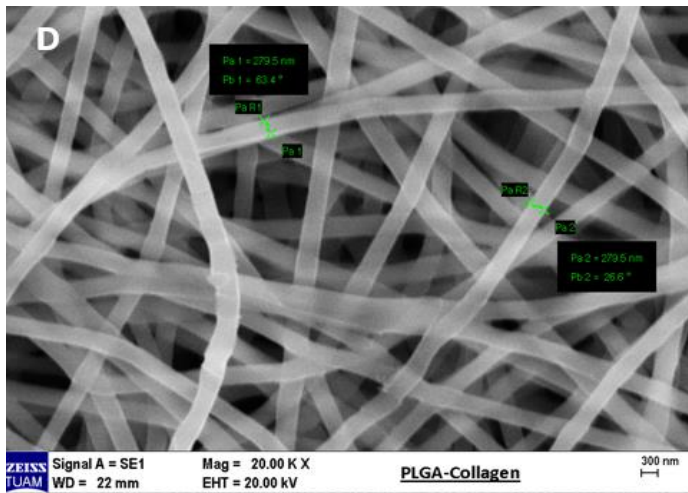
Şekil 23. 5 cm boyunda 1 cm eninde üretilmiş olan PLGA nanofiber makro görüntüsü



Şekil 24. Taramalı elektron mikroskopunda 2000’lik büyütme altında nanofiberin görüntüsü



Şekil 25. Taramalı elektron mikroskopunda 10000’lik büyütme altında nanofiberin görüntüsü



Şekil 26. Taramalı elektron mikroskopunda 20.000’lik büyütme altında nanofiberin görüntüsü

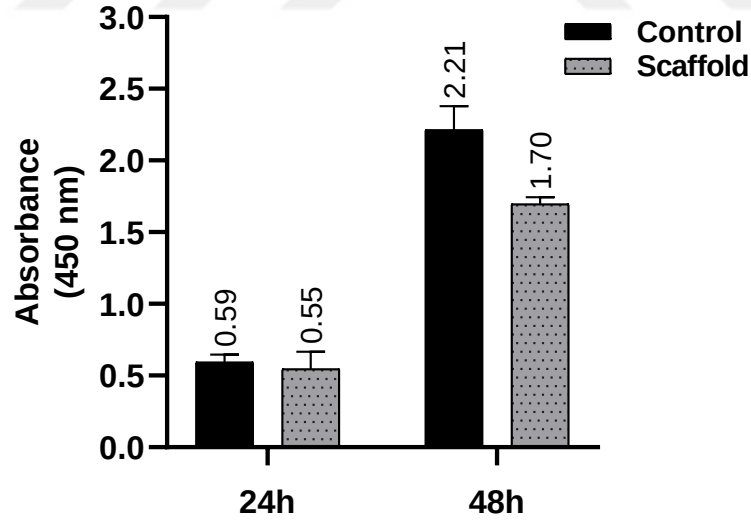
Üretimi sağlanan PLGA polimerlerinin in vitro ortamda hücresel deneyleri sağlandı.

2.7.4. Hücre Kültürü

2.7.4.1. Proliferasyon Testi

Çalışmada insan fibroblast hücre hattı (HDF) kullanılmıştır. Hücreler, % 10 FBS, 100 U/mL penisilin-streptomisin takviyeli besiyeri ortamında 37°C'de %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. Kontrol grubu ve scaffold 3 mg(miligram) grubu için aynı miktarda hücre (2×10^4 cells/well) 24 kuyucuklu plakalara ekilmiştir. Hücre kültürü şartlarında 24, 48 saat inkübasyonu sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası hücrelerin besiyeri 10% CCK-8 reaktifi içeren 200 µl besiyeri eklenmiştir ve 4 saat inkübasyonu sağlanmıştır. İşlem sonrası plaka okuyucu (Thermoscientific, Multiscan FC) kullanılarak her bir oyuk için 450 nm'de absorbanslar ölçülmüştür. Deneysel işlemler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

Tablo 2. İskele üzerindeki Fibroblast hücreleri için proliferasyon testi. Grafik, üçlü bağımsız deneylerin ortalama Standart Değerini ifade eder.



2.7.4.2. Sonuçlar

Kolajen bazlı polimerik scaffoldun fibroblast hücreleri üzerine antiproliferatif etkisi incelenmiştir. Polimerik scaffold grubunda 24 ve 48 saat sonunda kontrol gruplarına benzer oranda hücre proliferasyonu gerçekleşmiştir (Tablo 2).

2.7.5. Doku mühendisliği ve PLGA

PLGA' nın doku mühendisliğindeki temel amacı, ortopedik kusurları düzeltmek, kemik neoplazisi ve psödo artrozu tedavi etmek ve cerrahi sonrası iyileşmeyi hızlandırmak amaçlı PLGA scaffoldların geliştirilmesidir. PLGA implantlarının vücutta olan bozuna bilirliliği ayarlanabildiği için tekrar bir cerrahi girişimle çıkarılmasına gerek kalmayacağı düşünülüyor (33). Başka çalışmalarda kullanım alanlarına da bakacak olursak deri iyileşmesi, ab(antibiyotik) ile ilaç taşınması, sinir iyileşmesi ve kanser tedavilerinde deneyleri devam etmektedir (34–42).

Biz de çalışmamızda tavşan tendon kesilerinde tip 1 kolajenli PLGA' nın tendon iyileşme sürecine olan etkilerini histolojik ve biyomekanik olarak incelemeyi hedefledik.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27/07/2023 tarihli ve 49533702/64 nolu toplantı kararı onaylanmış ve Afyon Kocatepe Üniversitesi – Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada 24 adet erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Her tavşan ayrı ayrı kendi kafesinde kalacak şekilde toplamda 24 adet kafese yerleşimleri sağlandı (Şekil:27). 24 derece sıcaklıkta 12 saat karanlık/aydınlık döngüsü ve düzenli havalandırılması bulunan ortamda bulunduruldu. Yara bakımları, pansuman ve ağrı kontrolleri düzenli olarak yapıldı.

3.1. ÇALIŞMA PLANI

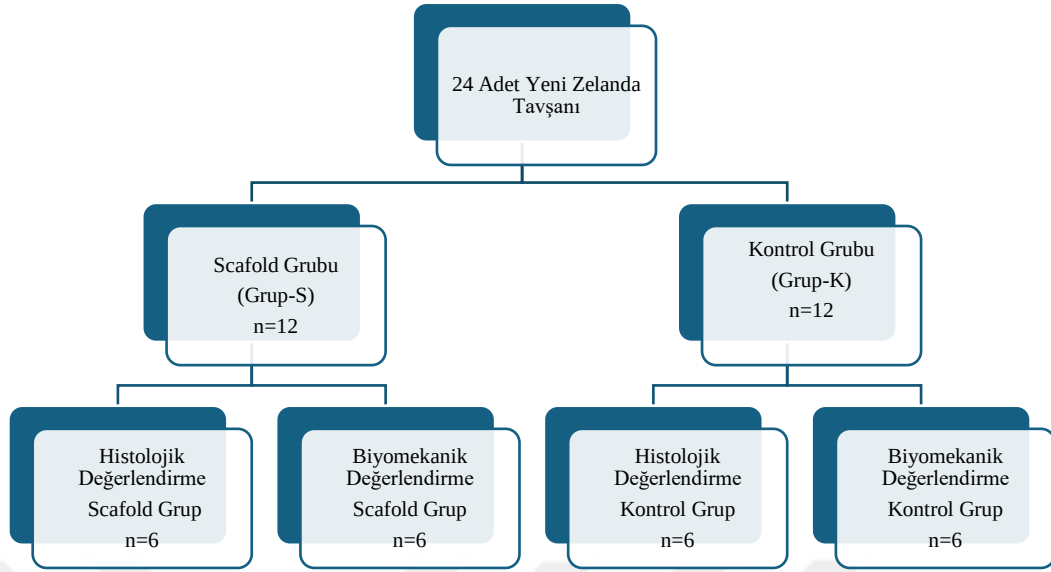
Çalışma prospektif, randomize kontrollü in vivo hayvan deneyi olarak planlandı. 6 aylık erkek Yeni Zelanda türünde ortalama 2500-3000 gr (gram) ağırlığında olarak 24 adet tavşan üzerinde çalışıldı.

Deneye dahil edilme kriterleri hepsinin yaklaşık aynı yaşta olması (6 ay), sağlıklı olup ek hastalıklarının olmaması, aynı cins (Yeni Zelanda) ve cinsiyete (erkek) sahip olmaları, daha önce herhangi bir deneye tabi tutulmamış olarak belirlendi.

Çalışma süresince tavşanlara limitsiz musluk suyu (ad libitum) ve standart kemirgen yemi verildi. Hayvanların bulunduğu oda 24 santigrat derece (°C) sıcaklıkta olup, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Deney başlamadan önce tavşanlar ait olduğu gruplarda 10 gün süresince laboratuvar ortamına adaptasyonları sağlandı. Daha sonra tavşanlar Grup-S (Scaffold) ve Grup-K (kontrol) olarak 2 ana gruba ayrıldı. Daha sonra ana gruplar deney sonunda randomize olarak biyomekanik ve histolojik incelemelere gidecek olması nedeniyle 4 gruba eşit olarak dağılım sağlandı (n=6) (Tablo: 3).

Deney 1.günde gerçekleştirildikten sonra tüm tavşanlara kendi kafesinde günlük olarak bakımları sağlandı. Çalışmada 6.haftaya gelindiğinde tavşanlar sakrifiye edilip sağ aşil tendonları biyomekanik test ve histolojik veriler için alındı.

Tablo 3. Grupların dağılımının şematik gösterimi



Şekil 27. Tavşanların kafes içi görünümü

3.2. CERRAHİ TEKNİK

Tavşanlara yapılan tüm cerrahi işlemler AKÜ-DEHUAM’ da gerçekleştirildi.

Çalışmanın 1.gününde tüm tavşanların sağ aşıl tendonlarına yönelik cerrahi işlemler gerçekleştirildi.

Çalışmaya katılan tavşanlara Ketamin/ Ksilazin anestezisi i.m (intramüsküler) olarak uygulandı. Ardından hayvanların sağ alt ekstremiteleri uygun şekilde tıraş

edilip povidon iyodür ile temizlenip cerrahi olarak steril masada işleme hazır hale getirildi. Sağ aşıl tendonu palpe edilerek longitudinal olarak 3 cm'lik cilt insizyonu açıldı. Cilt altı ve yumuşak dokular geçilip aşıl tendonuna ulaşıldı (Şekil: 29). Yapışma yerinin 1 cm proksimalinden no:15 bistüri ile transvers olarak kesme işlemi yapıldı (Şekil:30). İnternal atelleme olması amacıyla plantaris kası bulunup korundu. Ardından kontrol grubunda bulunan 12 tavşana no:4/0 polidiaksanon suture ile Kessler yöntemi ile aşıl tendon onarımı yapıldı (Şekil:31). Cilt no:3/0 propilen ile kapatıldı. Yara yeri povidon iyodür ile temizlenip yara yerinin üzerine 3M drape ile kapatıldı. (Cerrahi yara yeri enfeksiyonu düşürmek amacıyla yapıldı)



Şekil 28. Preoperatif anestezisi uygulanmış tavşanın görüntüsü



Şekil 29. Aşıl tendonunun cerrahi anındaki görünümü

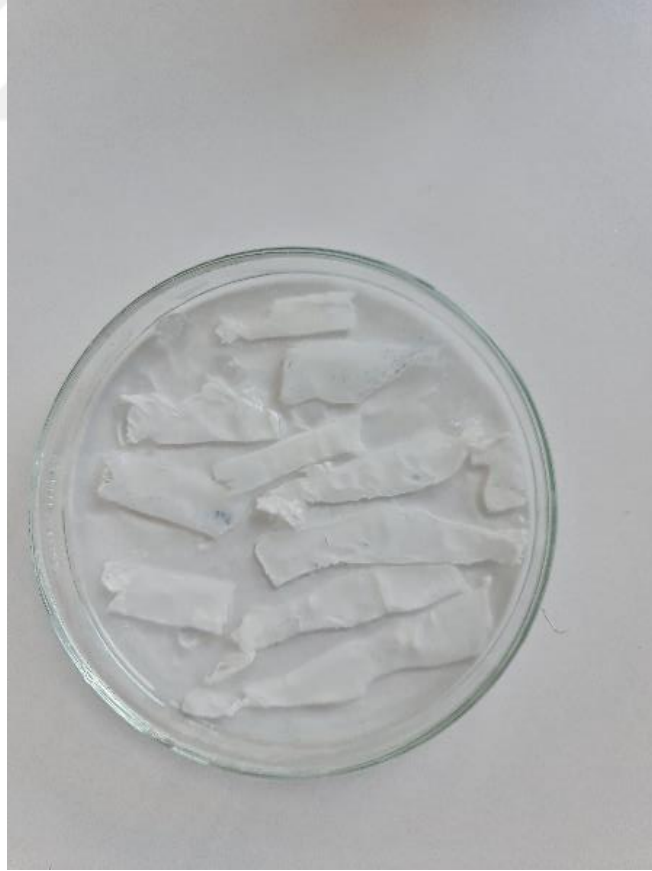


Şekil 30. Aşıl tenotomi uygulanmış ve suture edilen tendonun görüntüsü

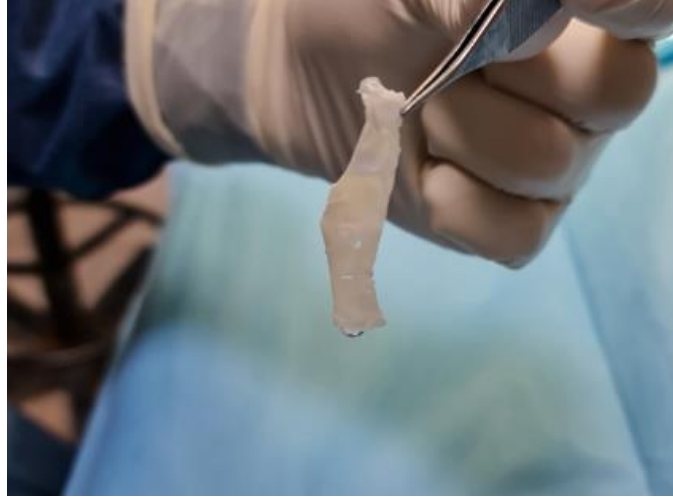


Şekil 31. Kontrol grubunda onarım yapılmış aşıl tendonun görüntüsü

Scaffold grubundaki 12 tavşana yapılan cerrahi işlemler şu şekilde gerçekleştirildi. Ketamin/Ksilazin anestezisi i.m (intramuskuler) olarak uygulandı. Ardından hayvanların sağ alt ekstremiteleri uygun şekilde tıraş edilip povidon iyodür ile temizlenip cerrahi olarak steril masada işleme hazır hale getirildi. Sağ aşil tendonu palpe edilerek longitudinal olarak 3 cm'lik cilt insizyonu açıldı. Cilt altı ve yumuşak dokular geçilip aşil tendonuna ulaşıldı. Yapışma yerinin 1 cm proksimalinden no:15 bistüri ile transvers olarak kesme işlemi yapıldı. İnternal atelleme olması amacıyla plantaris kası bulunup korundu. Ardından no:4/0 polidiaksanon suture ile Kessler suture uygulandı. Ardından biyomalzeme mühendisliği yardımıyla laboratuvar koşullarında üretilen Tip 1 Kolajen emdirilmiş PLGA (poli-laktik glikolik asit) den üretilmiş nano teknoloji membranlar tendon rüptürünün olduğu kısma sirküler olarak sarılıp 1 adet no:4/0 polidiaksanon suture ile gevşek suturezasyon ile sabitlendi (Şekil:34). Cilt no:3/0 propilen ile kapatıldı. Yara yeri povidon iyodür ile temizlenip yara yerinin üzerine 3M drape ile kapatıldı (Şekil:35). (Cerrahi yara yeri enfeksiyonu düşürmek amacıyla yapıldı)



Şekil 32. Steril edilmiş Tip 1 kolajenli PLGA'ların uygulamadan önceki görüntüsü



Şekil 33. Tek olarak Tip 1 kolajenli PLGA'nın uygulamadan önceki görüntüsü



Şekil 34. Scaffold grubunda Aşil tendonuna uygulanmış Tip 1 kolajenli PLGA'nın görüntüsü

Cerrahi işlemi tamamlanan bütün tavşanlara ağrı kesici olarak carprofen 4 mg/kg dozunda i.m olarak uygulandı. Cerrahiden sonra 3 gün düzenli olarak uygulamaya devam edildi. Cerrahi sonrası tavşanlar kendi kafeslerinde olacak şekilde muhafaza edilip günlük olarak vizitleri sağlandı (Şekil:36).



Şekil 35. Cerrahisi tamamlanmış tavşanda yara yeri kapatılıp pansuman yapılmış görüntü

Deneyde 6.haftaya gelindiğinde çalışma sonlandırıldı. Tavşanlar yüksek doz anestezi altında servikal dislokasyon uygulanarak sakrifiye edildi. Ardından sağ aşil tendonları distal yapışma yerlerinden diseke edilip proksimalde de kas tendon bileşkesinden alındı. Patoloji için alınmış tendonlar içerisinde %10 luk formol bulunan kaplara alınarak muhafaza edildi. Aynı gün içerisinde Afyon Kocatepe Üniversitesi Bayat Meslek Yüksekokulu Patoloji Birimine teslim edildi. Biyomekanik inceleme için ameliyat edilmiş sağ aşil tendonları ıslak gazlı beze sarılarak içerisinde serum fizyolojik olan kaplarda muhafaza edilip Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı bünyesinde bulunan biyomekanik test cihazında işlemler gerçekleştirildi.



Şekil 36. Operasyon sonrası kafesinde takibi devam eden tavşan

3.3. HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

Numuneler laboratuvara ulaştırıldıktan sonra hematoksilien- eozin ve Masson-Trichrome boyaması yapılması için gerekli hazırlık aşamalarına başlandı.

3.3.1. Hematoksilien-Eozin Prosedürü

Tavşanların cerrahi yöntemlerle alınan aşı tendonları %10 formol ile saklanıp laboratuvara getirildi. Alınan numuneler histopatolojik doku takibine hazır hale getirildi. Bu amaçla dokular, 0,5-1 cm² kadar büyüklüklerde tendonların farklı bölgelerinden küçük doku örnekleri alındı doku takip kasetlerine aktarıldı. Hazırlanan bu örnekler fiksasyon için %10'luk nötral tamponlu formalin içine konulmuştur. Günlük olarak değiştirilip yenilenen fiksatif içinde 5 gün süreyle bekletilmiş olan doku örnekleri akarsuda 1 gece bekletilmek suretiyle formaldehitten arındırma işlemi gerçekleştirildi. Bu basamaktan sonra farklı derişimlerdeki alkol solüsyonlarından geçirilerek dokularda bulunan suyun alınması sağlanmıştır ve bu aşamadan sonra şeffaflaştırma amacıyla ksilen solüsyonlarına aktarılmıştır. Ksilen solüsyonlarında bekletilen doku örnekleri önce yumuşak parafinde her saat değişmeli olarak 2 saat ve son olarak da 1 saat sert parafinde bekletilmiştir. Daha sonra aynı şekilde parafinde

bloklanmıştır. Parafine gömülmüş olan dokulardan 5 µm (mikrometre) kalınlığında kesitler alınarak normal lamlara aktarılmıştır. Alınan kesitler daha sonra boyanmak üzere gruplandırılmıştır. Histolojik doku takip metodu aşağıda özetlenmiştir. Histolojik doku takibi: Dokunun incelemeye hazır hale getirilmesi için küçük doku parçalarına ayrılması (trimming) Fiksasyon % 10 nötral formalinde 5 gün fiksasyon (her gün fiksatif tazelenecek) Doku takibi öncesi dokuların akarsuda yıkanıp fazla formaldehitin temizlenmesi - 30 dakika Dehidratasyon % 70, 80, 96'lık alkolde 1 saat Absolü alkol 1 saat, Absolü alkol 1 saat şeffaflandırma Ksilende 30 dakika, ksilende 1 saat Parafinde bekletme ve gömme yumuşak parafin 1 saat, Sert parafin 1 saat, Parafine gömme Parafine gömülen örneklerden mikrotom aracılığıyla 4-6 mikron kalınlığındaki kesitler klasik doku değerlendirmeleri için normal lamlara alındı. Alınan kesitler daha sonra boyanmak üzere gruplandırıldı. Bu amaçla doku üzerinde mevcut olan/değişen genel histolojik özellikleri görüp değerlendirmek için Hematoksilen&Eozin (H&E) ile boyama yapıldı. Bu boyamada izlenecek metot aşağıda sıralanmıştır (Luna 1969).

Lam üstüne alınan doku örneklerinin deparafinizasyonu, 65 °C'lik etüvde 2 saat bekleterek parafinin erimesini sağlandı ve ksilende 3 kez toplamda 20 dakika bekletildi. Örneklerin hidrasyonunu sağlamak amacıyla birinci absolü alkolde 5 dakika, ikinci absolü alkolde, %96'lık alkolde, %80'lik alkol ve %70'lik alkolde 3 dakika bekletilmeyi takiben distile suda 5 dakika yıkandı. Sonra Harris Hematoksilen de 10 dakika bekletilerek çekirdek boyaması gerçekleştirildi. Boyanın fazlasını dokudan uzaklaştırmak amacıyla akan çeşme suyu altında bolca yıkama yapılarak eozin solüsyonuna aktarıldı. 5 dk eozin ile boyanan kesitler boyamadan sonra %80, %96 ve iki adet absolü alkolden geçirildikten sonra şeffaflaştırma amacıyla 5'er dakika 3 adet ksilen solüsyonunda tutuldu ve entellan kapatıldı.

3.3.2. Masson Trichrome Boya Prosedürü

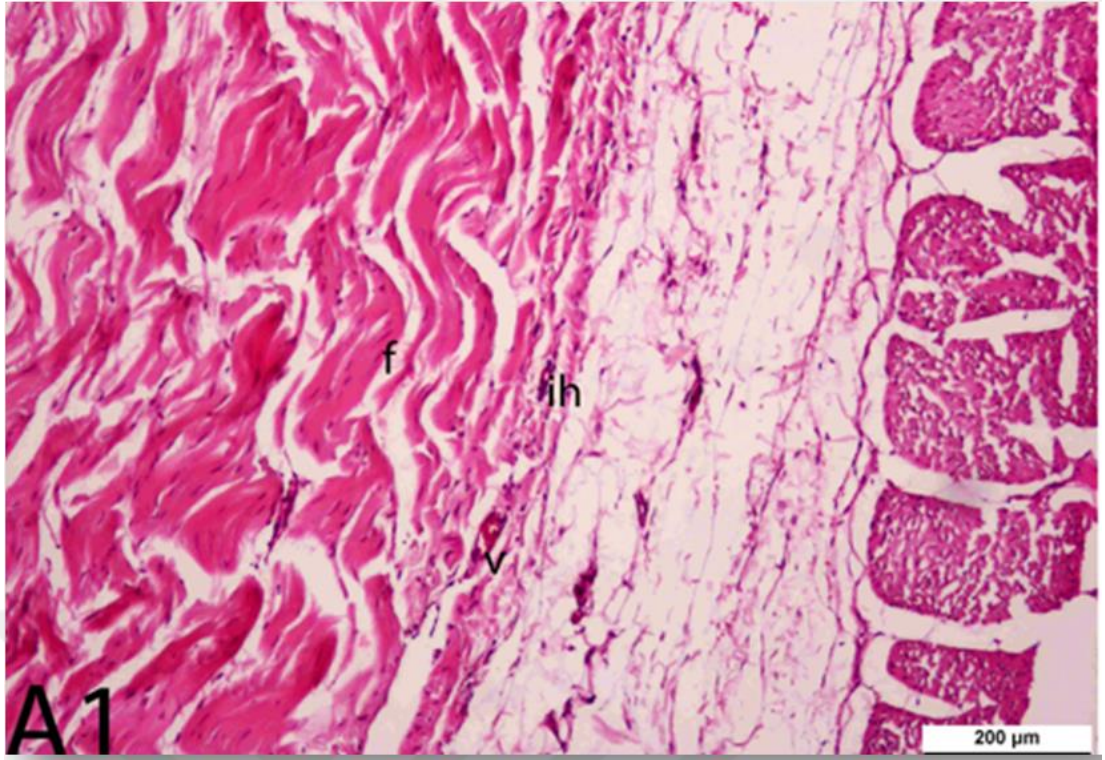
Alınan parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldı. Ardından ilki 1 saat (etüvde) diğer ikisi 30'ar dakikalık üç farklı ksilende tutuldu. Daha sonra rehidratasyon işlemi için 2 değişim absolü alkol ve %96'dan %70'e azalan alkol serilerinden geçirdi. Akarsuda 5 dakika bekletildikten sonra Masson Trichrome boyama seti (2049 GBL, İstanbul, Türkiye) içerisinde dokular üzerine 8 damla Weigert hematoksilen boyası ile 8 damla ferrik klorür çözeltisi

damlatıldı ve 20 dakika bekletildi. Ardından 1 dakika distile su ile yıkandıktan sonra 8 damla asit-alkol çözeltisi ile 1 dakika bekletilen kesitler, distile suyla iyice yıkandı. Ardından 8 damla Ponceau asit fuksin azofloksin çözeltisi dokunun üzerini tamamen kaplayacak şekilde uygulandı, 5 dakika sonra uzaklaştırıldı. Daha sonra 1 ml stok asit çözeltisi ve 29 ml distile su ile hazırlanan asitli su ile kısaca yıkandı. 8 damla fosfomolibdik asit turuncu G boyası ile 20 dakika muamele edildikten sonra asitli su ile yıkandı ve 8 damla açık yeşil boya ile 5 dakika boyandı. Boyamanın ardından akarsu altında yıkanan kesitler artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilen ile şeffaflaştırma yapıldıktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

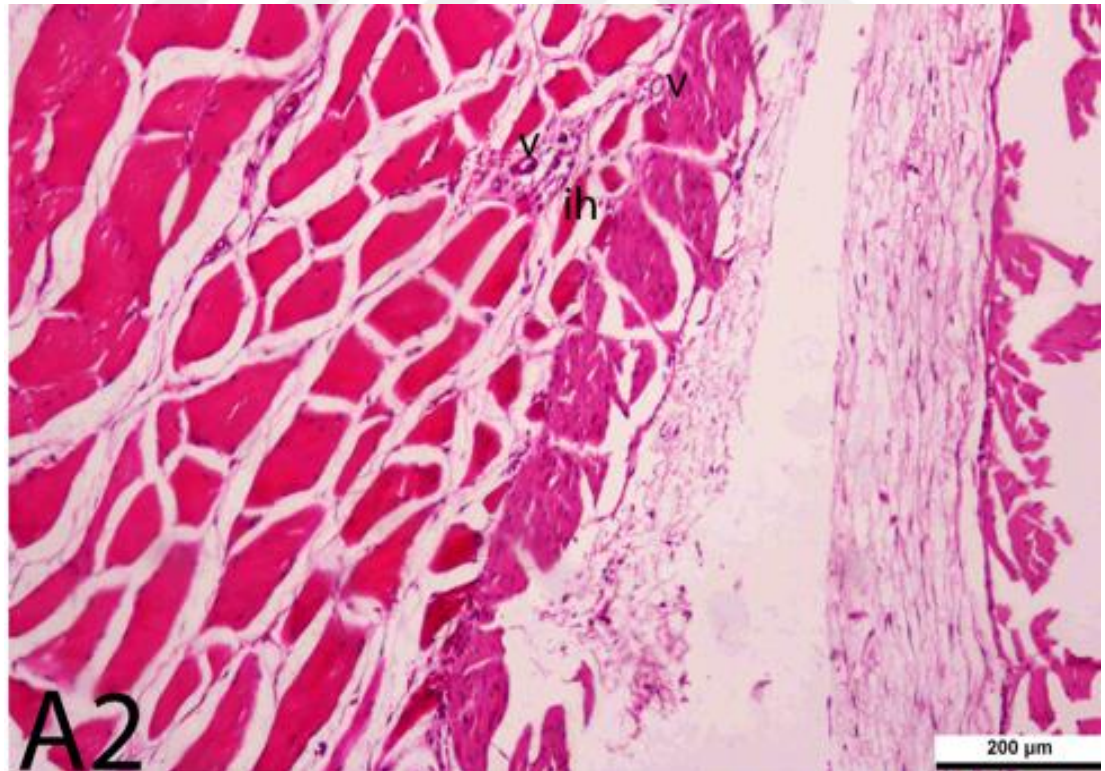
Boyama işlemlerinin ardından sonuçlar bir veteriner patolog tarafından kör olarak incelendi. Yapılan inceleme de tendonlar Bonar ve Movin skorları baz alınarak değerlendirildi. Bu skorlamalar da her bir tendona 0 puandan 3 puana kadar puanlar verildi. 0 puan normal tendon, 1 puan normale yakın tendon, 2 puan anormal tendon ve 3 puan ise belirgin derecede anormal tendon olarak puanlandı (43). Bonar skorlamasında dört adet parametre kullanıldı. Bu parametreler, tenositler, zemin görünüm, kolajen ve vaskülariteden oluşuyor (Tablo:4). Her bir parametre kendi içinde 0-3 aralığında puanlandı ve toplam skor 0-12 aralığında oluştu. 0 puan normal tendonu ifade ederken, 12 puan en anormal tendon dokusu anlamı taşıyordu. Modifiye Movin skorlamasında ise 7 adet parametre kullanıldı. Bunlar, lif yapısı, lif düzeni, nükleus yuvarlaklığı, hücrelerin bölgesel değişikliği, artmış vaskülarite, kolajen boyanabilirliğinin azalması ve hyalinizasyon olarak değerlendirildi (Tablo:5). Bonar skorunda olduğu gibi her bir parametreye 0-3 aralığında puan verildi. Toplam skorda 0 puan normal tendonu ifade ederken 21 puan en anormal tendon olduğu anlamına geldi (43).

Tablo 4. Bonar Skorlaması

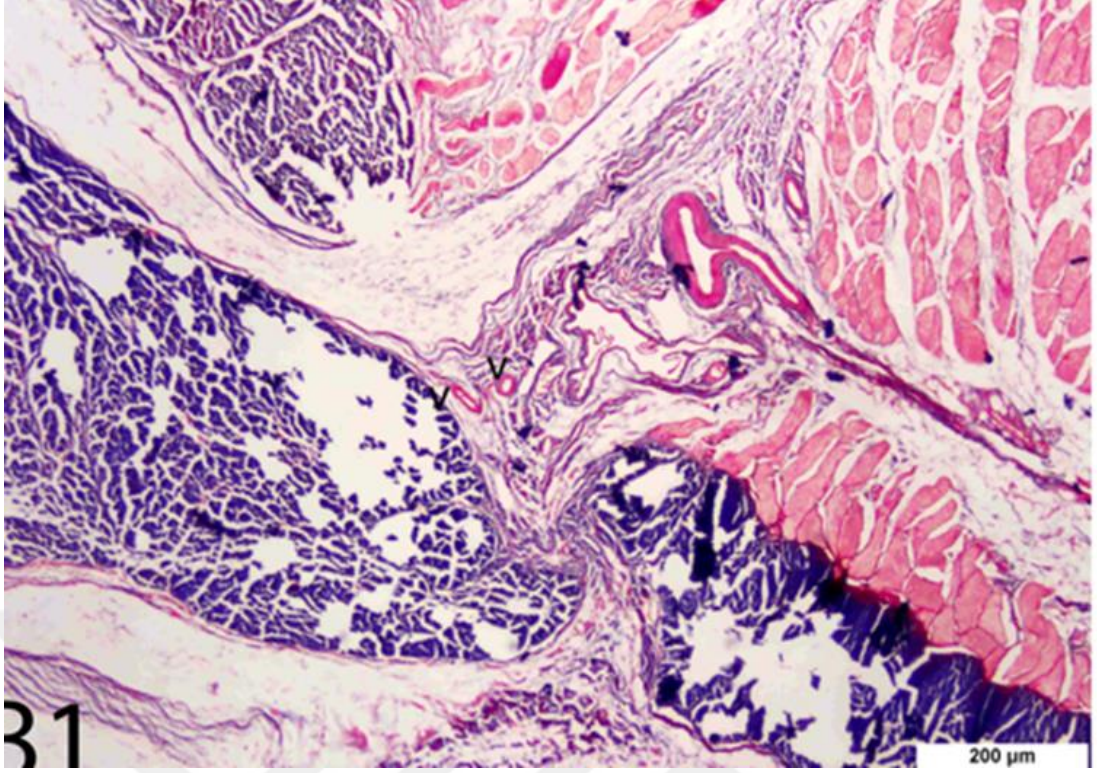
Parametreler	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Tenositler	Işık mikroskopunda belirgin sitoplazması olmayan, iğ biçimli çekirdekler	Belirgin bir sitoplazma olmadan oval ya da yuvarlak bir hal almış çekirdek	Hafif büyüyen ve yuvarlaklaşan çekirdekle birlikte az miktarda sitoplazma görülebilir.	Büyük yuvarlak çekirdek ile birlikte bol miktarda sitoplazma görülür.
Zemin görünüm	Boyanabilir zemin maddesi yok	Boyanabilir mukus var ancak lifler hala ayrı görünümde	Mukus boyanmasının yanında lifler arası sınırlamalar kaybolmuştur	Her yerde bolca musin ve liflerin net görülmediği boyanabilirlik artışı
Kolajen	Düzgün yoğun ve parlak homojen kolajen dizilimi	Azalmış kolajen lif polarizasyonu	Normal polarizasyon desenin kaybolması	Kolajen liflerinin tamamen ayrılması ile yapının tamamen kaybolması
Vaskülarite	Belirgin olmayan kan damarları	Birden az olmak üzere ara sıra kılcıl damarlar	1-2 kılcıl damar kümesi	İncelenen alanda 2 den daha fazla kılcıl damar kümesi



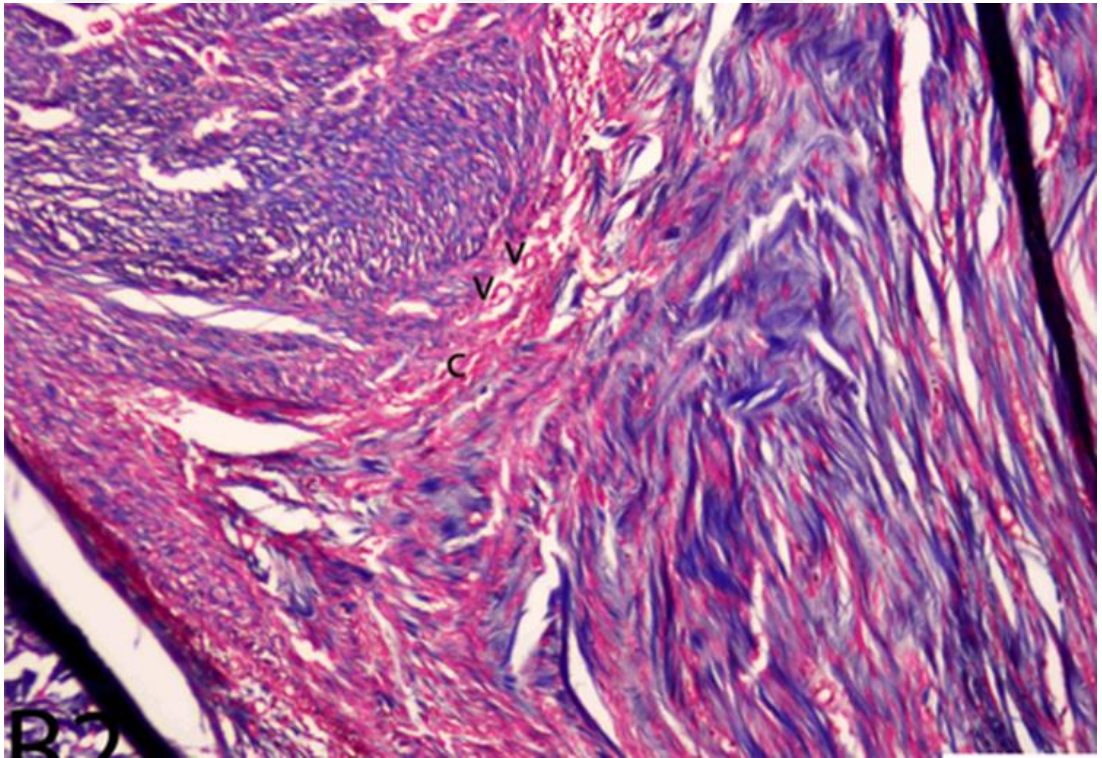
Şekil 37. Kontrol grubu tendon kesit görüntüsü



Şekil 38. Scaffold grubu tendon kesit görüntüsü



Şekil 39. Scaffold grubunda dizilimin normale yakın olduğu ve zemin görünümünün daha normal tendona yakın olduğu görülüyor.



Şekil 40. Kontrol grubu aşı tendonu artmış vaskülarite ve zemin görünümünde sitoplazmaların olması görülüyor.

Tablo 5. Modifiye Movin Skorlaması

Parametreler	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Lif yapısı	Devamlı	Biraz parçalı	Genellikle parçalı	Ciddi olarak parçalanmış
Lif düzeni	Paralel ve devamlı	Hafif dalgalı ve lifler kaybolmuş	Çapraz köprüler kaybolmuş ve dalgalar mevcut	Tanımlanabilir lif düzeni yok
Nükleus yuvarlaklığı	Uzun ve iğli	Hafif yuvarlaklaşmış	Orta derecede yuvarlak	Ciddi yuvarlak mevcut
Hücrelerin bölgesel değişikliği	normal	Hafif artmış	Orta derecede artmış	Ciddi artmış
Artmış vaskülarite	<%10	%10-20	%20-30	>%30
Kolajen boyanabilirliğinin azalması	<%10	%10-20	%20-30	>%30
Hyalinizasyon	<%10	%10-20	%20-30	>%30

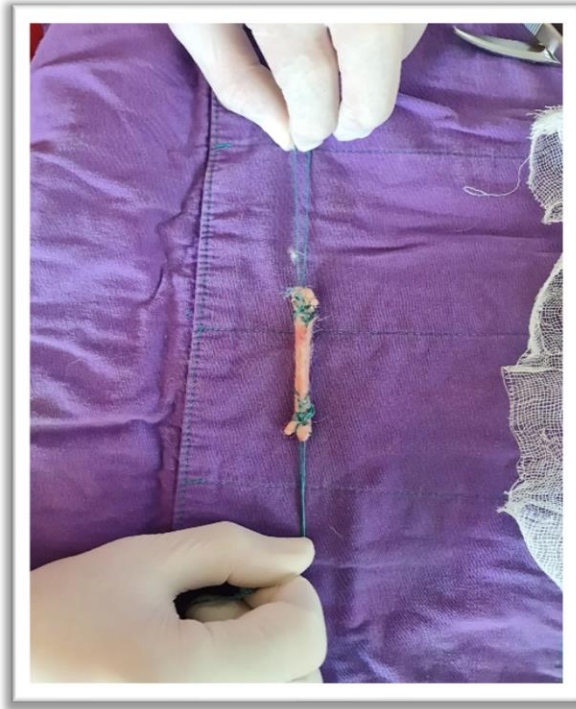
3.4. BİYOMEKANİK İNCELEME

Aşıl tendonları sakrifiye edildikten sonra ıslak gazlı bezle sarılı olarak muhafaza edilip aynı gün içinde Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ortopedi ve Travmatoloji Ana Bilim Dalı bünyesinde bulunan biyomekanik test cihazında değerlendirmeye alındı (Geratech SH-5000 modelinde çalışmalar gerçekleştirildi.) (Şekil:41).

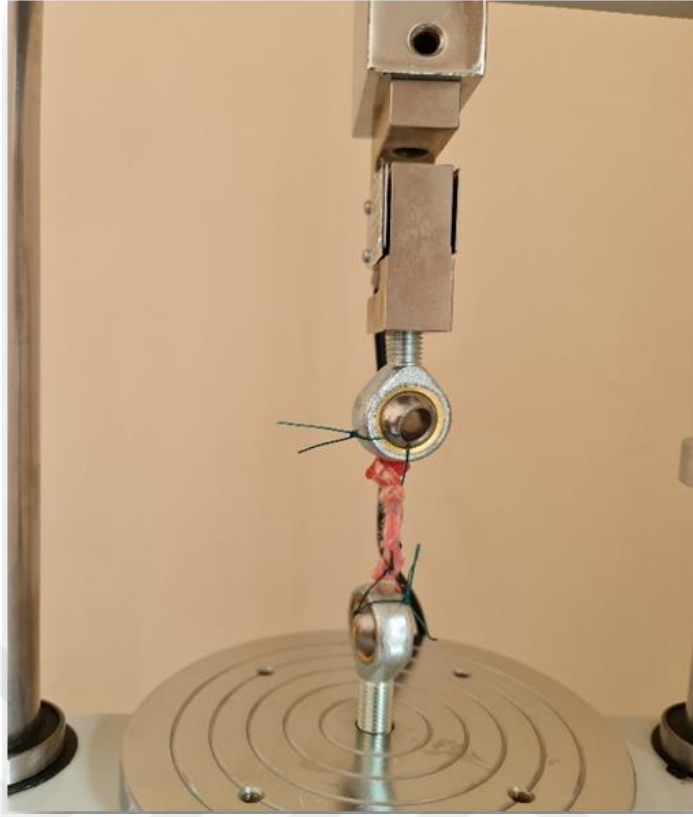
Tendonların proksimal kısmında bulunan kas dokuları dikkatli bir şekilde temizlendi. Ardından test cihazında optimal değerlendirme olması için tendonun proksimal ve distal uçlarına no:2 örgülü (ethibond) suture ile kilitli suture uygulandı (Şekil:42). Sonrasında cihazın aparatlarına uygun şekilde tendonun sabitlemesi yapıldı. Yapılan işlemler sayesinde tendonun biyomekanik test cihazında kayması engellenmiş oldu (Şekil:43,44).



Şekil 41. Geratech SH-5000 biyomekanik test cihazında testler gerçekleştirildi



Şekil 42. Biyomekanik değerlendirmeye alınmadan önce tendonun örgülü suturelerle hazırlanması



Şekil 43. Test cihazına alınmış ve teste hazır hale gelmiş tendonun görüntüsü



Şekil 44. Test anında olan ve çekme testinde kopmak üzere olan tendonun görünümü

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışma verilerinin istatistiksel analizi bilgisayar ortamında IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 20.0 programı ile yapıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi, histogram Skewness-Kurtosis katsayıları kullanılarak incelendi. İkili grupların karşılaştırılmasında; normal dağılım gösteren parametreler için Student's T testi, anormal dağılım gösteren parametreler için Mann-Whitney U testi uygulandı. Tendon kopma kuvveti, tendon kopma süresi, Movin ve Bonar skorları arasındaki ilişkiler yerine göre Spearman korelasyon testi ve Pearson korelasyon testi kullanılarak incelendi. Tek değişkenli bir lineer regresyon modeli kullanılarak tendon kopma kuvvetinin, tendon kopma süresi üzerindeki bağımsız etkileri incelendi. Model uyumu gerekli rezidüel ve uyum istatistikleri kullanılarak incelendi. $p < 0,05$ olduğunda sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. BİYOMEKANİK BULGULAR

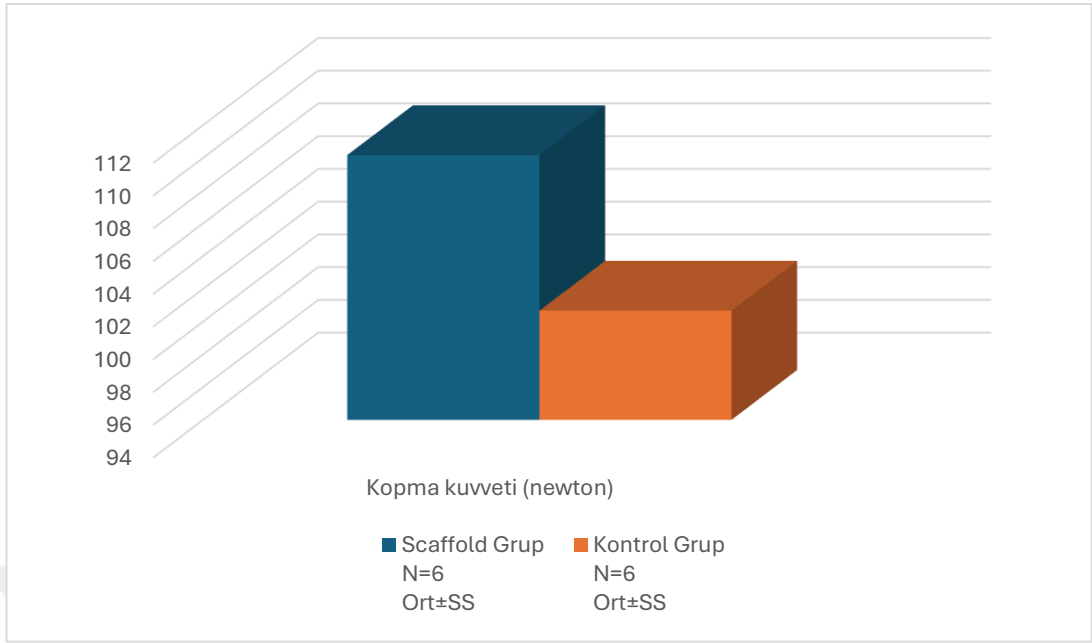
Çalışmanın 6.haftası (42.gün) sonunda alınan tendon numuneleri biyomekanik test cihazında tendon maksimum dayanma kuvvetleri ve kopma süreleri baz alınarak değerlendirilip istatistik verileri incelendi.

Tablo 6. Grupların biyomekanik verilerinin karşılaştırılması

	Scaffold Grup N=6 Ort±SS	Kontrol Grup N=6 Ort±SS	p
Kopma kuvveti (Newton)	110.17±15.35	100.67±13.93	0.288
Kopma süresi (sn)	6.17±1.16	4.83±0.75	0.041

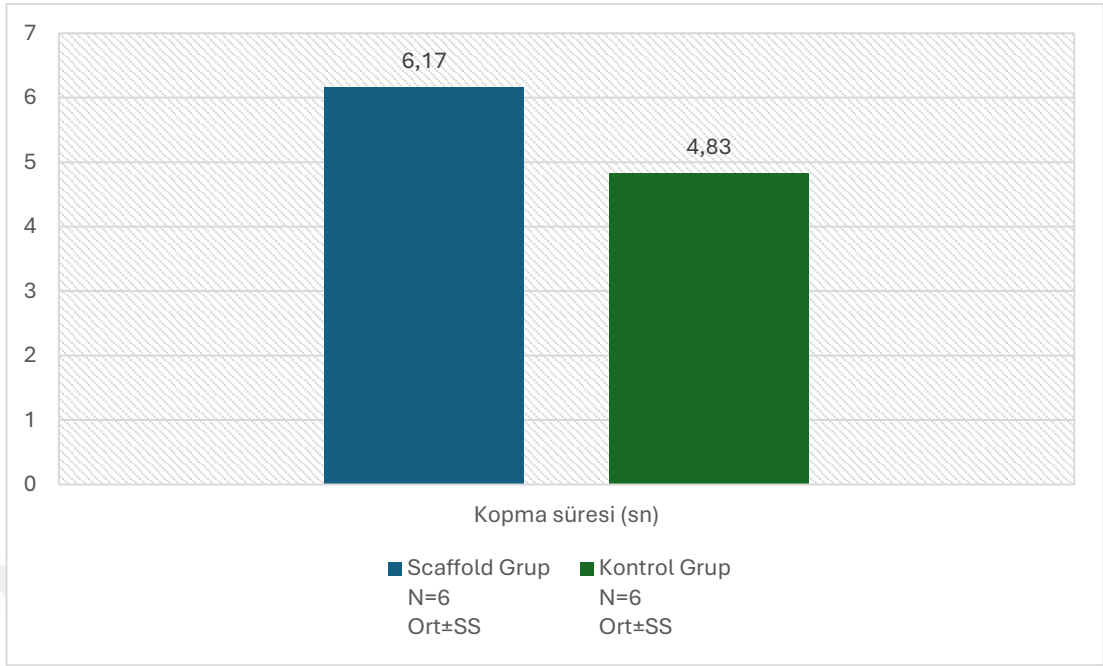
Scaffold ve kontrol grubu arasında biyomekanik veriler karşılaştırıldığında; kopma kuvvetinin scaffold grubunda 110.17±15.35 Newton, kontrol grubunda 100.67±13.93 Newton olduğu saptanmıştır. Scaffold grubunda kopma kuvveti yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark izlenmedi (p=0.288). Kopma süresi, scaffold grubunda 6.17±1.16 sn(saniye) olup istatistiksel anlamlı olarak kontrol grubuna göre daha yüksekti (p=0.041) (Tablo 6).

Tablo 7. Kopma Kuvveti Sütun Grafiği



Scaffold ve kontrol grubu arasında biyomekanik veriler karşılaştırıldığında; kopma kuvvetinin scaffold grubunda 110.17 ± 15.35 Newton, kontrol grubunda 100.67 ± 13.93 Newton olduğu saptanmıştır (Tablo 7).

Tablo 8. Kopma Süresi Sütun Grafiği



Scaffold ve kontrol grubu arasında biyomekanik veriler karşılaştırıldığında; kopma süresinin scaffold grubunda 6.17 ± 1.16 sn, kontrol grubunda 4.83 ± 0.75 olduğu görülmüştür (Tablo 8).

Tablo 9. Kopma kuvveti ile kopma süresinin lineer regresyon analizi

Değişkenler	B	Standart hata	β	t	p	95% Güven Aralığı
(Sabit)	-1.576	1.383	-	-1.140	0.281	-4.567 to 1.506
Tendon kopma kuvveti	0.067	0.013	0.853	5.163	<0.001	0.038 to 0.096
Bağımlı değişken: Tendon kopma süresi						
R:0.853 R²: 0.727 F: 26.653 p<0.001 Durbin-Watson: 1.792						

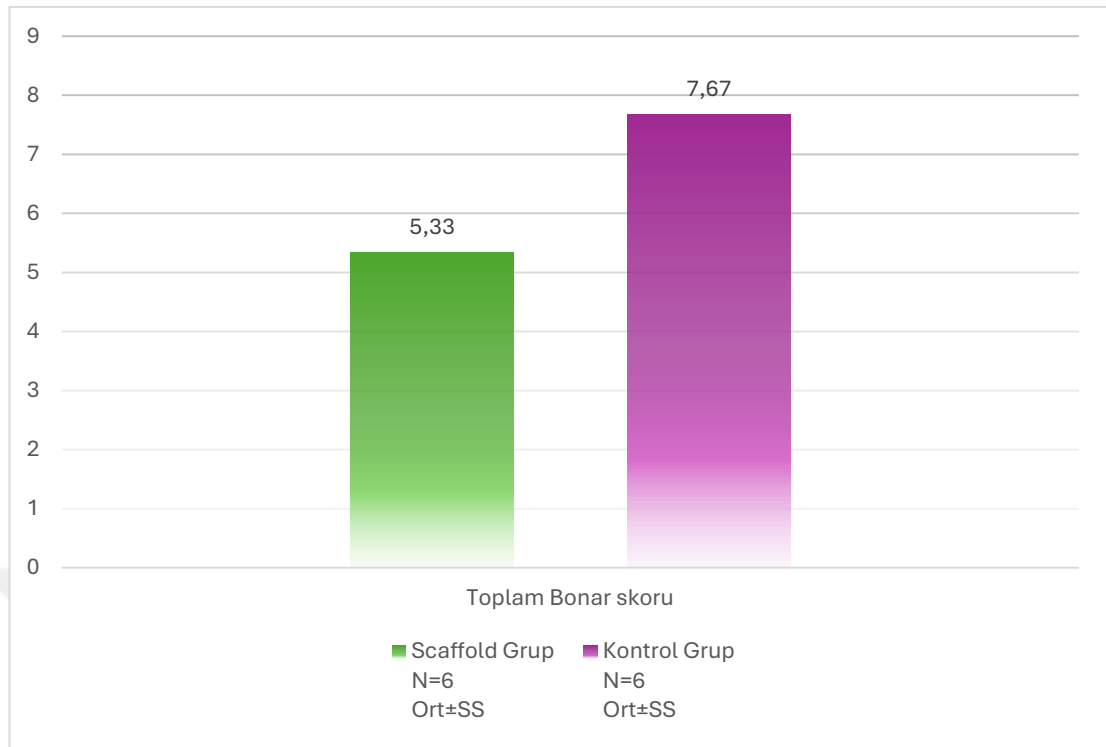
Tendon kopma kuvvetinin artmasının, tendon kopma süresinde anlamlı düzeyde ve pozitif yönlü etkisi olduğu hipotezine dayanarak iki veri lineer regresyon analizi (enter yöntemi) ile incelendi. Model istatistiksel olarak anlamlıydı (F=26.653, p<0.001) ve anlamlı oto-korelasyon sonuçları olmadan (Durbin-Watson=1.792) tendon kopma süresindeki varyansın %72'sini açıklayabildi. Doğrusal regresyon analizinde, tendon kopma kuvvetinin, tendon kopma süresinin anlamlı bir yordayıcısı olduğu saptandı. Standardize edilmiş regresyon katsayılarına göre; tendon kopma kuvvetindeki 1 Newton artış, tendon kopma süresinde 0.067 sn artışa neden olmaktadır (Tablo 9).

Tablo 10. Grupların histolojik Bonar skorlarının karşılaştırılması

	Scaffold Grup N=6 Ort±SS	Kontrol Grup N=6 Ort±SS	p
Vaskülarite	1.33±0.51	2.00±0.00	0.010
Kollajen	1.33±0.51	1.83±0.40	0.092
Tenosit	1.17±0.40	1.67±0.51	0.092
Zemin görünüm	1.50±0.54	2.33±0.51	0.022
Toplam Bonar skoru	5.33±0.51	7.67±0.51	<0.001

Gruplar arasında histolojik Bonar skoru ve alt grup skorları karşılaştırıldı. Vaskülarite ve zemin görünümü skorlarının kontrol grubunda anlamlı olarak scaffold grubuna göre yüksek olduğu izlendi (sırasıyla; $p=0.010$, $p=0.022$). Kollajen ve tenosit skorları sayısal olarak kontrol grubunda daha yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla; $p=0.092$, $p=0.092$). Toplam Bonar skoru gruplar arasında karşılaştırıldığında; scaffold grubunda 5.33 ± 0.51 , kontrol grubunda 7.67 ± 0.51 saptanmış olup, kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.001$) (Tablo 10).

Tablo 11. Toplam Bonar skoru



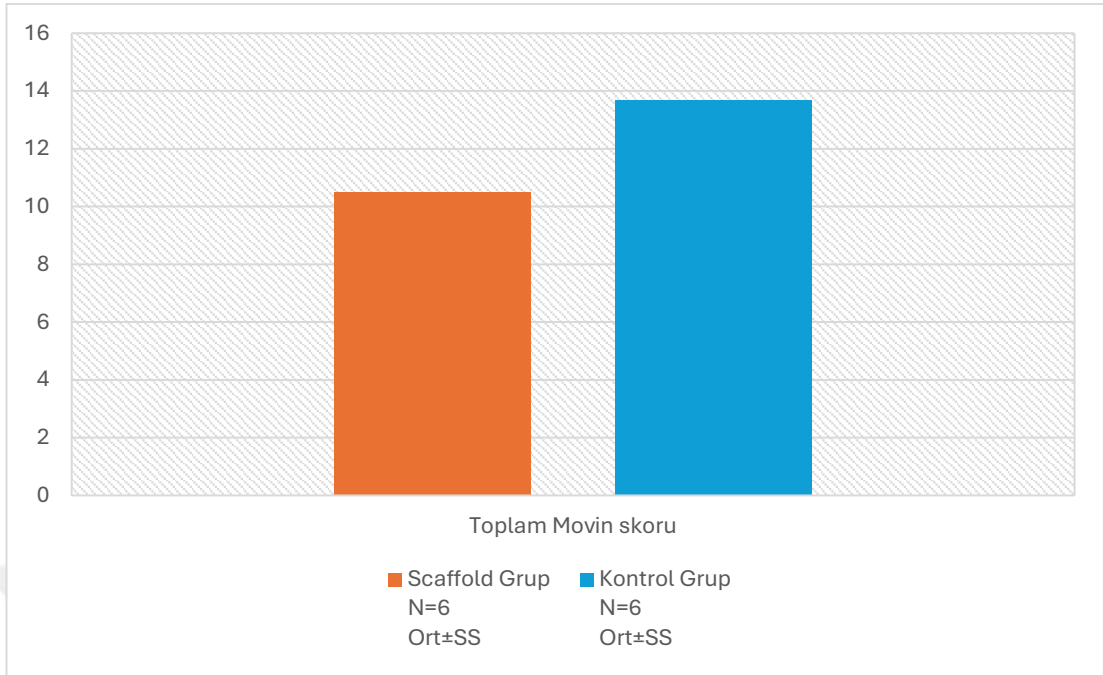
Toplam Bonar skoru gruplar arasında karşılaştırıldığında; scaffold grubunda 5.33 ± 0.51 , kontrol grubunda 7.67 ± 0.51 saptanmış olup, kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksekti (Tablo 11).

Tablo 12. Grupların histolojik Movin skorlarının karşılaştırılması

	Scaffold Grup N=6 Ort±SS	Kontrol Grup N=6 Ort±SS	p
Lif yapısı	1.17±0.40	2.17±0.40	0.002
Lif Düzeni	1.17±0.40	2.00±0.00	0.001
Nükleus yuvarlaklığı	1.67±0.51	1.83±0.40	0.549
Hücrelerin bölgesel değişikliği	1.67±0.51	1.83±0.40	0.549
Artmış vaskülarite	1.00±0.00	1.67±0.51	0.010
Kollajen boyanabilirliğinin azalması	1.50±0.54	2.00±0.63	0.174
Hyalinizasyon	2.00±0.00	2.00±0.00	1.000
Toplam Movin skoru	10.50±1.04	13.67±1.50	0.002

Gruplar arasında histolojik Movin skoru ve alt grup skorları karşılaştırıldı. Lif yapısı, lif düzeni, artmış vaskülarite skorları kontrol grubunda, scaffold grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek saptandı (sırasıyla; $p=0.002$, $p=0.001$, $p=0.010$). Nükleus yuvarlaklığı, hücrelerin bölgesel değişikliği, kollajen boyanabilirliğinin azalması miktarı ve hyalinazasyon skorlarında gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi (sırasıyla; $p=0.549$, $p=0.549$, $p=0.174$, $p=1.000$). Toplam movin skoru gruplar arasında karşılaştırıldığında; scaffold grubunda 10.50 ± 1.04 , kontrol grubunda 13.67 ± 1.50 saptanmış olup kontrol grubunda istatistiksel anlamlı olarak scaffold grubuna göre daha yüksekti ($p=0.002$) (Tablo 12).

Tablo 13. Toplam Movin Skoru



Toplam movin skoru gruplar arasında karşılaştırıldığında; scaffold grubunda 10.50 ± 1.04 , kontrol grubunda 13.67 ± 1.50 saptanmış olup kontrol grubunda istatistiksel anlamlı olarak scaffold grubuna göre daha yüksekti (Tablo: 13).

Tablo 14. Kopma kuvveti, kopma süresi, Movin ve Bonar skorlarının korelasyon analizi

		Kopma kuvveti (newton)	Kopma süresi (sn)	Movin skoru	Bonar skoru
Kopma kuvveti (newton)	r				
	p				
Kopma süresi (sn)	r	0.853			
	p	<0.001			
Movin skoru	r	-0.182	-0.471		
	p	0.571	0.122		
Bonar skoru	r	-0.231	-0.474	0.888	
	p	0.470	0.120	<0.001	

Kopma kuvveti, kopma süresi, toplam Movin ve Bonar skorları arasında yapılan korelasyon analizinde; kopma kuvveti ile kopma süresi arasında yüksek düzeyde pozitif bir korelasyon izlendi ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($r=0.853$, $p<0.001$). Movin skoru ile Bonar skoru arasında yapılan korelasyon analizinde; Movin skoru ile Bonar skoru arasında yüksek düzeyde pozitif bir korelasyon izlendi ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($r=0.888$, $p<0.001$). Diğer parametreler arasında anlamlı bir korelasyon izlenmedi (Tablo 14).

5. TARTIŞMA

Aşil tendon rüptürü günlük ortopedi pratiğinde sık görülen rahatsızlıklardan birisidir. Futbol, basketbol gibi sporlarda temasın ve aktivitenin yüksek olduğu branşlarda rüptür insidansı biraz daha fazladır (44). İnsan vücudunda bulunan en büyük ve en güçlü tendon olan aşil tendonu yürüme sırasında vücut ağırlığının 3 katı, koşarken ise 7 katına kadar kuvvet iletimini sağlar(5). Tendon rüptürünün cinsiyet üzerindeki dağılımında erkek cinsiyette daha fazla görülür. Erkek cinsiyette insidansı 55,2/100.000 iken, kadın cinsiyette bu oran 14,7/100.000 olarak belirlenmiştir (45). Rüptürlerin yaş dağılımı değerlendirildiğinde genellikle 3-4. Dekat aralığında görülmektedir. Bunun sebebi olarak da profesyonel bir spor yapmayıp genellikle hafta sonları eğlenmek amaçlı spor yapan orta yaş insanlar olduğu düşünülüyor (44). Farklı kültürlerle yönelik farklı spor branşlarının popüler olmasından kaynaklı olarak yapılan bir çalışmada, Amerika’ da basketbol, tenis ve futbol, Avrupa’ da futbol ve voleybol, Kanada ve Yeni Zelanda’ da netbol müsabakalarında rüptürlerin daha sık ortaya çıktığı görülmüş (44). Slovenya’ nın Maribor kentinde 25 yıllık bir dönemde 524 hastadan oluşan çalışmada % 53 oranında sol taraf, % 47 oranında ise sağ taraf aşil tendon rüptürü izlenmiştir. 149 hasta da futbol müsabakası nedeni rüptür izlenmiş olup ilk sırayı almıştır. Bu hastalardan 7 tanesi daha sonrası kontralateral aşil tendon yaralanması da geçirmiştir. Bilateral aşil tendon rüptür insidansının 0,1/100.000 olduğu belirlenmiş (46). Sol aşil tendonunun daha sık yaralandığı görülmekte bunun nedeni olarak da sağ dominant olan bireylerin sol ekstremitesine ani itme hareketi uygulamasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir (46). Bilateral aşil tendon rüptürü nadir görülen bir vakadır. 2004 yılında Hayes ve arkadaşları literatürde sadece 26 bilateral aşil tendon rüptür vakası bulmuştur (46). Aşil tendon rüptürünün hangi mevsimlerde insidansının arttığına yönelik literatürde az sayıda çalışma bulunmaktadır. Stockholm’ de yapılan bir çalışmada kış ve ilkbahar mevsimlerinde en yüksek rüptür oranı gözlenirken, yaz aylarında ise rüptürün en az görüldüğü bulunmuştur (47). Aşil tendon rüptürlerinin diğer nedenleri arasında kronik dejenerasyon, kronik hastalıklar, kortikosteroid türevinde ilaç kullanımı, genetik yatkınlık ve obezite olarak farklı başlıkları da mevcuttur (48).

Çin’ de yapılan bir çalışmada aşil rüptürlerinin incelendiği 302 vakada ortalama yaşı 37,5 olarak bulmuşlar. Bunun yanında vücut kitle endeksi ortalama

olarak 25,0 hesaplanmış. Etiyolojik nedenler arasında spor müsabakaları ilk sırayı almış, müsabakaya başlamadan önce 10 dakika ısınanların hiç ısınmayanlara oranla daha az rüptür yaşadığı belirlenmiştir. Rüptür zamanları ise 124 rüptürün olduğu cumartesi günü ilk sırada yer almış. Meslek grubu özelinde yapılan değerlendirmede 232 vaka statik bir yaşam tarzı bulunan (öğrenci, emekli, ofis çalışanı) oluştuyordu (44).

Tıp dünyasında birçok hastalıkta olduğu gibi aşil tendon rüptürlerinde de genetik faktörlerinin etkisine dair çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada aşil tendon rüptürü geçiren hastalarda, rüptür geçirmeyen hastalara kıyasla birinci ya da ikinci derece akrabalarında aşil tendon sorunlarının istatistiksel olarak anlamlı olmayan derecede daha yüksek olduğu bulunmuştur. Genetiğin tendon rüptürüne etkisinin ne ölçüde olduğu kesin olmamak ile daha fazla çalışma yapılarak belirlenebilir. Bunun etkisiyle Danimarka’ da yapılan bir çalışmada ikiz bireyler üzerinde aşil rüptürleri incelenmiş. Tendon rüptürü ile hastaneye başvuran bireylerin ikiz kardeşleri incelendiğinde, mono zigot bireylerde diğer ikiz birey için % 8, dizigotik birey için diğer kardeşte %4 oranında rüptüre yatkınlık belirlenmiştir. Mono zigot bireylerde hesaplanan rüptüre yatkınlık oranı dizigotik bireylere oranla 2 kat daha yüksek bulunmuştur (49).

Aşil tendinopatisi ilerleyen süreçte aşil tendon rüptürü oluşturmaları açısından bir risk faktörüdür. Aşil tendinopatisi olan bireylerin %4’ ü aşil tendon rüptürü yaşamaktadırlar (5).

Aşil rüptürü geçiren hastalarda lipid düzeylerinin değerlendirildiği literatür çalışmaları bulunmaktadır. Özgürtaş ve arkadaşlarının küçük bir örneklem ile yaptığı çalışmada yüksek lipid düzeylerinin rüptürü etkileyebileceğine yönelik sonuçlar bulmuşlar. Başka bir çalışmada ise aşil tendon rüptürlerinde lipid düzeylerini değerlendirmeye yönelik yapılan retrospektif bir çalışmada, kolesterol, trigliserit ve LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (48). serbest kolesterol ve trigliserit aşil tendonunda birikmeye başladıkça ksantomlara neden olabilir. Bunun sonucunda tendon mukavemetindeki azalma rüptürlere olan yatkınlığı artırır.

Erkek cinsiyette kadınlara oranla daha fazla rüptür görülmesi nedenli testosteronun rüptüre etkisinin olup olmadığının araştırıldığı çalışmalarda mevcuttur. Literatürde iki hipotez öne sürülmüştür, anabolik-androjenik steroidlerin hızlı kas hipertrofisi oluşturmasıyla tendon adaptasyonunun aynı düzeyde etki etmeyeceği öne sürülmüştür bundan dolayı da rüptürün olabileceğini düşünmüşler. Diğer hipotez olarak da anabolik-androjenik steroidlerin direkt tendon yapısına zarar vererek yaralanmaya yatkın hale getirdiği düşünülmüştür. Bu nedenle farklı hastalıklara ikincil olarak reçete edilmiş ve dışarıdan testosteron kullanan hastalarda aşıl tendon rüptürüne etkisi incelendiği bir çalışmada eksojen testosteron uygulamasının yaralanmayı artırdığına yönelik sonuca ulaşılmıştır. Özellikle hipogonadizm olmak üzere çeşitli tıbbi komorbiditeler de hem erkeklerde hem kadınlarda rüptüre yatkınlığı artırmıştır. Testosteron tendonda sertlik artışı, relaksin tepkisinde azalma ve matris metalloproteinaz aktivitesinin inhibisyonu ile ilişkilendirilmiştir (50).

Aşıl rüptürüyle flokinolon türevinde ilaç kullanımının da ilişkisi olduğuna yönelik literatürde çalışmalar mevcuttur. 2008 yılında FDA tarafından, florokinolon antibiyotiklerin kullanımından sonra tendon rüptürü ve tendinit riskinin arttığı belirtilmiştir. 12-18 yaş grubunda yapılan bir çalışmada diğer geniş spektrumlu antibiyotikler ile karşılaştırıldığında florokinolon grubu antibiyotik kullananlarda tendinit riskinin arttığı görülmüş. Ancak tendon rüptür riskinde anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır(51). Başka bir çalışmada da üçüncü grup florokinolonlar ile birinci ve ikinci grup florokinolonların tendon üzerine etkisi araştırılmış. Sonucunda üçüncü grup florokinolonların tendon rüptür riskinin artmasıyla ilişkili olmadığı gösterilmiştir (52).

Yakın tarihte COVID-19 (korona virüs hastalığı-19) pandemisi tüm dünyayı etkisi altına aldı. Bu süre zarfında insan vücudundaki bütün sistemlere etkisi incelenmiş ve literatüre katılmıştır. Kas ve iskelet sistemi üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda mevcuttur. Bunlardan birisi aşıl rüptürüne olan etkisinin incelendiği Carmont ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadır. Birleşik Krallık’ da yapılan çalışma sonucunda pandemiden sonraki yıl olan 2021 yılında aşıl tendon rüptür oranlarının önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Bu artışın 6 ay boyunca devam ettiği gösterilmiş. Rüptür sayısının artmasının nedeni olarak da 2020 yılında pandeminin üstesinden

gelebilmek için yapılan izolasyonlar ve buna bağlı sedanter yaşamın getirmiş olduğu hareketsizlikten kaynaklandığını düşünmüşler (53).

Aşıl rüptürlerinde uzun süreli steroid kullanımının da rüptüre yatkınlık oluşturduğu söylenmektedir. Deneysel bir rad çalışmasında uzun süreli deksametazon verilen radlarda çalışma süresi sonucunda tip 1 kolajen oranlarının önemli ölçüde azaldığı ve tendonlarda rüptüre yatkınlığın oluştuğu gösterilmiştir (54).

Tendonun rüptür nedenleri arasında olan bir diğer sebepte kronik hastalıklardır. Diyabet, hiperkolesterolemi, tiroid bozuklukları ve obezite gibi metabolik hastalıklar tendon sağlığını bozarak Aşıl tendinopatisine yol açar ve kişiyi aşıl tendon rüptürüne yatkın hale getirir. İtalya da yapılan 2003-2021 yılları arasında aşıl rüptürü yaşayan 340 hastanın verisi incelenmiş. Bunlar içinde 95 hastanın (%28) diyabet, obezite, hiperkolesterolemi ve tiroid fonksiyonu gibi kronik metabolik hastalıkları mevcuttu. Çalışma sonucunda metabolik bir hastalığın bulunması tendon rüptürüne yatkınlığı artırdığı görülmüş ayrıca opere edilen hastalarda da cerrahi sonrası dönemde komplikasyon riskini önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (55).

Tendon rüptür epidemiyolojisini aydınlatmaya ve kanıtlamaya yönelik bilimsel çalışmalar günümüzde de devam etmektedir. Tendon rüptürü yaşayan hastada tanıyı koyabilmek önemli bilgi ve beceri gerektirir.

Aşıl tendon rüptür tanısını koymaya yönelik fizik muayenede Thompson ve Matles testleri yardımcı olacak testlerdir. Bunun yanında da radyolojik olarak son zamanlarda kullanımı artan USG ve MR tetkikleri de yardımcı kaynaklardır (2,3).

Cerrahinin temelinde olduğu gibi tanısı konulan durumdan sonra uygun tedavi yöntemini belirlemek en önemlisidir. Aşıl rüptürlerinde de konservatif ya da cerrahi yöntemlerin uygulanmasına yönelik çok fazla sayıda literatür çalışması bulunmasına rağmen kesin bir fikir birliğine varılamamıştır.

Aşıl tendinopatisinde ne yapılmalı sorusuna yönelik literatür taramasında yapılmış meta analiz değerlendirmesindeki sonuçlar göze çarpıyordu. Bu meta analizde 29 çalışma ve 42 tedavi yöntemi içerdiği görüldü. Tedavi yöntemlerinin bazıları, bekle ve gör, ESWT, plasebo injeksiyon+ kas egzersizleri, kas egzersizleri+gece dinlendirici atel uygulaması ve akupunktur tedavisi gibi alt

başlıklardan oluşuyordu. Yapılan değerlendirme sonuçlarına göre bekler ve gör tedavi seçeneği önerilmemektedir. Gastroknemius kas egzersizleri ise yüksek oranda önerilmekteydi. Hastanın yaralanma öncesi fiziksel aktivite durumu da tedavi yöntemlerini belirleme ve egzersiz terapisini önermeye yönelik önemli rolü olduğu düşünüldü. Aşıl tendinopatisi için tedavi etkinliği üzerine yapılan en son meta-analizler tek bir tedavinin üstünlüğünü bulmamıştır. Tedavi etkinliği konusunda belirsizlik devam ettiği için, gelecekteki çalışmalar da yeterli şekilde güçlendirilmeli ve tasarlanmalıdır (56).

Akut aşıl tendonu rüptürleri için en iyi tedavi konusunda halen belirsizlik vardır. Bundan dolayı, akut aşıl tendon rüptürleri için açık onarım, minimal invaziv cerrahi onarımı, fonksiyonel rehabilitasyon veya birincil immobilizasyon düşünüldüğünde, hangi müdahale en düşük tekrar kopma riskiyle ilişkilidir? Hangi müdahale ameliyatla sonuçlanan komplikasyon riskiyle en düşük ilişkilidir? sorularının irdelendiği meta analize ulaşıldı. Çalışma sonuçlarında rerüptür oranlarına bakıldığında açık cerrahi onarım, minimal invaziv cerrahi ve fonksiyonel rehabilitasyon arasında anlamlı fark bulunamamış. Ancak primer immobilizasyon rerüptür açısından değerlendirildiğinde diğer tedavi yöntemlerine göre ortaya çıkma olasılığı daha yüksek bulunmuştur. Minimal invaziv cerrahi yapılan hastalarda açık cerrahi yapılanlara göre cerrahiye bağlı komplikasyon riski daha düşük bulunmuştur. Sonuç olarak akut aşıl tendon rüptürlerinin tedavisi, meta-analizlere rağmen belirsiz bir alan olmaya devam etmektedir (4).

Günümüzde teknoloji ve tıbbın gelişen koşullarıyla diğer branşlarda olduğu gibi tendon rahatsızlıklarında da farklı tedavi modaliteleri deneniyor. Bunlar arasında PRP, Hyaluronik asit, büyüme faktörleri içeren enjeksiyonlar doku rejenerasyonunu artırdığı ve iyileşmeye katkı sağladığı düşünülmektedir. Trombositten zengin plazmanın aşıl rüptürünün tedavisinde etkinliğinin incelendiği çalışmada ayak bileği dorsifleksiyonu ve gastroknemius kas gücünün artırılmasına önemli düzeyde katkı sağladığı gösterilmiş. Ancak ayak bilek plantar fleksiyon hareketinin gerçekleşmesi ve ağrıyı etkin bir şekilde iyileştirdiği gösterilememiş (57).

Bizde yaptığımız çalışmada tavşanlar üzerinde deneysel aşıl tendon hasarı oluşturup, gelişen biyoteknolojiyle birlikte laboratuvar ortamında Tip 1 kolajen emdirilmiş PLGA scaffoldlarının tendon iyileşme sürecindeki etkilerini biyomekanik

ve histopatolojik olarak incelemeyi amaçladık. PLGA' nın tıp dünyasında farklı alanlarda kullanımı mevcut olup FDA ve EMA tarafından kullanım onayı verilen yirmi civarında ilaçla birlikte kullanımları mevcuttur (37).

PLGA' nın kullanımda olduğu alanlar arasında kanser tedavisi, antibiyotik tedavisi, sinir hasarı tedavisi, osteomyelit tedavisi ve kondrojenesis gibi başlıklar altında yapılmış olan çalışmaları mevcuttur (26–29,58).

Deneyisel bir çalışmada radlar üzerinde kolajen bazlı PLGA' nın cilt defekti üzerindeki iyileşme etkisi incelenmiş. PLGA-kolajen-kitosan iskeleti (PCCS) mükemmel gözeneklilik, biyouyumluluk, esneklik, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve mekanik dayanıklılık göstermiş, fibroblast göçünü ve yapışmasını hızlandırmak için uygun bir mikro yapı sağlamış ve anjiyogenezi ve yeniden epitelizasyonu desteklemiştir. PCCS' ye yerleştirilen PLGA ağının konumu, iskeletin iyileştirici etkisini etkilemiştir (59).

Başka bir deneyisel çalışmada tavşanlar üzerinde yapılan ve kemik defekti oluşturulmuş. Sonrasında Hidroksiapatit ile PLGA scaffoldlarının yerleşimi sağlanmış. Çalışma sonucunda scaffoldun etrafında osteokondüktivite ve biyouyumluluğun iyi olduğu gözlenmiş. Ayrıca kemik defekt alanı spongiöz kemik oluşumu ile iyileşmesi sağlanmış (60).

Tavşanlar üzerinde yapılan deneyisel çalışmada kronik osteomyelit üzerinde 3 boyutlu linezolid taşıyan hidroksiapatit kaplı PLGA' ların tedaviye etkinliği değerlendirilmiş. Linezolid yüklü PLGA-HA scaffoldlar linezolidin sürekli salınımını gösterdi ve önemli antibakteriyel etkiler gösterdi. Linezolid yüklü PLGA-HA iskeleleri kemik iyileşmesini destekledi ve kemik enfeksiyonunu azalttı sonucuna ulaşılmış (39).

PLGA scaffoldların sinir üzerine etkisinin incelendiği ayrı bir çalışmada radlar üzerinde çalışılmış. Siyatik kesisinden sonra kök hücre ile desteklenmiş PLGA' ların sinirde fonksiyonel iyileşmeyi ve sinir rejenerasyonunu pozitif yönde etki ettiğine dair sonuca ulaşılmış (41).

PLGA' ların ve yanına eklenen yardımcı maddelerin deneyisel çalışmalarda ya da tıpta bazı tedavilerde kullanıldığını gördük. Ancak aşil tendon yaralanmalarında tıp

1 kolajen bazlı PLGA kullanımının tedaviye yanıtını gösteren bir çalışmayı literatürde bulamadık. Bundan dolayı tavşanlar üzerinde aşıl tendon hasarında tip 1 kolajen bazlı PLGA' nın tendon iyileşme üzerindeki etkisini incelemeyi düşündük.

Tavşan aşıl tendonunda primer bir hasar oluşturulup Tip 1 kolajen PLGA scaffoldun tendon iyileşmesi üzerine etkilerini incelemek amaçlı histopatolojik ve biyomekanik verilerini çalışmayı planladık. Çalışmamızda Modifiye Bonar ve Modifiye Movin skorlama sistemleri histolojik verilerin incelenmesinde kullanıldı (43,61). Her gruptan altışar hayvan (n=6) çalışmanın 42.gününde incelenmek üzere alındı. Çalışmamızda bütçe yetersizliğinden kaynaklı olarak 21. Gün incelemesini yapamadık. Bundan dolayı Tip 1 kolajen PLGA scaffoldun histolojik veriler üzerine erken ve geç dönem etkilerini ne yazık ki değerlendiremedik.

Modifiye Bonar skorlamasında baktığımız parametreler tenosit, zemin maddesi, kolajen, vaskülarite değerlendirildi. Bizim çalışmamızda vaskülarite ve zemin görünüm skorları scaffold grubunda daha düşük olarak görüldü. (p=0.010, p=0.022) Ayrıca toplam bonar skoru skalasında da scaffold grubunda anlamlı olarak düşük görüldü. (p<0,001) Bonar skorlama sistemi preparatları inceleyen kişinin kendi özgün bakış açısıyla olması nedenli tek tek parametrelerin istatistiksel anlam içermesinden ziyade toplam Bonar skorunun daha değerli olduğunu düşünüyoruz. Nitekim bizim çalışmamızda zemin görünümü ve vaskülaritede istatistiksel fark olmasına rağmen toplam Bonar skorunun daha önemli olduğunu düşünüyoruz.

Modifiye Movin skorlamasına baktığımızda 7 adet parametreyi değerlendirdik. Bunlar lif yapısı, lif düzeni, nükleus yuvarlaklığı, bölgesel değişiklik, vaskülarite, kolajen miktarı ve hyalinizasyon parametrelerinden oluşuyordu. Değerlendirme sonuçlarımızda lif yapısı, lif düzeni, vaskülarite skorlarında scaffold grubu istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük puan aldı. (p=0.002, p=0.001, p=0.010) Toplam Movin skorları değerlendirildiğinde de scaffold grubu anlamlı olarak daha düşük puan aldı.(p=0.002) Bonar skorunda olduğu bu skorlamada da toplam puanlamanın daha değerli olduğunu düşünmekteyiz. Bununla birlikte lif yapısı ve lif düzeni skorlamasının scaffold grubunda düşük olması tendon dayanıklılığı ve kopmasının zor olmasını düşündürüyor. Biyomekanik değerlendirmede kopma süresinin fazla olması bunu desteklemekle birlikte daha fazla denekle yapılan çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Bu çalışmayı yaparken scaffoldlara emdirilmiş sığır kolajeninden izole edilmiş Tip 1 kolajenin yaralanmış tendonun fibröz dokusunun içinde olup olmadığını incelemek istedik ancak çalışmada bulunan bütçe kısıtlamasından dolayı bunu gerçekleştiremedik. İlerleyen süreçlerde böyle bir çalışma yapılırsa immün boyama sistemi ile tip 1 kolajen ve tip 3 kolajen durumlarının değerlendirilip dışarıdan eklenen tip 1 kolajenin doğal tendon yapısında bulunup bulunmadığı açısından değerlendirilmesinde fayda olacağını düşünmekteyiz.

Tendon yaralanmalarından sonra cerrahi işlem uygulanmışsa adezyon problemi ortaya çıkabilecek bir komplikasyondur. Bu çalışmayı yaptıktan sonra uygulanmış olan scaffoldun çevre yumuşak dokulara olan yapışıklığı azaltabileceği konusunda da değerlendirmelere ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz. Biz çalışmamızın sonunda aşil tendonu diseksiyonu sağlarken scaffold grubunda cilt altı yapışıklığın kontrol grubuna göre makro değerlendirme olarak daha az gerçekleştiğini düşündük. Ancak bu değerlendirmelerin daha objektif olarak ve histolojik olarak değerlendirilip desteklenmesinde fayda olacağını düşünmekteyiz.

PLGA scaffoldların üretim aşamasında biyoemilebilir olmasını istedik. Çalışma sonunda aşil tendon diseksiyonlarını gerçekleştirirken subjektif olarak ve makro bakış açısıyla baktığımızda cerrahi anında uygulanan scaffoldların çok daha azının kaldığını gözlemledik. Bununda tendon adezyonunda olduğu gibi objektif şartlar altında ve histolojik ve moleküler testler ile değerlendirilmesini düşünüyoruz.

Tendonlarda uygulamış olduğumuz biyomekanik testlerde scaffold grubunda kopma kuvvetinin medyan değerinin daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gözlemledik. ($p=0.288$) Bu sonuçların değerlendirilmesinde daha fazla denek ve çalışmayla değerlendirmenin daha doğru olacağını düşünmekteyiz. Ayrıca değerlendirilen bir diğer parametre olan kopma süresinde ise scaffold grubunda anlamlı olarak daha yüksek değerler olduğunu gözlemledik. ($p=0.041$) Tendon kopma süresinin daha uzun olmasının scaffold grubunda tendon elastikiyetinin daha yüksek olduğunu düşündürdü. İlerleyen çalışmalarda tendon kopma süresinin yanında da tendon rüptürü olmadan yapılacak biyomekanik cihaz tendon boy ölçümleriyle de bu ön görümüzün desteklenmesi gerektiğini düşünüyoruz.

Deney aşamasına başlamadan önce yapılmış olan in vitro test sonuçlarının doğru olduğunu düşünmekteyiz. Scaffold grubuna uygulamış olduğumuz PLGA scaffold kaynaklı herhangi bir tavşanda negatif bir tabloyla karşılaşmadık. Ancak güvenilirlik ve biyouyumluluk açısından halen çok daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Hayvan deneyi modellerinde denek azlığı nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde etmek zor olmaktadır. Daha fazla hayvan kullanılmak istenmesi durumunda da karşımıza etik sorunlar çıkabilmektedir.



6. SONUÇ

Yapmış olduğumuz prospektif randomize kontrollü hayvan deney çalışmamızda tavşan aşil tendon rüptürlerinde Tip 1 kolajenli PLGA scaffoldların tendon iyileşme üzerine olan etkilerini histopatolojik ve biyomekanik olarak incelemeyi hedefledik.

Histolojik parametreleri Bonar ve Modifiye Movin skorlama sistemleri değerlendirdik. Bonar skorlamasında vaskülarite ve zemin görünüm skorları scaffold grubunda daha düşük olduğunu gösterdik. Ayrıca toplam Bonar skoru skalasında da scaffold grubunda anlamlı olarak düşük görüldü. Modifiye Movin skorlama sonuçlarımızda lif yapısı, lif düzeni, vaskülarite skorlarında scaffold grubu istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük puan aldı. Toplam Movin skorları değerlendirildiğinde de scaffold grubu anlamlı olarak daha düşük puan aldı. Scaffold grubunda histolojik olarak iyileşmenin ve tendon içindeki kolajen fibrillerin daha paralel ve düzenli seyirli olduğu sonucuna vardık.

Biyomekanik değerlendirme sonuçlarına baktığımızda da kopma kuvvetinin scaffold grubunda ortalama olarak daha yüksek olduğunu saptadık ancak istatistiksel olarak anlamlı sonuca ulaşamadık. Kopma süresi, scaffold grubunda istatistiksel anlamlı olarak kontrol grubuna göre daha yüksekti.

Çalışmamız sonucunda Tip 1 kolajenli PLGA uygulamasının hem histolojik hem de biyomekanik olarak tendon iyileşme sürecine olumlu etkisi olduğunu düşünüyoruz. Daha fazla denekle yapılacak çalışmalarla birlikte Tip 1 kolajenli PLGA uygulamasının tendon iyileşme sürecine olumlu etkisi olduğu kanatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Tarantino D, Palermi S, Sirico F, Corrado B. Achilles tendon 66ort he: Mechanisms of injury, principles of rehabilitation and return to play. Vol. 5, Journal of Functional Morphology and Kinesiology. MDPI AG; 2020.
2. Azar Mf. Ruptures Of Achilles Tendon. In: Campbell's Operative Orthopaedics. 13th ed. Elsevier; 2017. P. 2415–29.
3. Kaya Hekü. Aşil tendonu yaralanmalarında görüntüleme. 2019;13–7.
4. Meulenkamp B, Woolnough T, Cheng W, Shorr R, Stacey D, Richards M, et al. What Is the Best Evidence to Guide Management of Acute Achilles Tendon Ruptures? A Systematic Review and Network Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. Vol. 479, Clinical Orthopaedics and Related Research. Wolters Kluwer Health Inc; 2021. P. 2119–31.
5. Briggs-Price S, Mangwani J, Houchen-Wolloff L, Modha G, Fitzpatrick E, Faizi M, et al. Incidence, demographics, characteristics and management of acute Achilles tendon 66ort he: An epidemiological study. PloS One. 2024 Jun 1;19(6 June).
6. Park SH, Lee HS, Young KW, Seo SG. Treatment of acute achilles tendon 66ort he. Vol. 12, CiOS Clinics in Orthopedic Surgery. Korean Orthopaedic Association; 2020. P. 1–8.
7. Rocha CV, Gonçalves V, da Silva MC, Bañobre-López M, Gallo J. PLGA-Based Composites for Various Biomedical Applications. Vol. 23, International Journal of Molecular Sciences. MDPI; 2022.
8. L. Klenerman. The early history of tendo Achillis and its 66ort he. J Bone Joint surgery. 2007;545–52.
9. Erdem Can. Papaverin'in Aşil Tendon Tamiri Yapılan Ratlarda Tendon İyileşmesi ve Adezyon Üzerine Etkisi. 2023.
10. Apaydın N, Ünlü S, Bozkurt M, Doral MN. Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Aşil tendonu'nun fonksiyonel anatomisi ve biyomekanik özellikleri Functional anatomy and biomechanical aspects of the Achilles tendon.

11. Mahan J, Damodar D, Trapana E, Barnhill S, Nuno AU, Smyth NA, et al. Achilles tendon complex: The anatomy of its insertional footprint on the calcaneus and clinical implications. Vol. 17, Journal of Orthopaedics. Reed Elsevier India Pvt. Ltd.; 2020. P. 221–7.
12. Frank Netter. Netter' s Atlas of Human Anatomy. Vol. 7. 507–513 p.
13. Zielinska N, LaPrade RF, Olewnik Ł. Morphological variations of the calcaneal tendon: clinical significance. Vol. 18, Journal of Orthopaedic Surgery and Research. BioMed Central Ltd; 2023.
14. Nicola Maffuli. Operative Techniques in Orthopaedic surgery. Vol. 1. 4433–4457 p.
15. Leong NL, Kator JL, Clemens TL, James A, Enamoto-Iwamoto M, Jiang J. Tendon and Ligament Healing and Current Approaches to Tendon and Ligament Regeneration. Vol. 38, Journal of Orthopaedic Research. John Wiley and Sons Inc.; 2020. P. 7–12.
16. Ackerman JE, Best KT, Muscat SN, Loiselle AE. Metabolic Regulation of Tendon Inflammation and Healing Following Injury. Vol. 23, Current Rheumatology Reports. Springer; 2021.
17. Leong NL, Kator JL, Clemens TL, James A, Enamoto-Iwamoto M, Jiang J. Tendon and Ligament Healing and Current Approaches to Tendon and Ligament Regeneration. Vol. 38, Journal of Orthopaedic Research. John Wiley and Sons Inc.; 2020. P. 7–12.
18. Liu X, Zhu B, Li Y, Liu X, Guo S, Wang C, et al. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Tendon Healing. Vol. 12, Frontiers in Physiology. Frontiers Media S.A.; 2021.
19. Manning CN, Schwartz AG, Liu W, Xie J, Havlioglu N, Sakiyama-Elbert SE, et al. Controlled delivery of mesenchymal stem cells and growth factors using a nanofiber scaffold for tendon repair. Acta Biomater. 2013;9(6):6905–14.
20. Jon C. Thompson. Netter' s Concise Orthopaedic Anatomy. In: 2nd ed. P. 338–61.
21. Can F, Numanoğlu EA. Aşıl tendon rüptür cerrahisi sonrası fonksiyonel rehabilitasyon. TOTBID Dergisi. 2018;17(1).

22. Varma S, Orgel JPRO, Schieber JD. Nanomechanics of Type I Collagen. *Biophys J*. 2016 Jul 12;111(1):50–6.
23. Müller SA, Dürselen L, Heisterbach P, Evans C, Majewski M. Effect of a Simple Collagen Type I Sponge for Achilles Tendon Repair in a Rat Model. *American Journal of Sports Medicine*. 2016 Aug 1;44(8):1998–2004.
24. Ipsita Roy MNG. Smart polymeric materials: emerging biochemical applications. *Chemical Biology*. 2003;1161–71.
25. Fabienne Danhier EAJMSRCALBVP. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. *Journal of Controlled release*. 2012;505–22.
26. Makadia HK, Siegel SJ. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers (Basel)*. 2011 Sep;3(3):1377–97.
27. Chen SH, Lei M, Xie XH, Zheng LZ, Yao D, Wang XL, et al. PLGA/TCP composite scaffold incorporating bioactive phytomolecule icaritin for enhancement of bone defect repair in rabbits. *Acta Biomater*. 2013;9(5):6711–22.
28. Ke re mu A li mu, Liang Z lin, Chen L, Tu xun A ke bai er, A bu li ke mu M mai ti 68ort , Wu Y quan. 3D printed PLGA scaffold with nano-hydroxyapatite carrying linezolid for treatment of infected bone defects. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2024 Mar 1;172.
29. Park KS, Kim BJ, Lih E, Park W, Lee SH, Joung YK, et al. Versatile effects of magnesium hydroxide nanoparticles in PLGA scaffold-mediated chondrogenesis. *Acta Biomater*. 2018 Jun 1;73:204–16.
30. Kim K, Kim H, Do S, Kim H. Potential of Aligned Electrospun PLGA/SIS Blended Nanofibrous 68ort he68efor Tendon Tissue Engineering. *Polymers (Basel)*. 2023 May 1;15(10).
31. Sangwa Kwak AHKCGSK. Micro/Nano Multilayered Scaffolds of PLGA and Collagen by Alternately Electrospinning for Bone Tissue Engineering. *Nanoscale Res Lett*. 2016;

32. Liu Qiana ZYZZLZ. Environmentally benign synthesis of electrospun collagen-1 in acetic acid solution. *Optoelectronics And Advanced Materials- Rapid Communications*. 2013;272–5.
33. Marco L Ferrone CPR. Modern surgical therapy: limb salvage and the role of amputation for extremity soft-tissue sarcomas. *Surgical Oncology Clinical of North America*. 2012;201–13.
34. Pan X, You C, Wu P, Wang X, Han C. The optimization of PLGA knitted mesh reinforced-collagen/chitosan scaffold for the healing of full-thickness skin defects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2023 Apr 1;111(4):763–74.
35. Ciardulli MC, Marino L, Lovecchio J, Giordano E, Forsyth NR, Selleri C, et al. Tendon and cytokine marker expression by human bone marrow mesenchymal stem cells in a hyaluronate/poly-lactic-co-glycolic acid (PLGA)/fibrin three-dimensional (3D) scaffold. *Cells*. 2020 May 1;9(5).
36. Makadia HK, Siegel SJ. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers (Basel)*. 2011 Sep;3(3):1377–97.
37. Rezvantab S, Drude NI, Moraveji MK, Güvener N, Koons EK, Shi Y, et al. PLGA-based nanoparticles in cancer treatment. *Front Pharmacol*. 2018 Nov 2;9(NOV).
38. Takahashi C, Matsubara N, Akachi Y, Ogawa N, Kalita G, Asaka T, et al. Visualization of silver-decorated poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles and their efficacy against *Staphylococcus epidermidis*. *Materials Science and Engineering C*. 2017 Mar 1;72:143–9.
39. Ke re mu A li mu, Liang Z lin, Chen L, Tu xun A ke bai er, A bu li ke mu M mai ti for , Wu Y quan. 3D printed PLGA scaffold with nano-hydroxyapatite carrying linezolid for treatment of infected bone defects. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2024 Mar 1;172.
40. Shafiee A, Kehtari M, Zarei Z, Soleimani M, Varshochian R, Ahmadi A, et al. An in situ hydrogel-forming scaffold loaded by PLGA microspheres containing carbon nanotube as a suitable niche for neural differentiation. *Materials Science and Engineering C*. 2021 Jan 1;120.

41. dos Santos FP, Peruch T, Katami SJV, Martini APR, Crestani TA, Quintiliano K, et al. Poly (lactide-co-glycolide) (PLGA) Scaffold Induces Short-term Nerve Regeneration and Functional Recovery Following Sciatic Nerve Transection in Rats. *Neuroscience*. 2019 Jan 1;396:94–107.
42. Manning CN, Schwartz AG, Liu W, Xie J, Havlioglu N, Sakiyama-Elbert SE, et al. Controlled delivery of mesenchymal stem cells and growth factors using a nanofiber scaffold for tendon repair. *Acta Biomater*. 2013;9(6):6905–14.
43. Maffulli N, Longo UG, Franceschi F, Rabitti C, Denaro V. Movin and bonar scores assess the same characteristics of tendon histology. In: *Clinical Orthopaedics and Related Research*. Springer New York; 2008. P. 1605–11.
44. Teng Z lin, Cao S xuan, Ma X, Wang X, Huang JZ, Zhang C, et al. Epidemiological Characteristics of Patients Operated for Achilles Tendon Rupture in Shanghai. *Orthop Surg*. 2022 Aug 1;14(8):1649–55.
45. Larsson E, Brorsson A, Carling M, Johansson C, Carmont MR, Nilsson Helander K. Sex differences in patients' recovery following an acute Achilles tendon 70ort he – a large cohort study. *BMC Musculoskelet Disord*. 2022 Dec 1;23(1).
46. Čretnik A, Košir R. Incidence of Achilles tendon 70ort he: 25-year regional analysis with a focus on bilateral ruptures. *Journal of International Medical Research*. 2023 Nov 1;51(11).
47. Saarensilta IA, Edman G, Ackermann PW. Achilles tendon ruptures during summer show the lowest incidence, but exhibit an increased risk of re-rupture. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. 2020 Dec 1;28(12):3978–86.
48. Yang YP, Tao LY, Gao JN, Wang P, Jiang YF, Zheng LM, et al. Elevated lipid levels in patients with achilles tendon ruptures: a retrospective matching study. *Ann Transl Med*. 2020 Mar;8(5):217–217.
49. Cramer A, Barfod KW, Hölmich P, Pedersen DA, Christensen K. Genetic contribution to the etiology of Achilles tendon 70ort he. A Danish nationwide register study of twins. *Foot and Ankle Surgery*. 2022 Oct 1;28(7):1050–4.

50. Albright JA, Lou M, Rebello E, Ge J, Testa EJ, Daniels AH, et al. Testosterone replacement therapy is associated with increased odds of Achilles tendon injury and subsequent surgery: a matched retrospective analysis. *J Foot Ankle Res.* 2023 Dec 1;16(1).
51. Ross RK, Kinlaw AC, Herzog MM, Funk MJ, Gerber JS. Fluoroquinolone Antibiotics and Tendon Injury in Adolescents.
52. Chinen T, Sasabuchi Y, Matsui H, Yasunaga H. Association between third-generation fluoroquinolones and achilles tendon 71ort he: A self-controlled case series analysis. *Ann Fam Med.* 2021 May 1;19(3):212–6.
53. Carmont MR, Morgan F, Fakoya K, Heaver C, Brorsson A, Nilsson-Helander K. The influence of the COVID pandemic on the epidemiology of Achilles tendon ruptures in east Shropshire, United Kingdom. *Journal of ISAKOS.* 2023 Apr 1;8(2):94–100.
54. Ge Z, Tang H, Chen W, Wang Y, Yuan C, Tao X, et al. Downregulation of type I collagen expression in the Achilles tendon by dexamethasone: A controlled laboratory study. *J Orthop Surg Res.* 2020 Feb 24;15(1).
55. Oliva F, Marsilio E, Asparago G, Via AG, Biz C, Padulo J, et al. Achilles Tendon Rupture and Dysmetabolic Diseases: A Multicentric, Epidemiologic Study. *J Clin Med.* 2022 Jul 1;11(13).
56. Van Der Vlist AC, Winters M, Weir A, Arden CL, Welton NJ, Caldwell DM, et al. Which treatment is most effective for patients with Achilles tendinopathy? A living systematic review with network meta-analysis of 29 randomised controlled trials. Vol. 55, *British Journal of Sports Medicine.* BMJ Publishing Group; 2021. P. 249–55.
57. Wang C, Fan H, Li Y, Yun Z, Zhang Z, Zhu Q, et al. Effectiveness of platelet-rich plasma injections 71ort he treatment of acute Achilles tendon 71ort he: A systematic review and meta-analysis. Vol. 100, *Medicine (United States).* Lippincott Williams and Wilkins; 2021. P. E27526.
58. Takahashi C, Matsubara N, Akachi Y, Ogawa N, Kalita G, Asaka T, et al. Visualization of silver-decorated poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles

and their efficacy against *Staphylococcus epidermidis*. *Materials Science and Engineering C*. 2017 Mar 1;72:143–9.

59. Pan X, You C, Wu P, Wang X, Han C. The optimization of PLGA knitted mesh reinforced-collagen/chitosan scaffold for the healing of full-thickness skin defects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2023 Apr 1;111(4):763–74.
60. Tao Y, Jia M, Shao-Qiang Y, Lai CT, Hong Q, Xin Y, et al. A novel fluffy PLGA/HA composite scaffold for bone defect repair. *J Mater Sci Mater Med*. 2024 Dec 1;35(1).
61. Zabrzyńska M, Grzanka D, Zielińska W, Jaworski Ł, Pękala P, Gagat M. The bonar score in the histopathological assessment of tendinopathy and its clinical relevance—a systematic review. Vol. 57, *Medicina (Lithuania)*. MDPI AG; 2021.