



1993

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

**SIÇANLARDA DONUK OMUZ MODELİNDE,
EKLEM İÇİ KORTİKOSTEROİD VE TROMBOSİTTEN ZENGİN
PLAZMA ENJEKSİYON ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Javid Mohammadzadeh Azarabadi

Ankara, 2017



1993

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

**SIÇANLARDA DONUK OMUZ MODELİNDE,
EKLEM İÇİ KORTİKOSTEROİD VE TROMBOSİTTEN ZENGİN
PLAZMA ENJEKSİYON ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Javid Mohammadzadeh Azarabadi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Orçun Şahin

Ankara, 2017

**Bu çalışma Başkent Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmış
(Proje no: DA 16/12) ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir.**

TEŞEKKÜR

Çalışmam süresince tez danışmanlığımı üstlenerek, bana yol gösterip desteklerini esirgemeyen çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Orçun Şahin'e, Uzmanlık eğitimim süresince hem hekimlik mesleğine hem de hayata bakış açılarıyla örnek olan başta bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. İsmail Cengiz Tuncay olmak üzere, Prof. Dr. Hüseyin Demirörs, Prof. Dr. İlhami Kuru ve prof. Dr. Rahmi Can Akgün ve Uzm. Dr. Bahtiyar Haberal'a,

Tezimin gerçekleştirilmesinde ve değerlendirilmesindeki değerli katkı ve desteklerinden dolayı Sayın Prof. Dr. Mehtap Akçil Ok, Dr. Didem Bacanlı, Uzm. Dr. Vahid Erdal Battal, Dr. Ekin Kaya Şimşek, Dr. Duygu Türkbey Şimşek, Dr. Ateş Mahmuti ve Dr. Mine Senem Yılmaz'a,

Asistanlığımın ilk kısmında gösterdikleri yakın ilgi ve verdikleri destekleri için Sayın Prof. Dr. Murat Altay, Doç. Dr. İsmail Demirkale, Doç. Dr. Hakan Şeşen, Uzm. Dr. Mustafa Caner Okkaoğlu, Asistanlığım süresince bana yardımları geçen ve yanımda olan Uzm. Dr. Engin Baylar, Dr. Yüksel Uğur yaradılmış ve Dr. Ali Yawz'a,

Her zaman yanımda olan yol arkadaşım, kıymetli eşim Dr. Shahla ve canım oğlum Sadra'ya,
en içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Bu deneysel çalışmada, Donuk Omuz hastalığında, eklemiçi Kortikosteroid (KS) ve Trombositten Zengin Plazma (TZP) uygulamalarının, tedavi etkinliklerinin klinik ve histopatolojik düzeyde karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya dahil edilen 48 adet erişkin Sprague-Dawley (S-Dawley) sıçan 3 eşit gruba ayrıldı. Tüm hayvanların omuzlarında sütür ile internal tespit yöntemi ile 8 hafta boyunca immobilizasyon sağlanarak Donuk Omuz modeli oluşturuldu. Sekizinci hafta tüm deneklerin dikişleri alındı ve grup bir sıçanlarına eklem içi olarak SF, grup ikiye KS ve grup üçe TZP enjekte edildi. Onuncu haftada tüm gruplar sakrifiye edildi. Deneklerin işlem yapılan sol omuzları; ön kol, humerus, klavikula ve skapulayı içerecek şekilde “en bloc” olarak çıkarıldı. Sakrifiye edilen hayvanların, her üç gruptan, rastgele yarısı eklem hareket açıklığı ölçümü için ve diğer yarısı histopatolojik inceleme için ayrıldı.

Tüm grupları karşılaştırdığımızda, klinik açısından fark az olsa bile, KS uygulanan sıçanların Addüksiyon (add.), Abdüksiyon (abd.) ve toplam da Eklem Hareket Açıklığı (EHA) diğer iki gruba göre daha iyi olduğu görüldü. TZP’nin EHA üzerinde etkisi kontrol gruba göre daha iyi, fakat KS’e göre daha az olduğu tespit edildi. Fakat bu ortalamalar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Histopatolojik açıdan değerlendirme yapıldığında ise, KS ve TZP uygulanan gruplardaki sıçanlarda, sinoviyal inflamasyon, fibrozis, tip 3 kollajen birikimi ve Subskapular bursa adezyonunun, kontrol gruba göre anlamlı şekilde daha az olduğu görüldü. Fakat damar proliferasyon açısından değerlendirme yapıldığında, klinik açıdan azalma görülse de, istatistiksel açıdan gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

KS ve TZP gruplarının, histopatolojik açıdan değerlendirmesi yapıldığında, KS uygulanan sıçanlarda damar proliferasyonu ve Tip 3 kollajen birikimi, TZP’ ye göre daha fazla olduğu ve diğer 3 parametrede de eşit derecede etkili oldukları saptandı fakat bunların arasında da istatistiksel açıdan anlamlı fark görülmedi.

Sonuç olarak klinik açıdan değerlendirme yapıldığında, Donuk omuz modelinde, KS’in etkisinin, TZP’ye göre daha üstün olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: donuk omuz, adheziv kapsülit, kortikosteriod, trombositin zengin plazma, hayvan modeli.



ABSTRACT

The aim of this experimental study is to compare the clinical and histopathological effects and the benefits of intraarticular injection of Corticosteroid (CS) and Platelet Rich Plasma (PRP) on the treatment of Frozen Shoulder.

48 adult Sprague-Dawley (S-Dawley) rats were divided equally into 3 groups. The Frozen Shoulder model was obtained following internal fixation of the rats' shoulders with sutures, followed by 8 weeks of immobilization. At the 8th week, all sutures were removed, and the first group was injected intraarticularly with saline solution, the second group with CS, and the third with PRP. The skin was re-sutured afterwards. At the 10th . Week all three groups were sacrificed. The shoulders that were operated on (left shoulder) were excised en-bloc including the forearm, the humerus, the clavicle and the scapula.

The remaining shoulders of the sacrificed subjects were randomly divided into two groups of which the first was separated for the examination range of joint motion, and the second group was separated for histopathological examination.

Subsequently, two groups were made, comprised of sacrificed subjects randomly selected from all three groups. The first group for the examination of range of joint motion, the second for histopathological examination.

After comparing all groups, although there is a minor clinical difference , rats which have been injected with CS have better results on Adduction (add.), Abduction (abd.) and total range of motion (ROM) compared to the other two groups. PRP has better ROM results compared to the control group but rather poor results compared to CS group. However, statistically there was no significant difference between these mean values.

The histopathological evaluation has showed that the rats in CS and PRP groups have significantly decreased synovial inflammation, fibrosis, type 3 collagen deposition, adhesion of the Subscapular bursa rather to those in the control group. However, there was no significant statistical difference in vascular proliferation although there was a slight decrease in clinical evaluation.

The histopathological evaluation of CS and PRP groups has shown that vascular proliferation and type 3 collagen deposition on the CS applied rats was more efficient compared to the PRP applied group and they were both equally effective on the 3 other parameters, however there was no significant statistical difference between them.

Consequently, clinical evaluation has shown that the results of CS have been found to be more effective compared to PRP.

Keywords: frozen shoulder, adhesive capsulitis, corticosteroids, platelet rich plasma, animal model.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 Donuk Omuz Hastalığı.....	4
2.1.1. Tanı.....	4
2.1.2. İsimlendirme ve tarihçe.....	4
2.1.3. Epidemiyoloji	5
2.1.4. Etiyoloji.....	5
2.1.5. Sınıflandırma.....	7
2.1.6. Evreleme... ..	7
2.1.7. Patoanatomı.....	8
2.1.8. Teşhis	9
2.1.9. Ayırıcı tanı.....	10
2.1.10. Tedavi.....	11
2.2. Trombositten Zengin Plazma.....	15
2.2.1. Trombositlerin yapımı ve yapısı.....	16
2.3. Kortikosteroidler	17
2.4. Sıçanın Omuz Anatomisi	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM	26
3.1. Deneklerin Gruplara Ayrılması	27
3.2. Donuk Omuz Modeli Oluşturulması.....	28
3.3. Donuk Omuzlu Hayvanların Tespiti ve Eklem içi Enjeksiyon Uygulaması.....	30
3.4. TZP Hazırlaması.....	31
3.5. Deneklerin Sakrifikasyonu ve Omuzun en Blok Şekilde Çıkartılması	32
3.6. EHA Ölçümü	33
3.7. Histopatolojik İnceleme	36
3.8. Biyoistatistik İnceleme	37
4. BULGULAR	38

4.1. EHA Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları	38
4.2. Histopatolojik Değerlendirme ve İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları	41
4.2.1. Sinoviyal İnflamasyon	41
4.2.2. Damar Proliferasyonu	41
4.2.3. Fibrozis	42
4.2.4. Tip 3 Kollajen Birikimi	42
4.2.5. Subskapular Bursa Adezyonu	43
5. TARTIŞMA	47
5.1. Donuk Omuz Oluşturulması ve EHA'nın Değerlendirilmesi	47
5.2. Histolojik ve İmmunohisto Kimyasal Değerlendirme	51
5.3. Donuk Omuzda Eklem içi KS ve TZP Tedavisinin Başarısını Kıyaslama ..	54
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	56
7. KAYNAKLAR	58

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABD	Abdüksiyon
ADD	Addüksiyon
COX-2	Siklooksijenaz-2
CGRP	Kalsitonin gen ilişkili peptit
CRP	C-reaktif protein
DM	Diabetes mellitus
DOM	Donuk omuz modeli
EHA	Eklem hareket açıklığı
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
GAM	Genel anestezi altında manipülasyon
H&E	Hematoksilen & eozin
HLA-B27	İnsan lökosit antijen-B27 (human leucocyte antigen)
Ig	İmmün globulin
KS	Kortikosteroid
Max	Maksimum
Min	Minimum
mm	Milimetre
mRNA	mesajcı Ribo nükleik asit
PRP	Platelet Rich Plasma
ROM	Range of motion
S-Dawley	Sprague-Dawley
SPSS	Statistical package for social sciences
TNF- α	Tümör nekroz e edici faktör -alfa
TZP	Trombositten zengin plazma
Vegf	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
°	Derece
°C	Santigrad derece
%	Yüzde

ŞEKİLLER

Şekil

2.1: Megakaryosit	16
2.2: Adrenal bez histolojisi ve üretilen hormonların yeri	18
2.3: Sıçan üst ekstremitésinin illüstrasyonu	20
2.4: Sıçan sağ üst ekstremité kemikleri ventral görünüş	22
2.5: Sıçan sağ üst ekstremité kemikleri dorsal görünüş	22
2.6: Posterosuperior ve lateral görünüşten insan ve sıçan omuz bölgesi kemik anatomi benzerliği	23
2.7: Göğüs bölgesi ve kol kasları ventral görünüş	24
2.8: Sırt, omuz ve kol kaslarının lateral görünüşü (ekstansiyonda)	24
2.9: Torasik ve skapular kasların lateral görünüşü (fleksiyonda)	25
3.1: Polikarbon kafesler	26
3.2: Grupların şematik göstermesi	28
3.3: A:Cilt insizyonu ve Skapulanın bulunması / B: İnfraspinatus ve subskapularis kısmı olarak disseke edilmesi	29
3.4: Sütürlerin skapula lateral kenarına düğümlemesi	30
3.5: Humerustan sütürlerin geçirilmesi ve skapulaya yaklaştırıp bağlanması	30
3.6: Kullanılan KS ilaç	31
3.7: TZP hazırlamak için kullanılan Santrifüj	31
3.8: Elde edilen TZP	32
3.9: Sakrifikasyondan sonrası omuzun en-bloc rezeksiyonu	33
3.10: Humerus distal 1/3 kısmından ampute edilmesi ve meduller kanalına enjektör ucu (30mm siyah) saplanması	33
3.11: Strafor üzerinde EHA ölçümü için açi ölçücü yardımı ile açların çizilmesi.	34
3.12: EHA ölçümü için, omuz stratora sabitlenmesi	35
3.13: A: On gram ağırlık altında Add. ölçümü / B: Düzenek 180 derece döndürülerek abd. Ölçümü	35
3.14: Patoloji makroskopik kesit	37

4-1: Addüksiyon sonuçlarının grafiği	39
4-2: Abdüksiyon sonuçlarının grafiği	40
4-3: Toplam EKH sonuçlarının grafiği	40
4.4: Kontrol grubunda sinoviyumda vasküler proliferasyon, inflamatuvar hücre artışı, eklem aralığında daralma ve adhezyon H&Ex4 büyütme	44
4.5: Kontrol grubunda Picro-Sirius Red histokimyası ile kırmızı boyanan kollajen liflerde artış H&Ex10 büyütme	44
4.6: Kortikosteroid grubunda vasküler proliferasyon H&Ex10 büyütme	45
4.7: Kortikosteroid grubunda Picro-Sirius Red histokimyası ile kollajen lif yoğunluğunda azalma H&Ex4 büyütme	45
4.8: PRP grubunda vasküler proliferasyon H&Ex10 büyütme	46
4.9: PRP grubunda Picro-Sirius Red histokimyası ile kollajen lif yoğunluğunda azalma H&Ex4 büyütme	46

TABLÖLAR

Tablo

2.1: Donuk omuzun etyolojisinde rol alan faktörler	6
2.2: Donuk omuz ayırıcı tanısı	11
3.1: Deneklerin gruplara ayrılması	27
4.1: Eklem hareket açıklık verileri	39
4.2: Sinoviyal inflamasyon verileri	41
4.3: Damar proliferasyon verileri	42
4.4: Fibrozis verileri	42
4.5: Tip 3 kollajen birikim verileri	43
4.6: Subskapular bursa adezyonu verileri	43

1.GİRİŞ

Donuk omuz, glenohumeral eklemdaki tüm yönlerde aktif ve pasif hareket açıklığında azalma ile seir eden hastalıktır. literatürde adhesive kapsülit, frozen shoulder ve skapulohumeral periartrit (eklem çevresi) olarak da adlandırılır. Genel popülasyona göre %2-5 olan insidansı, diyabetik hastalarda %20'lere çıkmaktadır. Bilateral görülme oranı %16'dır. Kadınlarda daha çok görülür ve 40 – 60 yaş arasında pik yapar. günlük yaşamı ileri derece kısıtlayan bu hastalıkta iyileşme sürecinin 3-10 yıla kadar uzaması göz önüne alındığında gerek hasta gerekse toplum için önemli sosyo-ekonomik kayıplara ve psikolojik sorunlara yol açan Donuk omuzun tedavi edilmesi bir zorunluluktur.

Donuk omuz primer ve sekonder olarak sınıflandırılır. Primer Donuk omuzun etiyolojisi tam olarak belli değil fakat diabetes mellitus (DM), tiroid disfonksiyonu, dupuytren kontraktürü, otoimmün hastalıklar ve meme kanseri ile ilişkili bulunmuştur. Sekonder Donuk omuz, intrinsek (omuz içi patolojiler), ekstrinsek (omuzun hareketsiz kalmasına sebep olan omuz dışı patolojiler) ve sistemik etkiler sonucu oluşur; muhtemel nedenler, makrotravma, mikrotravma, cerrahi sonrası işlemler ve uzun süren tespit olarak sayılabilir. Doğal seyirinde Donuk omuz üç evreden oluşur. freezing, frozen, thawing.

İlk evre ağrının belirgin olduğu donma (freezing) dönemi, ikinci evre ağrının azalıp hareket kısıtlılığının arttığı donmuş (frozen) dönemi ve son evre omuz fonksiyonlarının iyileştiği çözülme (thawing) dönemidir. Donuk omuzda evreler arası geçişler keskin sınırlarla ayrılmamaktadır.

Donuk omuz patogenezi ve patofizyolojisi üzerine bilinenler sınırlıdır. Histopatolojik olarak Donuk omuzun ilk evresi olan donma döneminde inflamasyonun, ikinci evresi olan donmuş dönemde ise fibrozisin ön planda olduğu düşünülmektedir. Klinik olarak hastalar Donuk omuzun her iki evresinin özelliklerini de taşıyabildiği için, literatürde ana lezyonun fibrozis mi yoksa inflamasyon ve sinovit mi olduğu konusunda çelişkiler mevcuttur.

Tedavi yöntemleri arasında; eklem içi KS enjeksiyonu, oral KS tedavisi, fizik tedavi, anestezi altında manipölasyon ve artroskopik kapsüler gevşetme tedavisi sayılabilir. Tedavi yöntemlerinin başarı üstünlüğü açısından çok büyük farklar gözlemlenmemektedir. Donuk omuzun konservatif tedavisi olarak eklem içi KS sıklıkla kullanılmaktadır fakat KS'lerin yan etkilerini göz önünde bulundurarak ve son zamanlarda Trombositten zengin plazma (TZP)'nin tıpta yaygın bir şekilde kullanılması ve iyi sonuçların elde edilmesi neticesinde eklem içi TZP ve KS tedavilerinin Donuk Omuzun iyileşmeye sağlayacağı katkıyı klinik ve histopatolojik düzeyde kıyaslamamızın önemli olduğunu düşündük (1-5).

Klinik çalışmalarda Donuk omuzun konservatif tedavi sonuçlarını histopatolojik olarak inceleme olanakları kısıtlıdır. Biyopsi genellikle artroskopik tedavi alan hastalarda işlem sırasında alınabilmektedir. Bu sebeple hastalığın patolojisi üzerine bilinenler cerrahi tedavi düşünülen ileri evre hasta popülasyonunun özelliklerini yansıtmaktadır. Oysa KS tedavisi hastalıkta ağrının belirgin olduğu ilk evrede tavsiye edilmektedir. Ayrıca hastalığın bir dönemi bitip diğer dönemi başlamadığı için klinik çalışmalarda hastalar hem donmuş dönemin hem de donma döneminin özelliklerine uymaktadır. Bu nedenle yapılan çalışmalarda hastalar tam olarak aynı klinik özellikleri taşımamaktadır. Ayrıca omuzun ağrılı ve sert olduğu fakat sebebi bulunamayan durumlarda yanlış tanı olarak primer Donuk omuzun tanısı konulabilmektedir. Bu nedenlerle bir hayvan modeli üzerinde Donuk omuzun tedaviye yanıtının araştırılması ve patolojinin mikroskopik olarak değerlendirmesi değerlidir.

Çalışmamızda Donuk omuzun hayvan modeli üzerinden, hastalığın konservatif tedavi yöntemlerinden biri olan eklem içi TZP ve KS tedavilerinin hangisinin klinik açıdan üstün sonuçları olduğunu ve bu tedavilerin hastalığın patolojisinde nasıl bir değişikliğe yol açtığını gözlemlemeyi amaçladık. Önceki çalışmalarda, sıçanlarda donuk omuz modeli alçı ile eksternal tespit (6, 7), plak ile internal tespit (8) ve sütür ile internal tespit(9-11) yöntemleri ile oluşturulmuştur. Çalışmamızda sıçanların omuz eklemi internal tespit yöntemi ile sabitleyerek sekonder ekstrinsik Donuk omuz modeli oluşturduk.

Eklem içi TZP ve KS uygulanmalarının, EHA'a olan katkısı ve hastalığın doğal seyrinden farklı histopatolojik bulguları incelenerek; tedavi başarısının üstünlüğü değerlendirildi.

Elde ettiğimiz sonuçlar klinik çalışmaları etkileyecek ve bilimsel katkı sağlayacaktır. Henüz bir hayvan modelinde Donuk omuzun tedavisinde TZP'nin KS ile kıyaslaması ve başarılı olup olmadığı araştırılmamıştır . Bu açıdan bizim çalışmamız bilginiz dahilinde literatürdeki ilk çalışmadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Donuk Omuz Hastalığı

2.1.1. Tanı

Ağrı ve eklem hareket açıklığında kısıtlılık ile seyreden Donuk omuz, glenohumeral eklemin sık karşılaşılan fakat etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamamış rahatsızlığıdır. Benign bir patoloji olan Donuk omuzunda şikayetler genellikle 1-3 yılda kendi kendine geriler, bununla birlikte bazı olgularda bu sürenin 10 yıla kadar uzadığı bildirilmiştir (12).

Temel olarak aktif, üretim gücünü oluşturan 40-60 yaş arası bireylerde görülen ve günlük yaşamı ileri derece kısıtlayan bu hastalıkta iyileşme sürecinin 3-10 yıla kadar uzaması göz önüne alındığında gerek hasta gerekse toplum için önemli sosyo-ekonomik kayıplara ve psikolojik sorunlara yol açan Donuk omuzunun tedavi edilmesi bir zorunluluktur.

Donuk omuzu primer ve sekonder olarak sınıflandırılmıştır. Primer Donuk omuzu yaklaşık %2–5 sıklıkla bildirilen, omuzun aktif ve pasif hareketlerinde ilerleyici kısıtlılık ile seyreden bir tablodur. Kadınlarda sık olmakla beraber 35–70 yaş arasında ve baskın olmayan tarafta daha sık izlenir (13).

Etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, diabetes mellitus, otoimmün hastalıklar, tiroid disfonksiyonu, dupuytren kontraktürü, otoimmün hastalıklar ve meme kanseri ile ilişkili bulunmuştur (14).

Sekonder Donuk omuzu, intrinsek, ekstrinsek ve sistemik etkiler sonucu oluşur; muhtemel nedenler, makrotravma, mikrotravma, cerrahi sonrası işlemler ve uzun süren tespit olarak sayılabilir.

2.1.2. İsimlendirme ve Tarihçe

İlk olarak 1872 yılında Duplay (15) tarafından tanımlanan ve “skapulohumeral periartrit” olarak isimlendirilen bu hastalıkta “Donuk omuzu” (frozen shoulder) terimini ise 1934 yılında Codman kullanmıştır (16). Ağrılı omuz sendromu olarak da bilinen Donuk omuzu da Codman’ın tanımladığı; omuz hareketlerinde genel kısıtlanma, idiyopatik etyoloji, ağrılı başlangıç, normal X-ray görüntülemesi gibi temel kriterler

günümüzde de geçerliliğini korumaktadır. Kapsülün kronik inflamasyonu, subsinovyal katmanın kapsüler kalınlığının artması, kapsülün kendi üzerine ve humerusun cerrahi boynuna yapışması ve kapsülün fibrozisi ile seyreden, ilerleyici spesifik patoloji olan “adheziv kapsülit” terimini ise ilk olarak 1945 yılında, kontrakte kapsüler biyopsi materyallerinde yaptığı araştırma sonrası gözlemlediği enflamasyon nedeniyle Neviaser kullanmıştır (17,18). Literatürde adheziv kapsülit ile frozen shoulder terimleri eş anlamlı olarak kullanılmaktadır.

Pubmed’de yapılan [("adhesive capsulitis") OR "(frozen shoulder")] aramasında 1946-2017 yılları arasında 1414 makale bulunmuştur. Arama sonucunda yalnızca “frozen shoulder” yazıldığında 831 makale ile sonuçlanırken, tek başına “adhesive capsulitis” araması 756 makale ile sonuçlanmıştır. Bundan yola çıkarak her iki terminoloji de literatürde yaklaşık olarak aynı sıklıkta kullanılmıştır denilebilir.

2.1.3. Epidemiyoloji

Prevalansı tam olarak bilinmemektedir. Genel popülasyonun %2–5’ini etkilediği bildirilmiştir. Ancak diyabetik hastalarda yaygınlığı %11 olarak bildirilmiştir. Tip I diyabetli hastaların yaşamları boyunca Donuk omuzu geçirme şansı yaklaşık %40’tır. Hipertiroidili ve hipertrigliseridemili hastalarda da sık görülür. Irk farklılığı gösterilememiştir (19,20).

2.1.4. Etiyoloji

Etyolojisi tam olarak aydınlatılmamış olmasına karşın hastalığının gelişiminde birçok faktör etkilidir (Tablo 2.1). Bunlardan biri Travell tarafından teorize edilmiştir (21). Gelişen fibrozisin oluş mekanizmasını tanımlayan bu teoriye göre, myofasial ağrı sendromunda tetik noktalardan biri olan subskapularis kası uyarıldığında sempatik vazomotor aktivitenin baskınlaştığı bunun sonucunda eklem çevresi dokularda hipoksi geliştiği ve bunun da omuz kapsülünde fibröz proliferasyona yol açtığı belirtilmektedir.

Etyolojide bir başka suçlanan faktör ise artmış serum lipidleri özellikle de yüksek seyreden trigliserit ve kolesterol seviyeleridir. Donuk omuzun yanı sıra DM ve Dupuytren kontraktüründe de tespit edilen hiperlipidemi kimi yazarlara göre bu hastalıkların gelişiminde ortak etyolojik ajan olarak değerlendirilmektedir (22,23).

Tablo 2.1: Donuk omuzun etyolojisinde rol alan faktörler

HLA-B27
Ig A düşüşü
Artmış immünkompleksler – CRP
Myofasial ağrı sendromu
Glukozaminoglikan artışı
Glikopeptit azalışı
Hiperlipidemi
DM
Hipo-Hipertiroidizm
Travma
Fibromatozis
Farmakolojik ajanlar
Hipoadrenalizm

Donuk omuzun da başlıca ve belki de en önemli faktör, eşlik eden diabetir. Diabet hem Donuk omuzu için en önemli etyolojik faktör hem de hastalığın seyri ve tedaviye yanıt açısından kötü prognostik faktördür (24). Buna ek olarak Donuk omuzu tanısı almış hastaların %28’inde bozulmuş glukoz toleransı tespit edilmiştir (25). Diabetin yanı sıra hipotiroidizm, hipertiroidizm ve hipoadrenalizm gibi bazı sistemik endokrin hastalıklarda da Donuk omuzu görülme sıklığı artmaktadır (26). Travma ve cerrahi sonrası uzamış immobilizasyonun da Donuk omuzu gelişimine neden olabileceği belirtilmiştir (26). Ayrıca özellikle ülkemizde sık kullanılan antitüberküloz ajanlar, HIV tedavisinde kullanılan proteaz inhibitörleri ve barbiturat gibi bazı farmakolojik ajanlar da etyolojide suçlanmıştır (27).

Olası bir tedavi yöntemi geliştirmek için etyopatogenezin ortaya konması özellikle önemlidir. Bu noktada fibrozis gelişimiyle ilişkili olduğu bilinen Donuk omuzu da günümüzde üzerinde sıkça araştırma yapılan konulardan biri kollajen remodeling’ini etkileyebilecek ajanların geliştirilmesidir.

Bilindiği gibi local metalloproteinazenzimlerinin temel işlevi bağ doku matriksinde degradasyonu sağlamaktır. Donuk omuzun metalloproteinaz inhibitörleri ile tetiklenebilir olduğu bildirilmiştir (28). Metalloproteinaz inhibitörü olarak etkieden

metalloproteinaz mRNA'nın Donuk omuzun eklem kapsülünde artmış olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (23).

2.1.5. Sınıflama

Hastalık primer (idiyopatik), sekonder ve tersiyer Donuk omuzu olarak üç alt başlıkta sınıflandırılabilir. Primer olgularda altta yatan bir hastalık yoktur. Sekonder olanlar ise kendi içinde DM, hipohipertiroidizm, hipoadrenalizm gibi sistemik hastalıklara bağlı gelişen Donuk omuzu, humerus kırığı, parkinsonizm, servikal disk hastalığı ve kardiyopulmoner hastalıklar gibi ekstrinsik sebepler sonrası görülen Donuk omuzu ve rotator manşet tendiniti veya yırtığı, biceps tendiniti, kalsifik tendinit ve akromioklaviküler tendinit gibi intrinsik faktörlerin yol açtığı Donuk omuzu olmak üzere üç alt gruba ayrılabilir. Tersiyer Donuk omuzu ise ameliyat sonrası veya kırık sonrası oluşur. Bazı durumlarda hasta kesi olarak bir sınıfa dahil edilemez. Örneğin küçük bir rotator manşet yırtığı ya da tendiniti gibi nedenlerle gelişen sekonder Donuk omuzu olguları çoğunlukla primer gibi tedavi edilmektedir (26). Ayrıca diyabetik hastalarda gelişen Donuk omuzu da sekonder olarak değerlendirilmekle beraber hem primer hem sekonder olgularda farklı olarak tedavi edilmektedir. Özellikle insülin bağımlı DM olanlarda eklem hareket kaybı daha ciddidir ve cerrahi dışı tedavilere direnci daha fazladır (29), bu nedenle diyabetik zeminde gelişen Donuk omuzu ayrıca değerlendirilmelidir.

2.1.6. Evreleme

Günümüzde adezif kapsülit sınıflaması dört evreden oluşur; semptom, bulgular ve histopatolojik değişiklikler her evrede farklılık göstermektedir (30).

Bu evreler, iyi tanımlanmış, farklı, ayrı evreler olmaktan çok, aynı hastalığın birbirini izleyen evreleridir.

Evre I

Başlangıç evresi olarak isimlendirilir. Hasta, aktif ve pasif hareket kısıtlılığından yakınmaktadır. İstirahat halindeyken ve ani hareketler sonrası ağrı vardır. Semptomlar üç aydan az bir süredir devam etmektedir. İstirahat sırasında ve gece ağrısı vardır. İlerleyici bir hareket kaybı vardır; öne fleksiyon, abd., iç ve dış rotasyon en kısıtlı olanlardır. Anestezi altındaki muayene ve eklem içi lokal anestezi enjeksiyonunu takiben hareket

kaybı tamamen düzelir veya minimal bir hareket kaybı kalır. Artroskopik muayenede yaygın hipervasküler glenohumeral sinovit izlenir. Patolojide, nadir inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hipertrofik-hipervasküler sinovit ve normal kapsül vardır.

Evre II

Donma evresi olarak isimlendirilir. Semptomlar 3–9 aydan beri mevcuttur; kronik ağrı ve hareketlerde ilerleyen kayıp vardır. Gece ve istirahat ağrıları vardır ve ciddi uyku bozukluğuna yol açar. Öne fleksiyon, abd., iç ve dış rotasyon ileri derecede kısıtlıdır. Eklem içi lokal anestezi enjeksiyonu sonrası ya da skalen blok sonrası muayene ile hareketlerde kısmi bir düzelme sağlanabilir ve ağrı düzelebilir. Artroskopide yaygın, pedinküler sinovit ve gergin kapsül vardır. İnflamatuvar infiltrasyon yoktur ve hipertrofik-hipervasküler sinovit ile perivasküler ve subsinovyal nedbe formasyonu ve kapsüler fibroplazi vardır.

Evre III

Donuk evre olarak isimlendirilir. Gece veya istirahat halinde ağrı minimaldir fakat belirgin bir hareket kısıtlılığı vardır. Semptomlar yaklaşık 9–15 aydır mevcuttur. Lokal anestezi enjeksiyonu veya anestezi altındaki muayene ile hareket açıklığı değişmez. Artroskopide hipervasküler olmayan fibrotik sinovyumun artıkları izlenir. Kapsüller biopside, yoğun, hipersellüler kollajen doku ve belirgin hipertrofi veya hipervasküleritesi olmayan ince sinovyal tabaka izlenir.

Evre IV

Çözülme evresi olarak adlandırılır. Minimal ağrı ile birlikte omuz hareketlerinde ilerleyen bir düzelme mevcuttur. Bu dönemde hastalara nadiren cerrahi uygulanıldığından, artroskopik veya patolojik bilgi yoktur (31).

2.1.7. Patoanatom

Neviaser (17) tarafından inflamatuvar bir hastalık olarak tanımlanan ancak bunun günümüzde diğer araştırmacılarca hala sorgulandığı bir durum olan Donuk omuzunda kapsül örnekleri incelendiğinde yoğun fibroblast ve myofibroblast hücreleri ve aralarında zengin kollajen materyal içermesiyle Dupuytren hastalığındakine benzer bir şekilde kapsüller fibrozis gözlenir (32,33). Fibroblastların myofibroblastlara transforme olmasının eşlik ettiği aktif fibroblastik proliferasyon gözlenir. Artmış kollajen birikimi sitokin cevabını tetikler ve bu da anjiogenezi artırır, anjiogeneze ise Donuk omuzunun ilk

aşamasında etkindir. Kapsül biyopsileri kronik inflamatuvar infiltrasyonu, sinovyal dizilim kaybını, orta derece artmış subsinovyal fibrozisi ve perivasküler lenfosit reaksiyonunu gösterebilir (17) Eklem kapsülünde glikozaminoglikanlar artmış, glikopeptitler ise azalmıştır. Temel patoloji kapsüloligamentöz dokularda skar ve kontraktürdür. Kontraktür özellikle sınırlarını inferiorda subskapularisin üst kenarı, superiorda supraspinatusun anterior kenarı ve medialde korakoid çıkıntının oluşturduğu ve içerisinde kapsül dokusu ve süperior glenohumeral ligamanın bulunduğu rotator interval ve korakohumeral ligamenttedir. Rotator intervalindeki kalınlaşma özellikle eksternal rotasyon başta olmak üzere tüm planlarda ileri derecede hareket kaybına yol açar. Bu durum (korakohumeral ligamentteki kalınlaşma ve kontraktür sonrası dış rotasyonunun kısıtlanması) Donuk omuzu için patognomoniktir(34). Normal omuz ekleminin volümetrik kapasitesi 28-35 ml dir. Donuk omuzu da kapsüler esneklikteki azalma nedeniyle eklem boşluğu sadece 5-10 ml sıvının enjeksiyonuna izin verecek kadar daralmıştır (26). İntraartiküler hacimde gelişen bu azalmanın glenohumeral eklemden hareket kaybına etki eden faktörlerden biri olduğu belirtilmektedir (35).

2.1.8. Teşhis

Teşhis büyük oranda hasta hikayesi ve klinik muayeneye dayanır. Hastalar genellikle deltoidin insersiyosunun etrafında yoğunlaşan ve aşağıya doğru yayılan şiddetli ağrıdan yakınır. Ağrı gece daha fazla şiddetlenir ve hastanın günlük yaşam aktivitelerini yapmasını engeller (36,37). İlerleyen dönemde ise ağrı ile birlikte hareket kısıtlılığı gelişir. Klinik muayenede servikal patolojiler ve nörolojik problemleri dışlamak için üst ekstremitenin tamamı muayene edilmelidir. Donuk omuz muayenesinde tipik olarak hem aktif hem de pasif elevasyonda 120°'nin altında belirgin kısıtlılık görülür. 18-21 Fakat bu kısıtlılık dereceleri donuk omuzun hangi evrede olduğuna göre değişiklik gösterir. Skapula genellikle aktif omuz fleksiyonuna eşlik eder (38,39). Glenohumeral eklem hareketlerinin son noktasındaki direnci/kısıtlılığı anlayabilmek için pasif hareketler hasta sırt üstü yatarken değerlendirilmelidir. Genellikle pasif glenohumeral hareketler ağrı veya kas spazmı dolayısıyla çok kısıtlıdır. Cyriax donuk omuzun teşhisinde kapsüler paterni tanımlamıştır (40). Bu tanıma göre eksternal rotasyon, abduksiyondan ve internal rotasyondan daha kısıtlıdır. Kol yanda

iken eksternal rotasyonun %50'den az olması veya 30°'nin altında olması donuk omuzun en önemli bulgusu dur (39,41,42,43,44). Kas kuvvetinde zayıflık ise omuzun internal rotatörlerinde ve elevatörlerinde görülür (45,46). Donuk omuzda teşhis genellikle klinik olarak koyulsa bile görüntüleme yöntemleri diğer patolojileri dışlamak için kullanılır. Radyografi ile kırıklar, artrografi ile glenohumeral eklem volümü ortaya koyulabilirken, manyetik rezonans görüntüleme ile ise rotator manşet, labrum ve kapsül gibi yumuşak dokulardaki patolojiler incelenir (39,47,48). donuk omuz hastalarının yaklaşık %30'una rotator manşet patolojisi de eşlik ettiğinden son yıllarda ultrason ile görüntüleme önem kazanmıştır (49). Donuk omuz primer (idiopatik) veya sekonder olabilir. Sekonder nedenler pek çok patolojiden kaynaklanabilir (50,51). Primer Donuk omuzda eksternal rotasyon kısıtlılığı (anterior kapsül kısalığı), sekonder Donuk omuzda internal rotasyon kısıtlılığı (posterior kapsül kısalığı) daha belirgindir.

2.1.9. Ayırıcı Tanı

Ayırıcı tanıda anamnez, fizik muayene ve görüntüleme yöntemlerinden yararlanılabilir. Kilitli posterior dislokasyon ve glenohumeral osteoartrit'in yol açtığı dış rotasyon kaybı nedeniyle bu hastalıklar Donuk omuz ile karışır ve ayırıcı tanıda X-ray bulguları yardımcıdır. Ayrıca glenohumeral artrit'te jeneralize ağrı ve krepitasyon vardır. Akromioklaviküler artrit ile ayırıcı tanısında ise hassasiyetin lokalizasyonu ve cross-body add. kısıtlılığının varlığı önemlidir. Buna ek olarak X-ray bulguları da bu olguların belirlenmesinde yol göstericidir. Kalsifik tendinitte tipik radyolojik görünüm vardır. İmpingemet sendromu ile ayırımında ise impingement bulgu ve testlerinden yararlanılır. Rotator manşet yırtıklarında MR tanıda yardımcıdır. Ayrıca proksimal humerus kırıkları (özellikle tuberkulum majus kırıkları), enfeksiyonlar, tümörler, servikal spinal patolojiler Donuk omuz ile karışabilen ve ayırıcı tanısı yapılması gereken hastalıklardandır (Tablo 2.2).

Tablo 2.2: Donuk omuz ayırıcı tanısı

Tanı	ayırıcı tanıda yardımcı bulgular
Kilitli posterior dislokasyon	X-ray, selektif dış rotasyon kaybı
Glenohumeral artrit	X-ray, selektif dış rotasyon kaybı, generalize ağrı, krepitasyon
Akromioklavikular artrit	lokalize hassasiyet, kısıtlı cross-body add.
Omuz sıkışma sendromu	pozitif sıkışma testleri
Servikal spinal patoloji	servikal tutukluk, üst ekstremitte patolojisi
Kalsifik tendinit	tipik X-ray
Proksimal humerus kırıkları	X-ray
Rotator manşet yırtığı	MR
Enfeksiyon	lokalize ısı artışı, kızarıklık
Tümör	palpasyonla kitle

2.1.10. TEDAVİ

Donuk omuzda tedavi planına başlamadan önce, hastalığın hangi aşamada olduğunun belirlenmesi uygulanan tedavinin başarısı yönünden önem arz etmektedir. Bu amaçla, uygulanacak tedavinin planlanmasından önce hastanın semptomlarının, tıbbi geçmişinin ve omuz eklem hareketlerinin değerlendirilmesi gerekir. Donuk omuzda, hastalarda doğal seyir tam olarak ortaya konmamış olsa da, genellikle ortalama 2-3 yıl içinde iyileşme olabileceği belirtilir. Son çalışmalarda ise artık yazarlar bu süreler konusunda daha az iyimser sonuçlar bildirmektedirler (52). Tedavinin amacı, hastaların en önemli şikayetlerinden biri olan ağrının kontrolü ve eklem hareket ve gücünün yeniden kazanılmasıdır. Donuk omuz tedavisinde farklı tedavi yöntemleri tanımlanmıştır. Tedavileri cerrahi dışı ve cerrahi şeklinde iki ana başlığa ayırabiliriz.

Cerrahi dışı tedavi seçenekleri

Başlangıç tedavi yöntemi konservatif tedavidir (53).

Nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar

Nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar, inflamasyonun ve ağrının önlenmesi amacıyla erken inflamatuvar dönemde kullanılabilir (54). İlaçlar genellikle fizyoterapistler tarafından uygulanan veya öğretilen egzersizler ile birlikte uygulanır. Bu tedavi yöntemi çoğunlukla Donuk omuzun ilk aşamasında uygulanır. Egzersizler ağrılı olur ve öncesinde omuza uygulanan sıcak uygulama ve ağrı kesicilerin desteği ile hastaların egzersizlerini daha rahat yapmaları sağlanır.

Fizik tedavi

Ağrı kontrolünden sonra fizik tedavi-egzersiz uygulamaları ile eklem hareketini arttırmak hedeflenir. Aktif yardımcı ya da pasif germelerle, omuza elevasyon, iç ve dış rotasyon, cross-body addüksiyonu uygulanır. Bu egzersizlerin gün içerisinde 4-5 kez, 5-10 dakika süreyle uygulanması ve eklem hareketlerinin ağrılı noktayı geçecek şekilde yapılması önemlidir. Egzersizlerden önce sıcak uygulama ve sonrasında soğuk uygulama yapılabilir.

Kortikosteroid enjeksiyonu

Fizik tedavi ile yeterli cevap alınamadığı veya yeterli yapılmadığı düşünüldüğünde, takviye olarak enjeksiyon denenebilir. Evre 1’de ve Evre 2’nin başlangıcında inflamasyonun baskılanması amacıyla kullanılabilir. Glenohumeral eklem KS enjeksiyonu ile birlikte egzersiz uygulaması günümüzde en çok bilinen kombinasyonlardan biridir (55).

Eklem içi uygulama nedeniyle klasik KS komplikasyonları görülmez. Radyolojik rehberlik olmadan glenohumeral eklem KS enjeksiyonu yerine, ulaşımın daha kolay olduğu subakromiyal eklem enjeksiyon sonrasında da Donuk omuz semptomlarının azaldığı yönünden bazı yayınlar bulunmaktadır (56,57). Oh ve ark. bir çalışmada, KS enjeksiyonu bir grupta glenohumeral eklem ve diğer grupta ise subakromiyal eklem yapmışlardır. Her iki gruba non-KS anti-inflamatuvar ilaçlar ve egzersizler de verilmiştir. Sonuçta istatistiksel olarak bir fark olmamakla birlikte, subakromiyal grubunda kısa dönem takip sonuçlarının daha iyi olduğu görülmüştür (55).

Oral kortikosteroid tedavisi

Oral KS tedavisi, erken dönemde ağrı kontrolünde fayda sağlamaktadır. Oral prednizolon ile plasebonun karşılaştırıldığı, 42 hastanın değerlendirildiği randomize çift kör çalışmada, erken dönemde semptomlarda azalma saptanmış ancak uzun dönem takiplerinde fark görülememiştir (58).

Botulinum toksini uygulaması

Chen, Donuk omuzda eklem içi botulinum toksin enjeksiyonunu araştırmıştır. Botulinum toksin enjeksiyonunun KS’e göre ağrı kesici etkisinin daha uzun sürdüğünü

ve yan etkilerinin daha az olduğunu, etkili ve alternatif bir tedavi olabileceğini belirtmiştir (59).

Hydrodilataşyon, distansiyon artrografisi

Başka bir yöntem ise distansiyon artrografisidir. Bu uygulamada eklem içerisine 30 cc sıvı verilir ve işlem sırasında resesusların açıldığı artrografik olarak izlenir. Distansiyon artrografisi ardından yapılan fizyoterapi ve sadece fizyoterapinin karşılaştırıldığı bir çalışmada 8 hafta sonunda distansiyonu takiben fizyoterapinin tek başına göre fizyoterapiye göre ağrıyı azaltmada ve hareket açıklığını arttırmada daha efektif olduğu gösterilmiştir (60).

Genel anestezi altında manipülasyon (GAM)

3-6 ay süreyle uygulanan konservatif tedaviye cevap vermeyen olgularda önerilir. Hastalığın inflamasyon fazında kesinlikle yapılmamalıdır. Hızlı düzelme sağlar, bununla birlikte kontrollü gevşeme sağlanamaz ise humerus kırığı, glenoid halka kırığı, rotor manşet yırtığı ve çok nadir de olsa instabilite gibi komplikasyonlar gelişebilir (26). Önceki manüplasyondan fayda sağlanamamış olması, hastada ciddi osteopeni ve rotator manşet yırtığı bulunması ve hastanın uzun süreli diyabetik hasta olması bu uygulama için kontrendikasyonlardır. Manipülasyon genel anestezi altında ve skapular hareketi engellemek için hasta supin pozisyonda yatarken yapılmalıdır. Manüplasyonda sınır diğer omuz ile simetrik eklem hareket açıklıklarına ulaşılmasıdır. Eğer yeterli gevşetme sağlanamazsa artroskopik gevşetmeye geçilebilir. Manipülasyonda önce kol abduksiyona zorlanır ardından öne elevasyon yapılır, kol gövdeye yapışıkken yani nötralde dış rotasyona zorlanır ardından kol 90° abduksiyonda sırası ile dış ve iç rotasyona alınır (61). İşlem sırasında uygulayıcının rahatlıkla duyabileceği şekilde kapsülün yırtılma sesi alınır. Kiwimaki ve ark. GAM ile ev egzersiz programlarını karşılaştırmıştır, ilk 3 ay sonunda GAM sonuçlarının istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha iyi olduğunu bununla birlikte 1 yıllık izlem sonunda aralarında belirgin fark olmadığını tespit etmişlerdir (62). Dodenhoff ve ark. primer Donuk omuzlu 37 hastanın 39 omuzunda uyguladıkları GAM'ın erken iyileşme sağladığını göstermişler ancak GAM'ın ev egzersiz programlarına üstün olmadığını belirtmişlerdir (63), ayrıca DM'li hastalara uygulanan GAM'da kötü sonuçlar ve yüksek rekürrens görülmüştür (64).

Cerrahi tedavi

Anti-inflamatuvar ilaçlara, eklem içi enjeksiyonlara, fizik tedavi veya manipülasyonlara rağmen hastanın şikayetlerinde azalma olmuyorsa, özellikle üçüncü aşama omuzlarda cerrahi tedavi seçeneği düşünülmelidir (65). Bu aşamada hasta ile doktorun cerrahi seçenekleri ve cerrahi riskleri mutlaka konuşmalıdır. Cerrahi tedavilerin amacı, sert olan omuz eklemi kapsülünü gevşetmek ve germektir. Günümüzde en çok kullanılan yöntemlerin başında anestezi altında manipülasyon ve omuz artroskopisi gelir.

Omuz artroskopisi

Anestezi altındaki manipülasyonlarda oluşabilecek komplikasyonlardan dolayı daha güvenli olduğu için omuz artroskopisi tercih edilebilir. Skalen blok veya genel anestezi altında cerrahın alışkın olduğu pozisyonda, lateral dekubit veya şezlong pozisyonunda uygulanır. Cerrahinin başarısı iyi bir görüntüye bağlıdır. Bu amaçla artroskopik pump setinin 50–10 mmHg arasında kullanılması tavsiye edilir. Standart cerrahiye, omuz artroskopisinde olduğu gibi posterior portalden başlanır. İlk olarak biseps uzun başı görüntülemesi ile başlanır. Yeterince gevşetme yapılanı kadar eklem çok fazla kontrakte olduğu için, infra glenoid aralığı değerlendirmek zordur. Anterior portalden gönderilecek radyofrekans probu ile labrumun kenarından orta gleno humeral ligamanı kesilerek, gevşetmeye başlanır. Subskapularis genellikle skar dokusu ile kaplıdır. Tendonun parlak lifleri görüne kadar skar dokusu eksize edilmelidir. Ardından rotator aralık, supraspinatus tendonun ön kısmından gevşetilir. Supraspinatus tendonuna hasar vermemek için dikkat edilmelidir. Tüm bu dokular korakoid sürecin inferolateral kemik yüzey görüntülene kadar kesilip çıkartılır. Kapsülotomi bisepsin uzun başının yapışma yerinden posterior olarak saat dokuz hizasına kadar yapılır. İnferior kapsülün altından aksiller sinir geçmesi nedeniyle koter burada kullanılmamalıdır (65). Omuz artroskopisine izin vermeyecek düzeyde aşırı kontrakte eklemlerde açık gevşetme de uygulanabilir. Kapsülün ne kadar gevşetileceği konusunda tartışmalar mevcuttur. Anterior ve inferior kapsüller gevşetme nispeten sık yapılırken posterior gevşetme ilerleyici internal rotasyon kısıtlılığında yapılabilir. Aşırı

gevşetmenin aksiller sinir felci, omuz dislokasyonu gibi potansiyel artsorunları bulunmaktadır (14).

Cerrahi sonrası

Cerrahi işlemler sonucunda kazanılan eklem hareketlerinin devamlılığını sağlamak amacıyla fizik tedaviye, cerrahi sonrası hemen başlanması gerekmektedir.İyileşme dönemi altı hafta ile üç ay arası sürebilir.Günümüzde Donuk omuz ile ilgili çalışmalar yapılmış ve konu ile ilgili birçok tedavi yöntemi bulunmuştur.Tedavi planlaması öncesinde en uygun tedavinin verilebilmesi için hastanın iyi bir şekilde değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

2.2. Trombositten zengin plazma

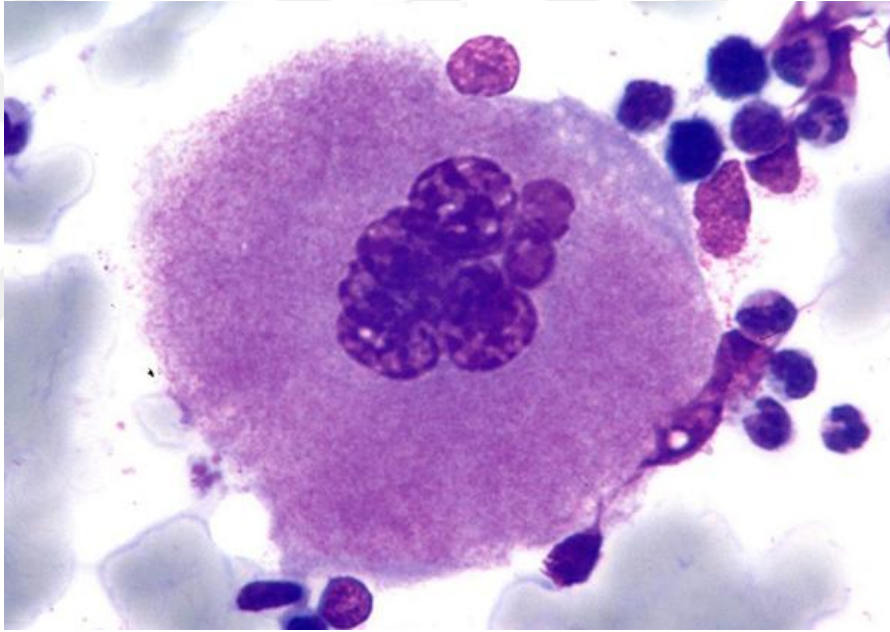
Trombositten zengin plazma (platelet rich plazma - PRP) tam kanın santrifüj edilmesi ile elde edilen ve tam kandan daha yüksek konsantrasyonda platelet içeren plazma komponentidir (66).İçeriğinde çok sayıda büyüme faktörü bulundurması çeşitli kas iskelet sistemi hastalıklarının tedavisinde PRP enjeksiyonlarının kullanımını getirmiştir.

Histopatolojik kanıtlar, kronik yumuşak doku dejenerasyonunda inflamasyondan ziyade tamir mekanizmalarındaki yetersizliğin patolojik süreçte rol oynadığını göstermektedir (67,68). İyileşme sürecine etkisi olduğu düşünülen büyüme faktörlerinin, lezyon yerine lokal olarak enjekte edilerek tendon ve kıkırdak doku rejenerasyonunu artırıcı etkisi ile tedavide potansiyel olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (68).

TZP kullanımındaki asıl amaç, Trombositlerin alfa granüllerinin zengin içeriklerinin ortama tedavi amaçlı salınımının sağlanmasıdır. Trombositlerde bulunan alfa ve dens granüller ve bu granüllerin içerikleri,Trombositlerin temel fonksiyonları yanında, bugün yeni tanımlanmış inflamasyon, anjiyogenez, ateroskleroz ve yara iyileşmesi gibi farklı süreçleri gerçekleştirebilmek açısından çok önemlidir (69). Son yıllarda, kas-iskelet yaralanmalarında ve sorunlarında TZP uygulamaları ile ilgili birçok klinik araştırmanın sonuçlarında umut verici gelişmeler belirtilmiştir.“Ne ararsan kendinde ara” özdeyişinin doğrultusunda, kendi organizmamızı tanıdıkça, daha yeni yöntem ve uygulamaların gerçekleşeceği bir dönem bizi beklemektedir.

2.2.1. Trombositlerin yapımı ve yapısı

Megakaryositler, kaynağını pluripotent kök hücrelerden alan, hücre bölünmesi olmaksızın çok sayıda DNA replikasyonu (kopyalanarak çoğalma) ile matür (olgun) hale dönüşen sıra dışı hücrelerdir. Asıl önemli rolleri, dolaşıma trombositleri salan çok özgün hücreler olmalarıdır (70). İnsan bedeni, her gün yaklaşık 100 milyar trombosit yapar. Bunların çok az bir kısmı hemostazda kullanılır; geriye kalan trombositler karaciğer ve dalak sayesinde dolaşımdan uzaklaştırılır.



Şekil 2.1: Megakaryosit

Trombositlerin dolaşımdaki yaşam süreleri yaklaşık 10 gündür (71). Trombositlerin dolaşımdan uzaklaştırılmalarında (klirensinde), membran proteinlerinin karbonhidrat modifikasyonları oldukça önemlidir. Özellikle membran proteinlerinin glikozillenmiş kısımlarının, sialik asit başlığıyla korunması gerekir. Trombositin yaşlanmasıyla birlikte ortaya çıkan “desializasyon” yani sialik asidin kaybı, hücrenin dolaşımdan uzaklaştırılması için bir sinyal olarak algılanır ve retiküloendoteliyal sistem tarafından dolaşımdan uzaklaştırılır (72). Hücrelerin en önemli elemanları kuşkusuz

proteinlerdir. Her bir hücrenin üstlendiği görevine göre yapısında yer alan protein profili farklıdır ve bu proteinlerin hepsine, o hücrenin proteom'u adı verilir. Trombositlerde nükleus olmadığı için, protein profilinin çok sınırlı ve statik olduğu düşünülebilir. Ancak, megakaryositlerden kendilerine miras kalmış olan proteinler ve intrasitoplazmik mRNA'lar incelendiğinde, Trombositlerin çok zengin bir protein profiline sahip olduğu görülür (73). Sonuç olarak, trombosit protein profilinin kaynağı megakaryositler ve plazmadır (74).

2.3. Kortikosteroidler

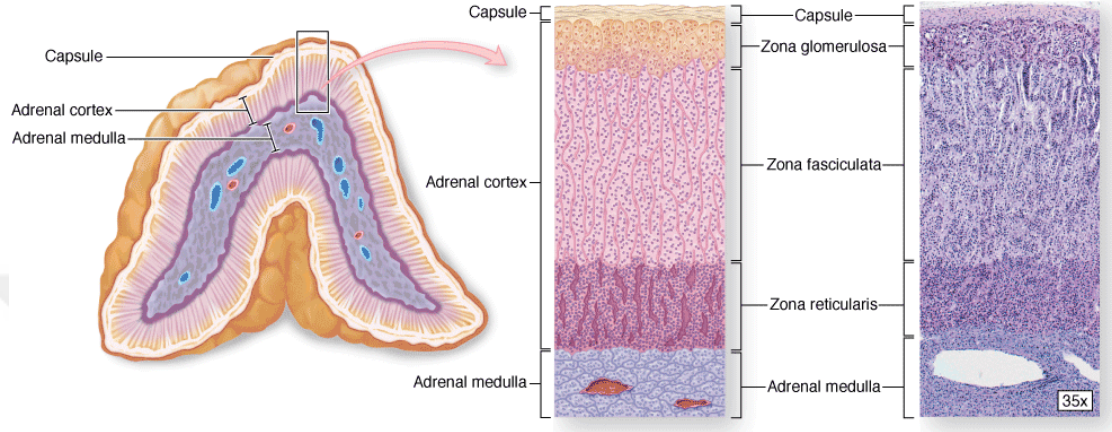
Steroidler hormonlar, vitaminler, ilaçlar ve vücut içerikleri gibi çok geniş bir aileyi içeren moleküllerin genel adıdır. Antiinflamatuvar, antiallerjik ve immünosupresif etkileri nedeniyle kortikosteroidler sık kullanılan ilaçlardır. Tedavide kullanımı 1940'lara dayanmaktadır.

Tarihte kortizonu elde eden Tadeusz Reichstein, Edward Calvin Kendall ve Philip Showalter Hench, adrenal korteks hormonları üzerindeki yoğun çalışmaları sonucunda 1950 yılında fizyoloji ve tıp alanında Nobel ödülünü kazanmışlardır (75). Yıllar içinde daha etkili ve daha az yan etkisi olan birçok türevleri üretilmiştir.

Septik olmayan, lokal eklem inflamasyonunda yaklaşık yarım yüzyıldır mikrokristal kortikosteroidler basit, palyatif, göreceli ve güvenilir bir ajan olarak kullanılmaktadır (76). Steroidlerin lokal kullanımını ilk kez uygulayan Hollander depo kortikosteroidlerle olan yirmi yıllık deneyimini 1970 yılında yayınlamıştır (77). Lokal steroid enjeksiyonu tendon, bursa ve eklemlerin inflamatuvar hastalıklarında etkili bir tedavi yöntemidir. Ancak granülasyon dokusu oluşumunu engellediği, ligamentlerin biyomekanik özelliklerini değiştirdiği de deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (78).

Glukokortikoidler (kortizol) ve androjenler (androstendion, dehidroepiandrosteron) adrenal korteksin zona fasikülata ve zona retikularis tabakalarında, mineralokortikoidler ise (dezoksikokortikosteron ve aldosteron) zona glomeruloza tabakasında (Şekil 2.2) kolesterolden sentez edilirler. Plazmada kortizolün %95 i proteinlere bağlı taşınır: kortikosteroid bağlayıcı globulin (CBG) veya transkortin ve albümin. Kortizol sağlıklı, stres altında olmayan insanlarda pituitar glanddan salgılanan kortikotropinin etkisiyle adrenal korteksten diürenal olarak (sabah 08.00

değerleri 24.00 değerlerinin 10 katıdır) salgılanmaktadır. Günlük üretim 8-13 mg olup, yoğun stres altında 10 kattan fazla artmaktadır (225-440 mg/g) (79).



Source: Mescher AL: *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition*: <http://www.accessmedicine.com>
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Şekil 2.2: Adrenal bez histolojisi ve üretilen hormonların yeri

KS'ler oldukça güçlü immünsüpresif ve birçok organda antiinflamatuvar etki gösterir. Akut ve kronik inflamasyonu etken ne olursa olsun (mikroorganizma, immünolojik, kimyasal, ısı ve mekanik etkenler gibi) inhibe ederler. Burada inflamasyonun erken histolojik belirtilerini (kapiller dilatasyon, damar çeperine fibrin çökmesi, lokal ödem, lökositlerin inflamasyon alanına migrasyonu) ve geç histolojik belirtilerini (fibrozis, kapiller proliferasyon, kollajen birikmesi) oluşturan tüm olayları inhibe ederek etki ederler. İmmün sistemin birçok hücrelerine etki ederek hem hücre aracılıklı immün yanıtı hem de antikor üretimini bozar (80, 81).

Ortopedik uygulamalarda KS'ler anti-inflamatuvar özellikleri sebebiyle kas iskelet sisteminin pek çok farklı hastalığında kullanılır. Bu anti-inflamatuvar etkiler, lökotrienler, prostoglandinler ve trombaksanlar olarak adlandırılan çeşitli moleküllerin sentezinin inhibisyonuyla sonuçlanır. Bu hareket fosfolipaz A2 inhibisyonuna ikincil olarak araşidonic asit metabolizmasının hem COX hem de lipooksigenaz inhibisyonu sonucu ortaya çıkar. ortopedistlerin büyük bir kısmı çeşitli kas iskelet sistemi hastalıklarının tedavisinde KS enjeksiyonlarını kullanmaktadırlar. KS enjeksiyonları eklem-içi, bursa

içi ve tendon kılıfına uygulanabilir. Çeşitli enjekte edilebilen KS'ler değişik çözünürlük ve yarılanma özelliklerine sahiptirler. Genellikle kısa ve orta etkili olanlar (çoğu suda çözünür) akut durumlar için seçilirken uzun etkili olanlar (suda çözünmez) kronik durumlar için tercih edilir. Kısa ve uzun etkili olanların karışımı ise daha çok inflamatuvar durumlarda kullanılır.

Eklem içi enjeksiyonu

Eklem içi KS enjeksiyonu osteoartrit ve romatoid artritte lokal etkinin maksimum (max.) , sistemik etkinin minimum (min.) olması sebebiyle ilave tedavi seçeneği olarak kullanılırlar. KS'lerin eklem içine uygulanmasıyla anjiogenesis baskılanır, eklem nötrofil girişi ve inflamasyon mediatörleri üretimi sınırlanır. Tedavinin sonucu tedavi edilen eklem göre değişir. Sınırlı sayıda yapılan kontrollü çalışmalara göre kalça ve diz osteoartritinde eklem içi KS enjeksiyonunun uzun etkili faydasının olmadığı tespit edilmiştir. Artritlik dizlerde KS enjeksiyonu plasebo ile karşılaştırılmış ve ilk haftada ağrıda ciddi bir azalma görüşmüştür. 4. haftada her iki grupta benzer sonuçlar elde edilmiştir. Eklem artroplastisi ameliyatı bekleyen bazı hastalarda ağrı ve şişliği azaltmak için kısa süreli faydası sebebiyle kullanılabilir. Karpometakarpal, metakarpofalangeal ve akromioklavikular eklemler gibi küçük eklemler ise KS enjeksiyonuna daha iyi cevap vermektedirler. Bunlarda ağrının azalması büyük eklemlere göre daha fazla olmaktadır. Bu sonuç belki de bu küçük eklemlere yük binmemesi sebebiyledir.

Eklem içi KS enjeksiyonunun bazı yan etkileri de vardır. Bunlar; KS artropatisi, sistemik emilim etkileri, yüzde kızarma, eklem içi bağlarda zayıflık, iatrojenik enfeksiyon, cilt değişiklikleri ve diabetiklerde hiperglisemidir.

Eklem içi KS enjeksiyonlarının kesin kontraendikasyonları; bilinen bir enfeksiyonun varlığı, aşırı duyarlılık bulunması, osteokondral kırıklar, eklem artroplastisi yapılacak hastalarda ameliyattan birkaç hafta öncesi, kontrol dışı kanama hastalığı bulunmasıdır.

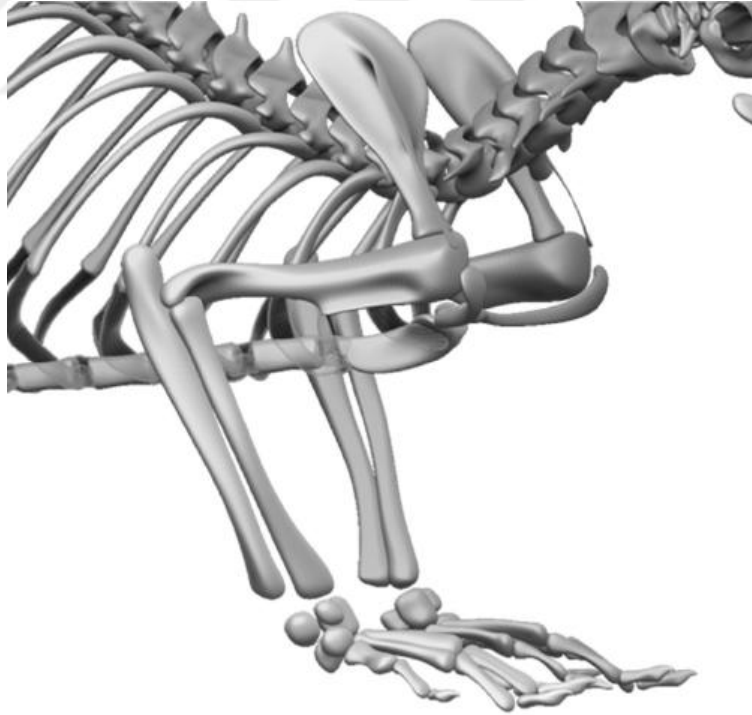
Eklem dışı enjeksiyon

Bağlarda, tendonlarda ve bursalardaki enflamasyonlar genellikle idyopatik ve sınırlı rahatsızlıklardır. Enjeksiyon ideal olarak tendonun peritendinoz dokusuna yapılmalıdır. Bu uygulamanın en önemli komplikasyonu tendonun kopmasıdır. Tendinit

ve tenosinovitler KS enjeksiyonlarına farklı cevaplar verirler. De Quervain tenosinovitinde başarı oranı % 60 civarındadır. Dış epikondilitteki başarı oranı ise çok değişkendir. Uygulamadan hemen sonra çok iyi bir cevap alınır ve fakat sıklıkla nüks görülür. Aşıl tendinitinde KS kullanımı ise tartışmalıdır. Rotator kılıf tendinitinde bazı çalışmalarda iyi sonuçlar bildirilirken bazılarında plasebo ile fark bulunamamıştır. Bursitlerde ise en sık olarak subakromial, büyük trokanter, olekranon, prepatellar ve kalkaneus arkası bursalarda kullanılır (82).

2.4. Sıçanın omuz anatomisi

Muridae ailesinin, Rattus cinsinin, R. norvegicus türünden olan S-Dawley, omuz bölgesi anatomisinin insanınki ile benzerliği nedeniyle deneysel çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Sıçan üst ekstremitesinin illüstrasyonu (83)

Yaşam süresi ortalama 2,5-3 yıldır. Dişilerde 250-300 gr, erkeklerde 450-500 gr arasında erişkin ağırlığına sahiptir. İyi gelişmiş akromiyon, belirgin spina skapula, subakromiyal bursa, akromiyoklavikuler eklem, klavikula, humerus, supraspinatus ve infraspinatus tendonları, biceps tendonu ve diğer bölümleri ile zorlanmadan ayırt edilebilen anatomik yapılara sahiptir.

Hafif eğimli sıçan klavikulasının kalın olan medial ve lateral uçları, sternoklavikuler ve akromiyoklavikuler eklemlere ligamentlerle tutturulmuştur. Klavikula lateral ucunda iki ligament ile, mediale yönelen korakoid çıkıntıya tutunur. Skapulanın superior kenarı insanlardaki skapuler çentiğe (incisura scapula) sahip değildir. Sıçan skapulası (Şekil 2.4 , Şekil 2.5) supero-inferior boyutlara oranla, medio-lateral olarak daha uzun olduğundan dolayı, spina skapula insanlardakine kıyasla daha uzundur. Belirgin olan akromiyon humeroskapuler eklemi örter. Glenoidin oval eklem yüzeyi kartilajinoz labrum sayesinde genişlemiştir ve skapula cismine görece uzun ve dar olan bir boyun ile bağlanmıştır.

Humerus başının yarı sferik bir eklem yüzeyi, tuberkulum majus, tuberkulum minus ve intertuberkuler sulkusu mevcuttur. Deltoid kasın yapışma noktası olan, humerusun proksimal yarısında, lateralde yer alan, insanlara göre daha belirgin olan deltoid tuberosite; geniş tabanlı, çengel benzeri belirgin bir çıkıntı oluşturur. Glenohumeral eklem dış kısmında skapulohumeral kasların düzleşerek yer aldığı belirgin bir kapsülle çevrelenmiştir.

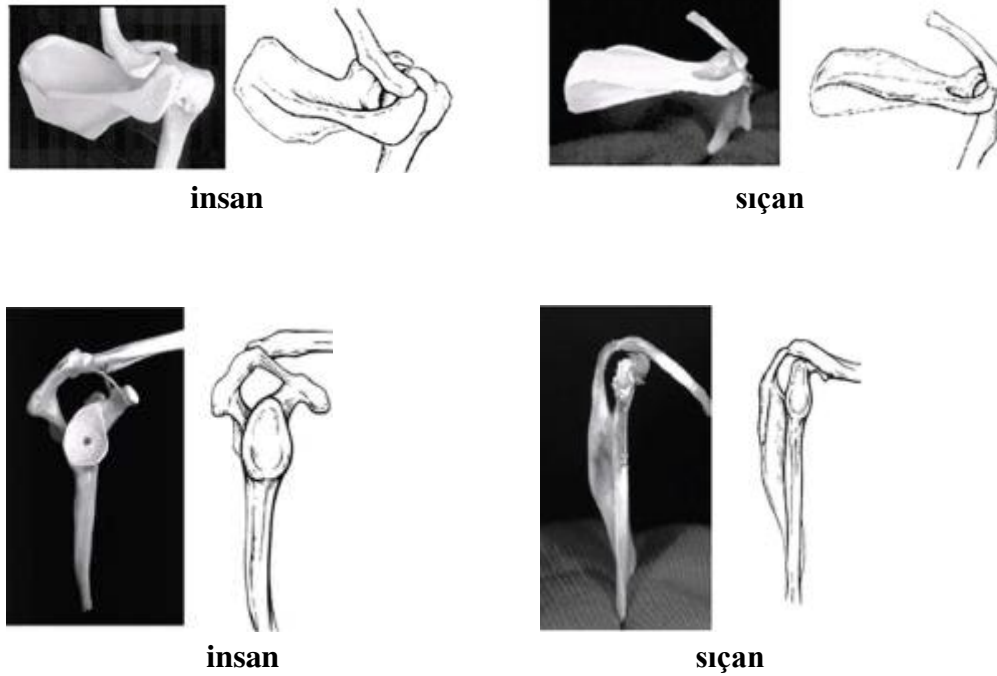


Şekil 2.4: Sıçan sağ üst ekstremite kemikleri ventral görünüş (84)

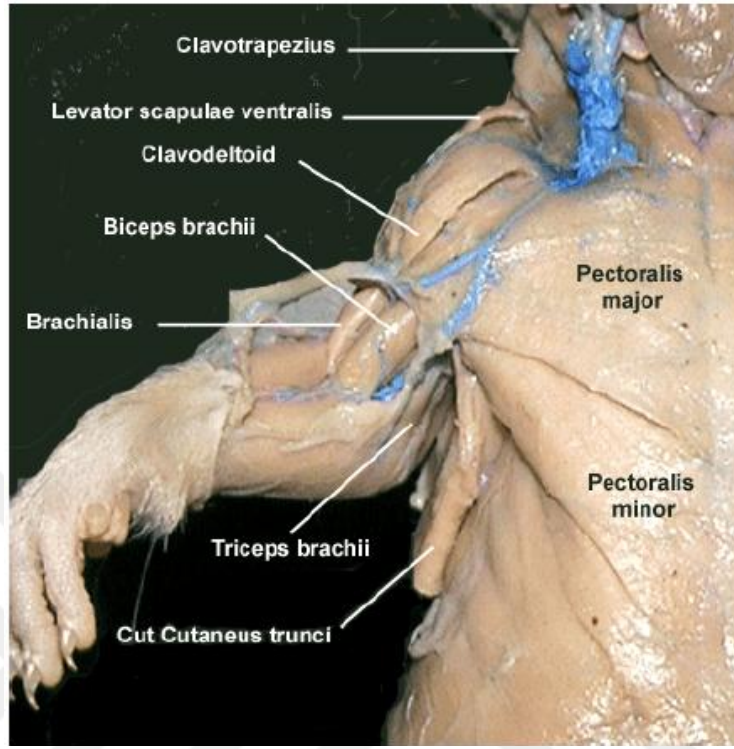


Şekil 2.5: Sıçan sağ üst ekstremite kemikleri dorsal görünüş (84)

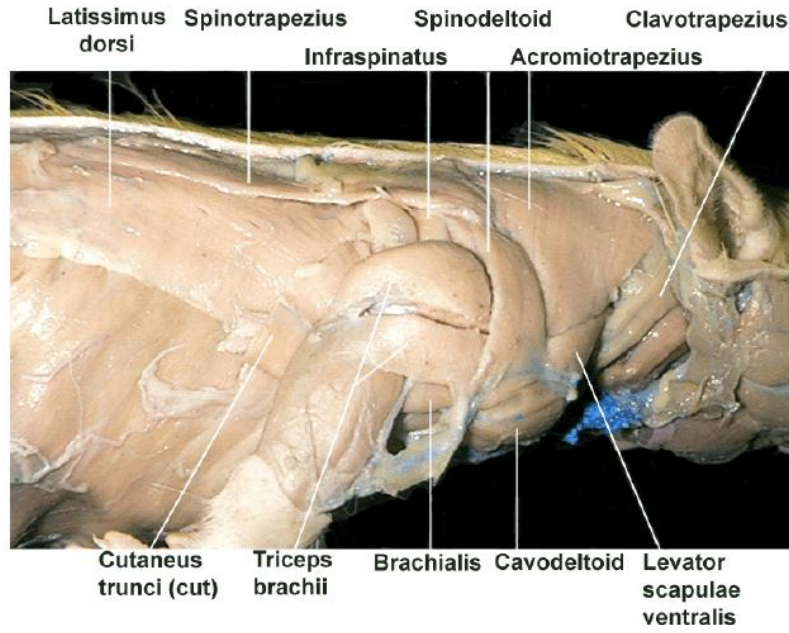
Klavikulanın lateral kenarı, akromiyon ve korakoakromiyal bağ subakromiyal boşluğu sınırlandıran osteofibroz bir ark oluşturur (Şekil 2.6). Bu boşlukta sinoviyal bursa, supraspinatus kası tendonu, eklem kapsülünün bir kısmı ve kapsülün altında biceps kası uzun başı tendonu yer alır. Bu yapıların insandakine anatomik benzerliği dikkate alındığında, omuz hastalıklarının araştırılması için sıçanların uygun bir deney hayvanı olduğu söylenmektedir (85-87). Sıçanın omuz bölgesi kasları (Şekil 2.7, Şekil 2.8 ve Şekil 2.9)'da gösterilmiştir.



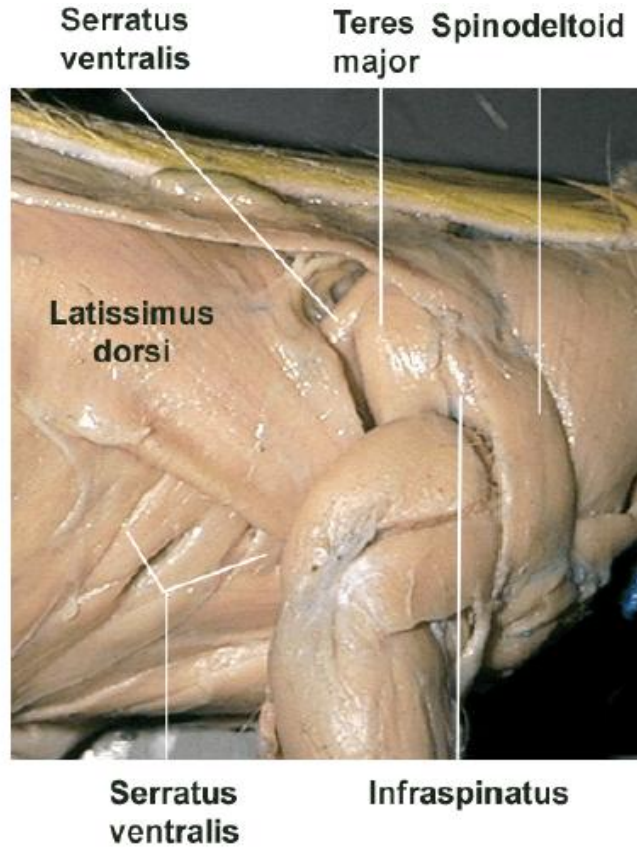
Şekil 2.6: Posterosuperior ve lateral görünüşten insan ve sıçan omuz bölgesi kemik anatomi benzerliği (87)



Şekil 2.7: Göğüs bölgesi ve kol kasları ventral görünüş (83)



Şekil 2.8: Sırt, omuz ve kol kaslarının lateral görünüşü (ekstansiyonda)(83)



Şekil 2.9: Torasik ve skapular kasların lateral görünüşü (fleksiyonda) (87)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

DA 16/12 nolu “Sıçanlarda Donuk omuz modelinde, eklem içi KS ve TZP enjeksiyonu tedavilerinin karşılaştırılması” başlıklı araştırma projemiz Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu ve Deney Hayvanları Etik Kurulu’nun 30/01/2017 tarih ve 17/02 sayılı kararı ile bilimsel ve etik açıdan uygun görülüp onaylanmıştır. Deneyler Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi’nde yapılmıştır.

Çalışmamızda 48 adet S-Dawley cinsi, 8 aylık, dişi sıçan kullanıldı. Kullanılan sıçanların ağırlığı 250-300 gr arasında değişmekteydi. Denekler çalışmaya dahil edilmeden önce yürüme bozukluğu olmadığı kontrol edildi. Her hayvan 8’er sıçanlık polikarbon kafeslerde, serbestçe yemek ve su alabildikleri bir ortamda barındırıldı. Ortam nemi 50 ± 10 , ortam sıcaklığı ise standart olarak 20 ± 2 C° değerlerinde sabitti. Kafeslerin bulunduğu oda gece-gündüz döngüsü içerisinde sabah sekizden akşam sekize 12 saat boyunca aydınlatıldı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Polikarbon kafesler

Deney süresince sıçanlara Pürina® standart sıçan yemi verildi. Tüm işlemler, steril şartlar altında Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi Araştırma Ünitesi'nin ameliyathanelerinde, veteriner hekim gözetiminde gerçekleştirildi.

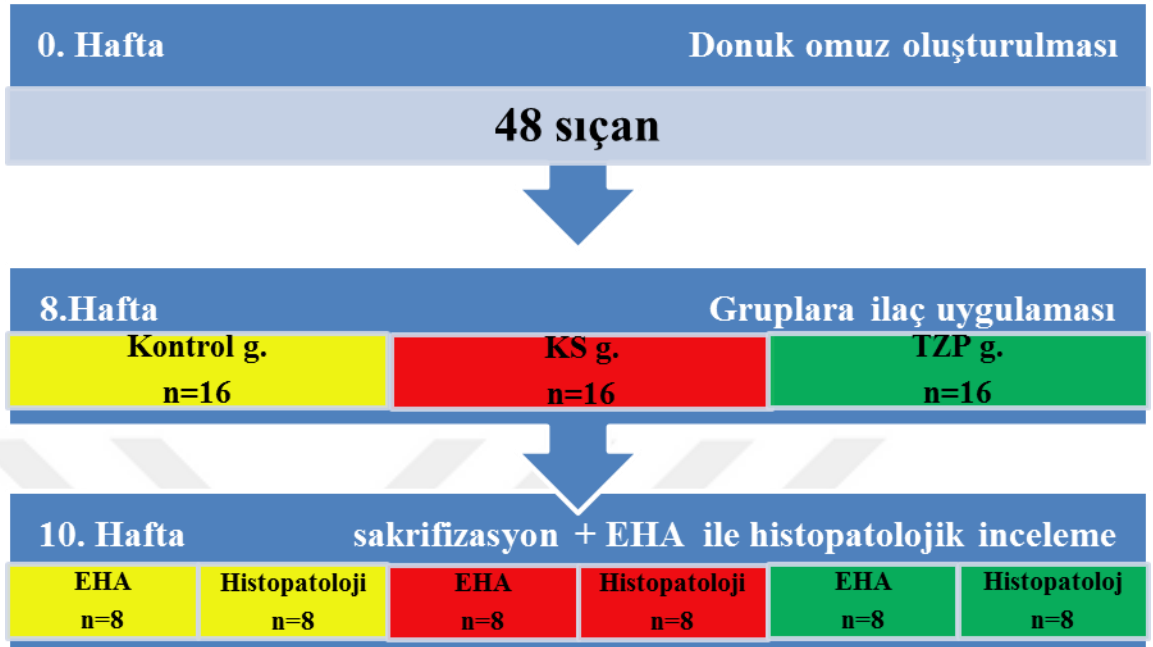
Hayvanlara deney boyunca aktivite kısıtlamasına veya rehabilitasyona (treadmill) yönelik işlem uygulanmadı. Deneklerin bakımı ve beslenmesi Araştırma Merkezi Veteriner Teknisyenleri tarafınca günlük olarak yapıldı.

3.1. Deneklerin Gruplara Ayrılması

Denekler on altılı üç gruba ayrıldı (Tablo 3.1 ve Şekil 3.2). Deneklerin yarısı EHA ölçümünde (n:8) diğer yarısı histopatolojik inceleme için (n:8) kullanıldı.

Tablo 3.1: Deneklerin gruplara ayrılması

Gruplar	Grup ismi	Özellikler
Grup 1	Kontrol (n=16)	DOM
Grup 2	KS (n=16)	DOM+Eklem içi enjeksiyonu
Grup 3	TZP (n=16)	DOM+Eklem içi enjeksiyonu



Şekil 3.2: Grupların şematik göstermesi

3.2. Donuk Omuz Modeli Oluşturulması

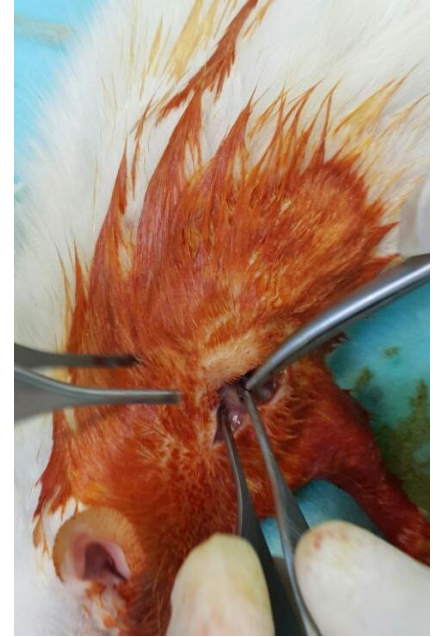
Tüm hayvanlara aynı cerrah tarafından aynı standart cerrahi operasyon uygulandı. Ameliyat öncesi genel anestezi için 50mg/kg Ketamin Hidroklorid (Brema®, Bremer Pharma GMBH, Warburg - Almanya) ve 7 mg/kg Ksilazin Hidroklorid (Alfazyne®, Alfasan İnternational B.V., Woersen – Hollanda) intraperitoneal olarak uygulandı. Denekler kuyruklarına silinmez keçeli kalemle sayı yazılarak numaralandırıldı. Anestezinin ardından her sıçan elektronik tartı ile otomatik olarak tartıldı ve ağırlıklar not edildi. Tartılma işlemi sonrası sol omuz cerrahi saha traş makinesi ile tüylerden arındırıldı. Denek prone pozisyonda strafor üzerine sağ ön ve her iki arka ayağından bantlanarak tespit edildi. Cerrahi saha %10 polivinilpirolidon – iyot içeren antiseptik çözelti (Batticon®) ile temizlendi ve steril örtü ile örtüldü. Tüm cerrahi işlemler steril şartlarda yapıldı.

Her üç gruba Villa-Camacho ve ark. tarafından daha önce yapılan çalışma model alınarak sıçanlarda Donuk omuz oluşturuldu (11).

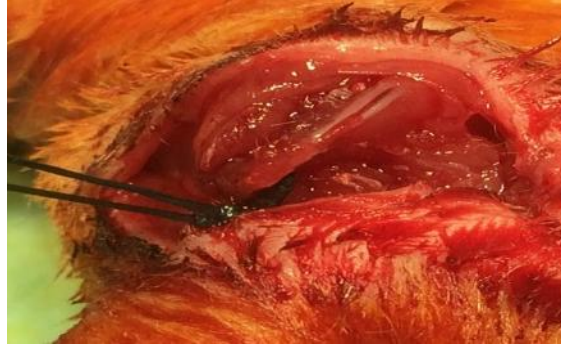
Cerrahi prosedür olarak skapula lateral kenarından dik olarak humerusa uzanan longitudinal 15mm insizyon yapıldı. Cilt altı ve fasia geçildikten sonra latissimus dorsi

ve trapezius lifleri arasından skapula inferior köşesi bulundu (Şekil 3.3: A). İnfraspinatus ve subskapularis kısmi olarak disseke edilerek skapula lateral kenarı hazırlandı (Şekil 3.3: B). Bir adet 2-0 örgülü polyester suture (TI-CRON®) skapuladan geçirilerek düğümlendi (Şekil 3.4). Takiben humerus lokalize edildi. Humerus distal üçte birinde triseps ve brachialis kasları arası disseke edildi. Radial sinir bulundu ve korunarak humerusa ulaşıldı. Humerus distal 1/3'ü ekspozite edildi. suture humerus çevresinden geçirildikten sonra kendi üzerine düğümlendi. Düğümler sıkılarak scapula humerusa yaklaştırıldı (Şekil 3.5). Sutureler bağlanarak omuz ekleminin hareketsiz kaldığı kontrol edildi.

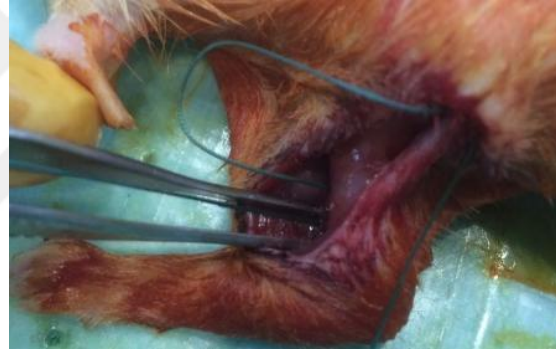
Tüm gruplar, cerrahi işlemlerden sonra cilt no: 3/0 ipek ile suture edildi. Cilt üzerine klortetrasiklin (Apoderm®) sprej sıkıldı. İşlem sonrası anestezi etkisinden kurtulup uyanana dek denekler diğerlerinden izole edildi. Daha sonra normal günlük aktivitelerini yapacak şekilde önceki kafeslerine alındı. Deneklere herhangi bir hareket kısıtlaması uygulanmadı. Postop üç gün boyunca antibiyotik olarak 10mg/kg enrofloksasin (Baytril-K®) subkutan olarak verildi. Sekiz hafta boyunca serbest kafes aktivitesine bırakıldı.



Şekil 3.3: A:Cilt insizyonu ve Skapulanın bulunması / B: İnfraspinatus ve subskapularis kısmi olarak disseke edilmesi



Şekil 3.4: Sütürlerin skapula lateral kenarına düğümlenmesi



Şekil 3.5: Humerustan sütürlerin geçirilmesi ve skapulaya yaklaştırıp bağlanması

3.3. Donuk Omuzlu Hayvanların Tespiti ve Eklem İçi Enjeksiyon Uygulaması

Sekizinci haftada Donuk omuzlu hayvanların tespiti için; her üç çalışma grubu da hazırlandı. Grupların genel anestezisi ve preoperatif hazırlığı birinci operasyondaki ile aynı şekilde yapıldı. Aynı insizyondan girilerek skapula bulundu. Sütürler kesilerek omuz serbest bırakıldı. İntraoperatif olarak omuz zorlamadan pasif olarak eklem hareket açıklığı muayene edildi ve sütürlerin serbestleştiği doğrulandı. En son olarak cilt no: 3/0 ipek ile suture edildi.

- **Grup 1 (Kontrol):** Sıçanların sol omuz eklemlerine 1 cc SF,
- **Grup 2 (KS):** 0.2cc, tek doz 0.5mg/kg triamsinolon asetonid (Kenakort®-A retard İM/İA 40mg ampul, Deva İlaç, İstanbul - Türkiye) (Şekil 3.6).

- **Grup 3 (TZP):** Aynı seansta, sıçanların kuyruk veninden alınan kandan elde edilen TZP, eklem posteriorundan eklem içi olarak uygulandı.
İlk ameliyattan sonra uygulanan tüm postoperatif işlemler tekrarlandı.



Şekil 3.6: Kullanılan KS ilaç

3.4. TZP Hazırlaması

Grup üçteki deneklerin her birinin kuyruk veninden 1 ml kan alındı ve önceden Başkent Üniversitesi Hastanesinin Laboratuvar bölümünde hazırlanan sitratli tüplere konuldu. 700 RCF’ de, 7 dakika santrifüj yapıldıktan sonra (Şekil 3.7), tüpün üst kısmındaki plazma (Şekil 3.8) bir enjektör ile alınıp aynı sıçanın sol omuz posteriorundan eklem içine enjekte edildi.



Şekil 3.7: TZP hazırlamak için kullanılan Santrifüj cihazı



Şekil 3.8: Elde edilen TZP

3.5. Deneklerin Sakrifizasyonu ve Omuzun en Blok Şekilde Çıkarılması

Onuncu haftada (enjeksiyon uygulamasından iki hafta sonra) tüm gruplar ötenazi dozunda intraperitoneal Ketamin Hidroklorid (150mg/kg) uygulanarak sakrifiye edildi. Deneklerin işlem yapılan sol omuzları; ön kol, humerus, klavikula ve skapulayı içerecek şekilde “en bloc” olarak çıkarıldı (Şekil 3.9). Sakrifiye edilen hayvanların her üç gruptan rastgele seçilen yarısı (n= 8, her bir grup için) EHA ölçümü için ve diğer yarısı (n= 8, her bir grup) için histopatolojik inceleme için ayrıldı.

Histopatolojik inceleme için sol üst ekstremité cilt disseke edilip çıkarıldıktan sonra doğal abd. pozisyonunda, sıkıştırılmadan, her denek için ayrı ayrı, 100ml hacimli kapaklı kapta (pnömatik sistem non-steril idrar numune kabı – Fratmed) %10 formaldehid çözeltisinde saklandı.



Şekil 3.9: Sakrifikasyondan sonrası omuzun en-bloc rezeksiyonu.



Şekil 3.10: Humerus distal 1/3 kısmından ampute edilmesi ve meduller kanalına enjektör ucu (30mm siyah) saplanması.

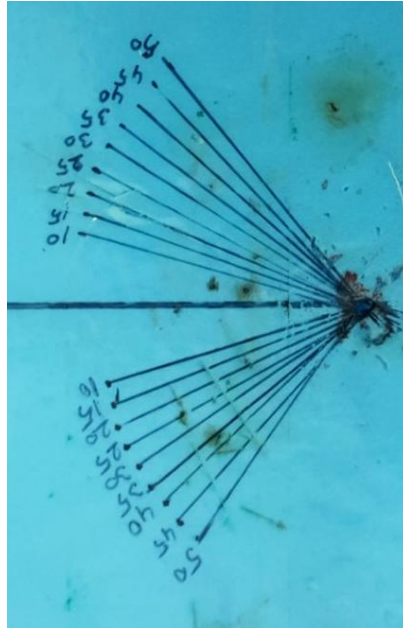
3.6. EHA Ölçümü

Tüm ölçüm işlemleri standart düzenekte aynı şekilde gerçekleştirildi. Deney için Strafor üzerinde, straforun alt kenarına paralel şekilde, bir horizontal çizgi çizildi ve

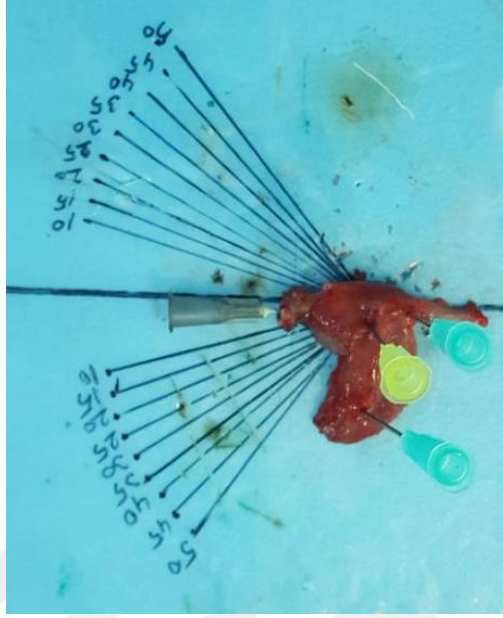
Çizginin alt ve st kısımlarında ai lerin şeması tersim edilerek, addksuon ve abdksyon olarak 2 kısıma ayrıldı(ekil 3.11).Tüm ölçümlerde standart 10 gr ağırlık kullanıldı.ölçümler sakrifikasyon sonrası omuz eklemleri dejenere olmaya balamadan uygulandı ve işlemler esnasında serum fizyolojik damlatılarak dokular nemli tutuldu.

EHA lm için ayrılan deneklerin sol st ekstremitesi; add. ve Abd. lm için dirsek üzerinden ampute edildi. Oki ve ark.'nın (10) daha önce tarif ettiği şekilde humerus meduller kanalına enjektör ucu (30mm siyah) saplandı(ekil 3.10). lm işleminde referans sağlaması için spina skapulaya paralel olacak şekilde, spina skapulanın hemen yanına ikinci enjektör ucu yerleştirildi. Skapula torakal yüzü strafora bakacak şekilde straforun n yüzüne iğne ile skapuladan sabitlendi.(ekil 3.12)

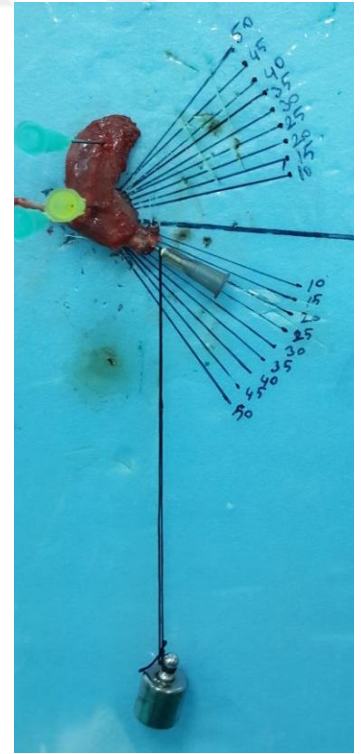
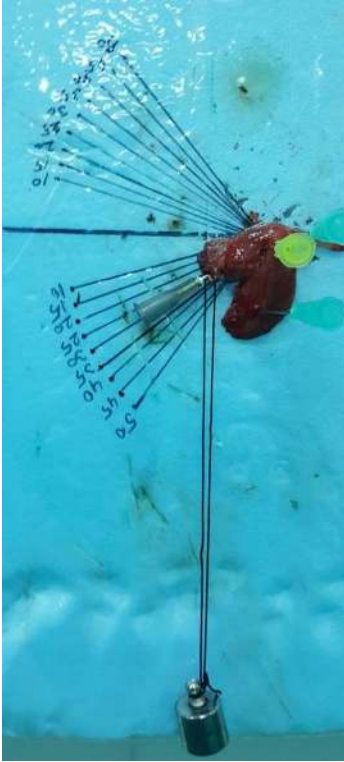
İntramedüller saplanmış olan enjektör ucu üzerine ağrılık asılarak standart tork ve dönme momenti oluşturuldu ve humerusun kırılma ihtimali ortadan kaldırıldı. Omuz eklemi 90 derecedeyken 10 gr ağrılık bir adet ip ile humerus ve iğnenin birleştiği yerden asılarak add.açısı ölçüldü sonar strafor 180 derece döndürüldü ve abd. açısı ölçüldü. (ekil 3.13 A,B)



Şekil 3.11: Strafor zerinde EHA lm için ai lc yardımı ile aıların izilmesi



Şekil 3.12: EHA ölçümü için, omuz strafora sabitlenmesi



Şekil 3.13: A: On gram ağırlık altında Add. ölçümü / B: Düzenek 180° döndürülerek abd. ölçümü

3.7. Histopatolojik İnceleme

Omuz eklemlerinden koronal kesit (skapulaya paralel) yapılarak alınan doku örnekleri %10'luk formik asitte 24-48 saatlik dekalsifikasyon sonrasında tespit ve takip işlemlerine tabi tutuldu (Şekil 3.14) . Parafin bloklara gömülen dokulardan 5 mikronluk kesitler lamlara alındı. Rutin histopatolojik değerlendirme için örnekler Hematoksilen-Eozin (H&E) boyası ile boyandı ve bu örneklerde ışık mikroskobunda snoviyal inflamasyon, tip 3 kollajen artışı, kapiller proliferasyon, subskapular bursa adezyonu ve fibrozis parametreleri değerlendirildi. İmmünohistokimyasal çalışma için 3-4 µ kalınlığında kesilen dokular ThermoScientific (Menzel) adezyonlu lamlara alındı.

Parafin kesitler deparafinize edildikten sonra kesitler distile su ile hidrate edildi. Nukleus Weigert's hematoksileni ile 8 dakika boyandı ve sonrasında lamalar 10 dakika boyunca devamlı akan musluk suyu altında yıkandı. Takiben kesitlere “picro-sirius red” boyası uygulanarak 1 saat inkübe edildi. Boyanan materyaller hazırlanan 2 farklı asidifiye su (5ml asetik asit / 1 lt distile su) ile yıkandı. Lamlar kuvvetlice sallanarak üzerindeki su fiziksel olarak uzaklaştırıldı. 3 farklı %100'lük etanol solüsyonunca dehidrasyon sağlandı. Kesilen içinde temizlenen lamalar reçineli ortama monte edildi. Işık mikroskobunda (Olympus BX51 Işık Mikroskobu) H&E boyalı ve Polarize ışık mikroskobunda (Olympus BX51 Işık Mikroskobu) “picro-sirius red” boyalı preparatlarda değerlendirilme şu şekilde yapıldı:

1. Sinoviyal İnflamasyon; yok / düşük, orta, şiddetli
2. Kapiller Proliferasyon; var, yok
3. Fibrozis; düşük, orta, şiddetli
4. Tip 3 Kollajen Artışı; var, yok
5. Subskapular bursa adezyonu; var,yok



Şekil 3.14: Patoloji makroskopik kesit

3.8. Biyoistatistik İnceleme

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 22.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sürekli ölçümlerse ortalama (mean) , minimum ve maksimum olarak belirtildi. Gruplar arasındaki sürekli ölçümlerin karşılaştırılmasında dağılımlar kontrol edildi, varyans analizi için iki varsayımı da sağladı. Biri normal dağılımdır. Shapiro –Wilk testi ile incelendi. üç parametre de (add., abd. ve toplam EHA) üç grupta da normal dağıldı.

Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı. tüm parametrelerin dağılımı da homojen dağılım gösteriyor. Levene testi ile incelendi. $p > 0.05$ olması hem homojen hem normal dağıldığını gösteriyor. Patolojik sonuçların gruplara göre karşılaştırılmasında gruplardaki sıçan sayısının az olmasından dolayı Fisher's Exact ki-kare test ile analiz edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. EHA Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları

Add., abd. ve toplam EHA verileri açısal derece cinsinden, ortalama (mean) , min. ve max. değerler olarak ele alındı (Tablo 4.1 ve şekil 4.1-3)

Grup 1: Kontrol grubunun add. ortalaması $32.25^{\circ} \pm 9.57^{\circ}$ (min. 18° – max. 46°), abd. ortalaması $38.25^{\circ} \pm 11.11^{\circ}$ (min. 20° – max. 50°) ve toplam EHA ortalaması $70.50^{\circ} \pm 12.02^{\circ}$ (min. 53° – max. 89°) olarak saptandı.

Grup 2: Eklem içi KS grubunun add. ortalaması $40^{\circ} \pm 60.51^{\circ}$ (min. 30° – max. 46°), abd. ortalaması $42.75^{\circ} \pm 8.03^{\circ}$ (min. 27° – max. 50°) ve toplam EHA ortalaması $82.75^{\circ} \pm 11.26^{\circ}$ (min. 61° – max. 96°) olarak saptandı.

Eklem içi KS grubunun eklem hareket açıklıklarındaki artış düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hiçbir hareket aksında anlamlı olmadığı tespit edildi (add. için $p=0.118$, abd. için $p=0.511$ ve Toplam EHA için $p=0.190$). KS tedavi alan gruptaki hayvanların, kontrol grubundan klinik açıdan iyileşme gösterse de, istatistiksel açıdan anlamlı fark oluşturacak düzeyde iyileşemediği anlaşıldı.

Grup 3: Eklem içi TZP grubunun add. ortalaması $38^{\circ} \pm 5.51^{\circ}$ (min. 30° – max. 45°), abd. ortalaması $37.50^{\circ} \pm 9.55^{\circ}$ (min. 25° – max. 50°) ve toplam EHA ortalaması $76.75^{\circ} \pm 15.16^{\circ}$ (min. 58° – max. 95°) olarak saptandı.

Eklem içi TZP grubunun eklem hareket açıklıklarındaki artış düzeyi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hiçbir yönde anlamlı saptanmadı (add. için $p=0.118$, abd. için $p=0.511$ ve toplam EHA için $p=0.190$). TZP tedavi alan gruptaki hayvanların kontrol grubu ile karşılaştırıldığında add. ve toplam EHA da klinik açıdan iyileşme gösterse de istatistiksel açıdan anlamlı fark oluşturacak düzeyde iyileşemediği anlaşıldı.

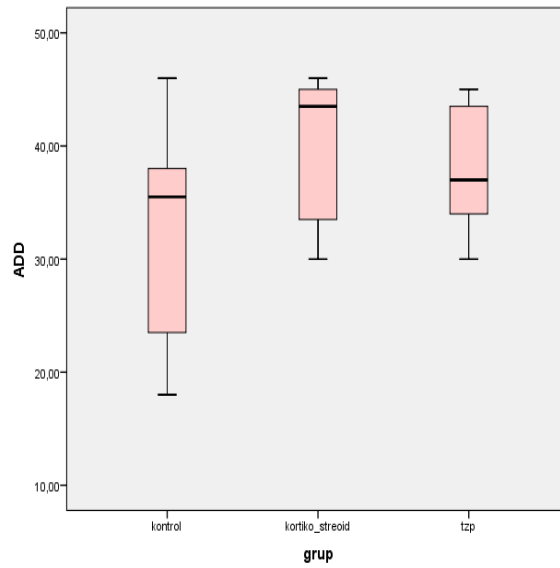
Grup 2 ile Grup 3 karşılaştırması: Eklem içi KS grubunun eklem hareket açıklıklarındaki artış düzeyi TZP grubu ile karşılaştırıldığında, hiçbir yönde anlamlı fark olmadığı görüldü (add. için $p=0.118$, abd. için $p=0.511$ ve toplam EHA için $p=0.190$). KS tedavisi uygulanan gruptaki hayvanların TZP uygulanan grup ile

karşılaştırıldığında , klinik açıdan iyileşme gösterse de istatistiksel açıdan anlamlı fark oluşturacak düzeyde iyileşemediği anlaşıldı.

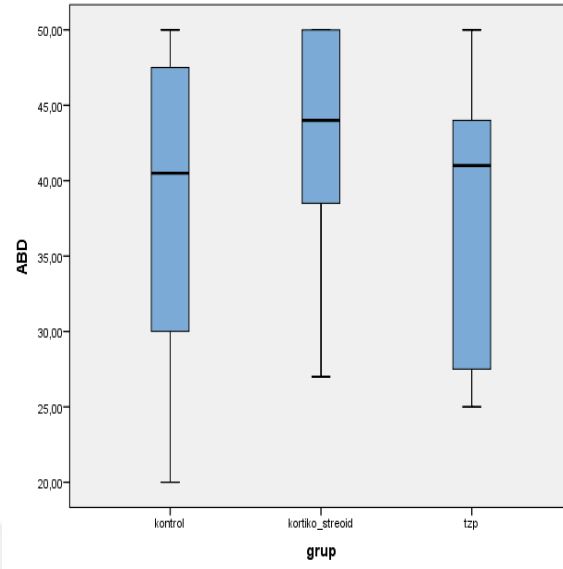
Tablo 4.1: Eklem hareket açıklık verileri

Parametreler	Kontrol				KS				TZP				F	P
	$\bar{x}$	SS	min	max	$\bar{x}$	SS	min	max	$\bar{x}$	SS	min	max		
Add.	32,25	09.57	18	46	40	06.51	30	46	38	05.51	30	45	2.366	0.118
Abd.	38.25	11.11	20	50	42.75	08.03	27	50	37.50	09.55	25	50	0.694	0.511
Toplam EHA	70.50	12.02	53	89	82.75	11.26	61	96	76.75	15.16	58	95	1.798	0.190

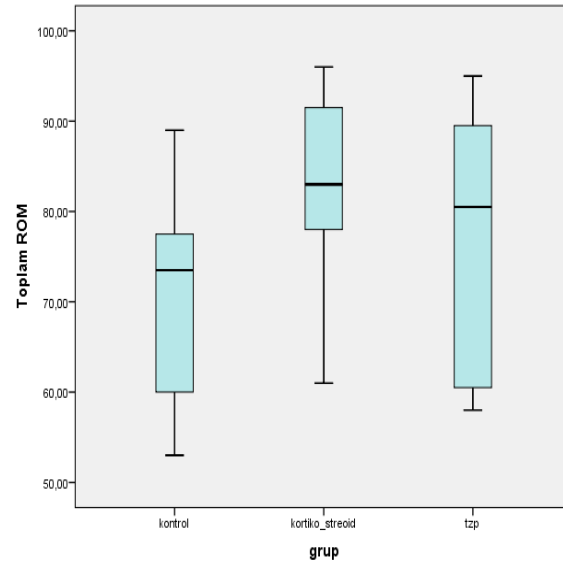
Sonuç olarak, üç grup karşılaştırıldığında, klinik açıdan fark az olsa bile KS uygulanan sıçanların Add., Abd. ve toplam da EHA açıklığının diğer iki gruba göre daha fazla olduğu tespit edildi. TZP'nin EHA üzerindeki etkisi, kontrol gruba göre daha iyi olduğu, buna karşın KS'e göre daha az olduğu belirlendi (sırasıyla, $76.75^{\circ} \pm 15.16^{\circ}$; $82^{\circ}.75 \pm 11.26^{\circ}$). Fakat bu ortalamalar karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli farklılık saptanamamıştır ($p= 0.190$).



Şekil 4-1: Addüksiyon sonuçlarının grafiği



Şekil 4-2: Abdüksiyon sonuçlarının grafiği



Şekil 4-3: Toplam EKH sonuçlarının grafiği

4.2. Histopatolojik Değerlendirme ve İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları

4.2.1. Sinoviyal inflamasyon

Sinoviyal inflamasyon açısından histopatolojik değerlendirme yapıldığında, KS ve TZP uygulana grupta şiddetli veya hafif derecede inflamasyon artışı olmadığı, buna karşın, kontrol grubunda %62.3 oranında hafif derecede sinoviyal inflamasyon artışı olduğu görülmüştür . KS ve TZP uygulanan sıçanlarda sinoviyal inflamasyon derecesi istatistiksel olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p= 0.004$) . Sonuç olarak, uygulanan KS ve TZP'nin sonucu kontrol grub ile kıyaslandığında, uygulamaların, istatistiksel açısından etkinliği saptanmıştır. KS ve TZP grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise sinoviyal inflamasyon açısından yüzdelerinin aynı olduğu ve bu yüzden de aralarında anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Sinoviyal inflamasyon verileri

Sinoviyal inflamasyon	Kontrol		KS		TZP		Toplam	P
	S	%	S	%	S	%		
Yok	3	37.75	8	100.0	8	100.0	19	
Hafif	5	62.3	0	0.0	0	0.0	5	0.004
Şiddetli	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	
Toplam	8		8		8		24	

4.2.2. Damar proliferasyonu

Damar proliferasyonu açısından histopatolojik değerlendirme yapıldığında, kontrol grubunda %75 oranda damar proliferasyonu varken (Şekil 4.4) , KS grupta %25 ve TZP grupta %50 oranda damar proliferasyonu olduğu görülmüştür(Şekil 4.6 ve 4.8). Gruplar arası karşılaştırmada, damar proliferasyonu açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark olmadığı görülmüştür ($p= 0.191$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Damar proliferasyon verileri

Damar proliferasyon	Kontrol		KS		TZP		Toplam	P
	S	%	S	%	S	%		
Yok	2	25.0	6	75.0	4	50.0	12	0.191
Var	6	75.0	2	25.0	4	50.0	12	
Toplam	8		8		8		24	

4.2.3. Fibrozis

Fibrozis açısından histopatolojik değerlendirme yapıldığında, KS ve TZP uygulanan sıçanlarda fibroblast proliferasyonu sadece her bir gruptan birer tane ve hafif derecede saptanmıştır ve şiddetli derecede fibroblast proliferasyonuna rastlanmamıştır. Kontrol Grubu ile karşılaştırıldığında, fibroblast proliferasyonu bu iki grup içinde anlamlı şekilde daha azdır ($p= 0.004$). KS ve TZP grupları karşılaştırıldığında ise, fibroblast proliferasyonu hem hafif ve hem de şiddetli dercelerde eşit saptanmış ve böylece aralarında istatistiksel olarak fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: Fibrozis verileri

Fibrozis	Kontrol		KS		TZP		Toplam	P
	S	%	S	%	S	%		
Yok	1	12.5	7	87.5	7	87.5	15	0.004
Hafif	4	50.0	1	12.5	1	12.5	6	
Şiddetli	3	37.5	0	0.0	0	0.0	3	
Toplam	8		8		8		24	

4.2.4. Tip 3 kollajen birikimi

Tip 3 kollajen birikim açısından histopatolojik değerlendirme yapıldığında, KS uygulanan sıçanlarda sadece bir sıçanda ve TZP uygulananlarda 3 sıçanda Tip 3 kollajen birikim artışı olduğu saptanmış ve bu farkın istatistiksel açıdan kontrol grubu

(Şekil 4.5) ile karşılaştırıldığından daha az olduğu görülmüştür ($p=0.002$). KS uygulanan sıçanların % 87.5' inde tip 3 kollajen miktarında azalma görünürken(Şekil 4.7) , TZP uygulanan sıçanlarda ise % 62.5 oranında azalma olduğu saptanmıştır (Şekil 4.9) ancak bu iki yüzde arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.569$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Tip 3 kollajen birikim verileri

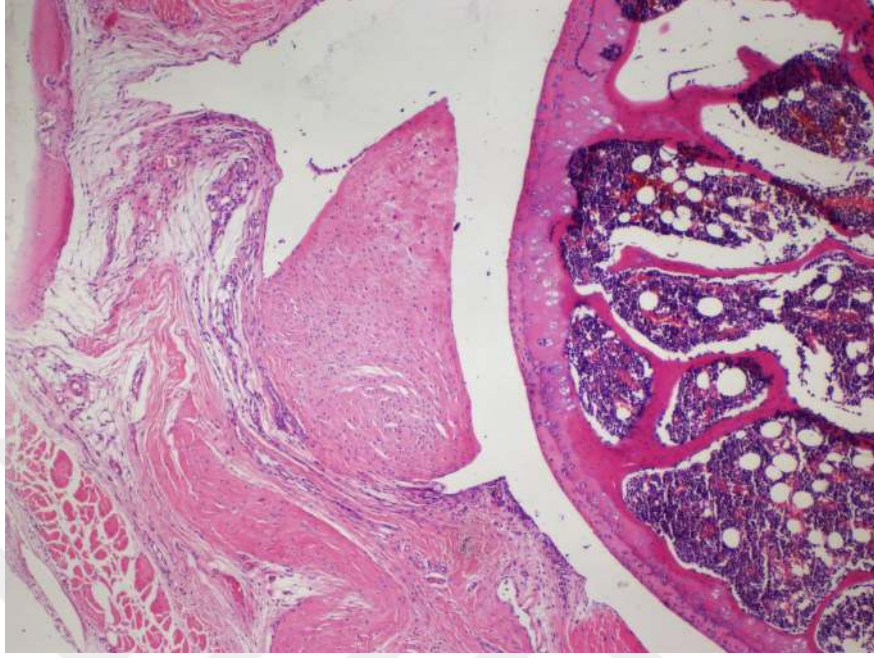
Tip 3 kollajen	Kontrol		KS		TZP		Toplam	P
	S	%	S	%	S	%		
Yok	0	0.0	7	87.5	5	62.5	12	0.002
Var	8	100.0	1	12.5	3	37.5	12	
Toplam	8		8		8		24	

4.2.5. Subskapular bursa adezyonu

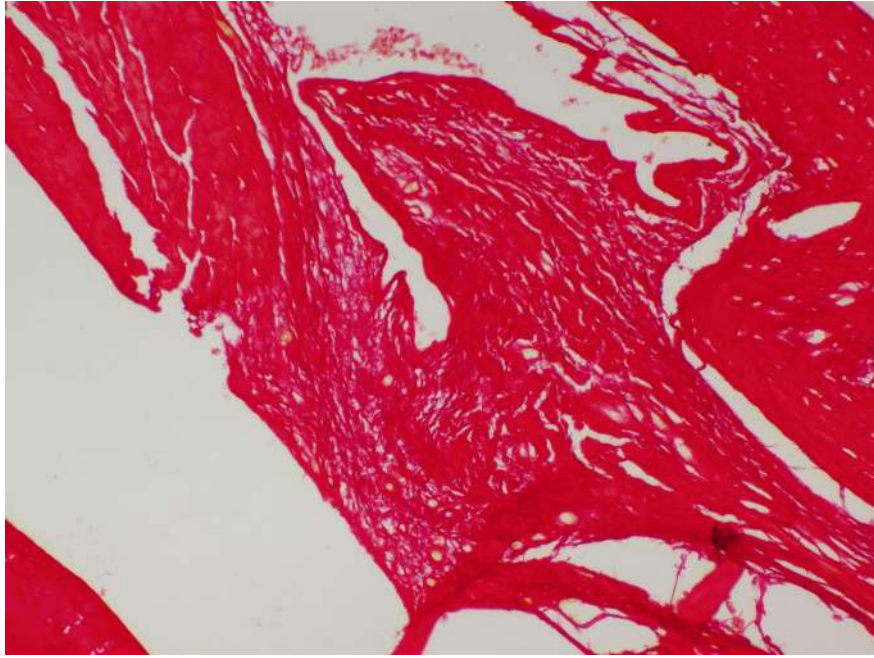
Subskapular bursa adezyonu açısından histopatolojik değerlendirme yapıldığında, KS ve TZP uygulanan sıçanların hiçbirinde Subskapular bursa adezyonu saptanmamıştır. İstatistiksel açıdan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha az adezyon olduğu tespit edilmiştir ($p=0.020$). KS ve TZP uygulanan sıçanların hiçbirinde (%0.0) subskapular bursa adezyonu saptanmadığı için bu iki grup arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.6).

Tablo 4.6: Subskapular bursa adezyonu verileri

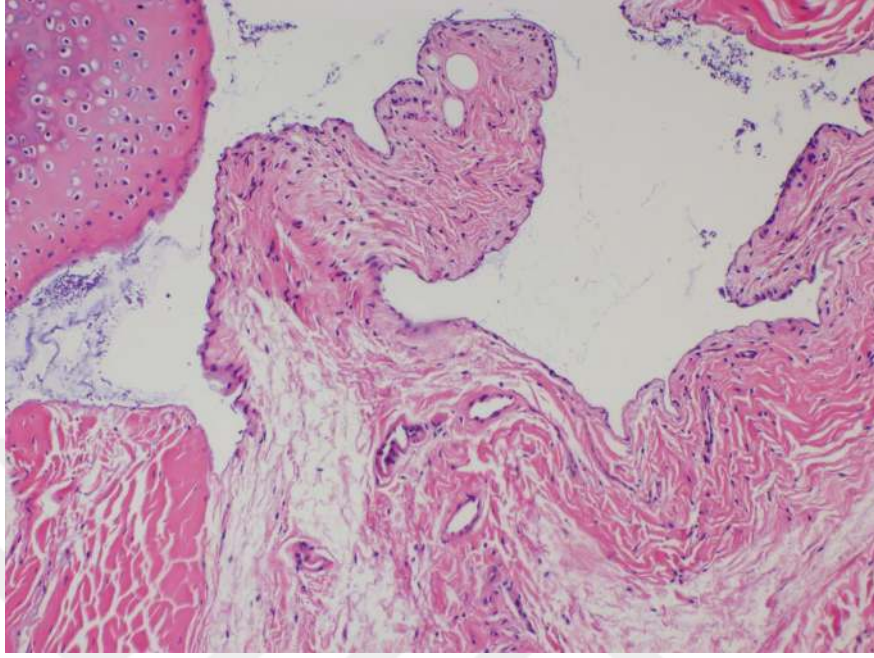
Subskapular bursa adezyonu	Kontrol		KS		TZP		Toplam	P
	S	%	S	%	S	%		
Yok	4	50.0	8	100.0	8	100.0	20	0.020
Var	4	50.0	0	0.0	0	0.0	4	
Toplam	8		8		8		24	



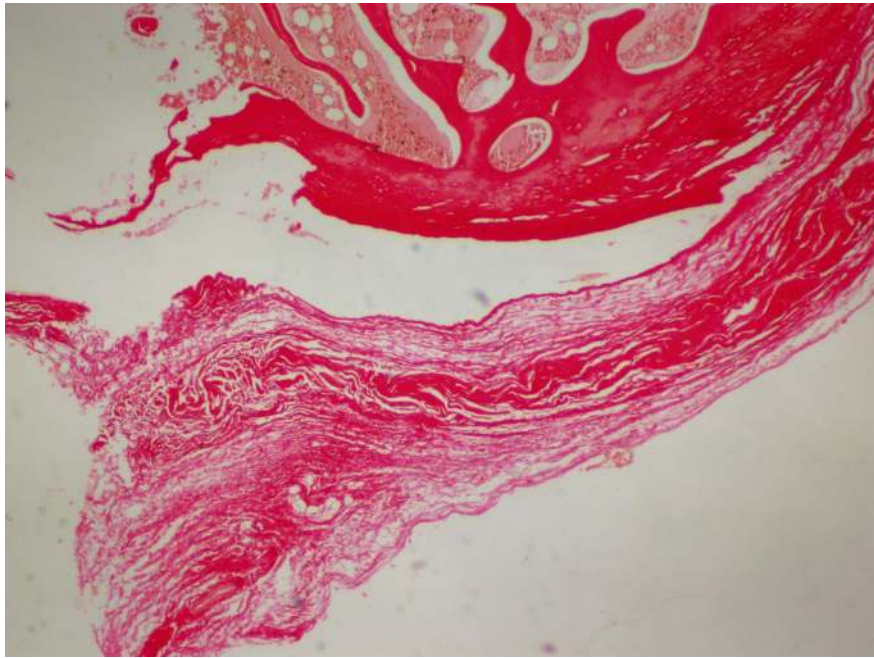
Şekil 4.4: Kontrol grubunda sinoviyumda vasküler proliferasyon, inflamatuvar hücre artışı, eklem aralığında daralma ve adhezyon H&E x4 büyütme



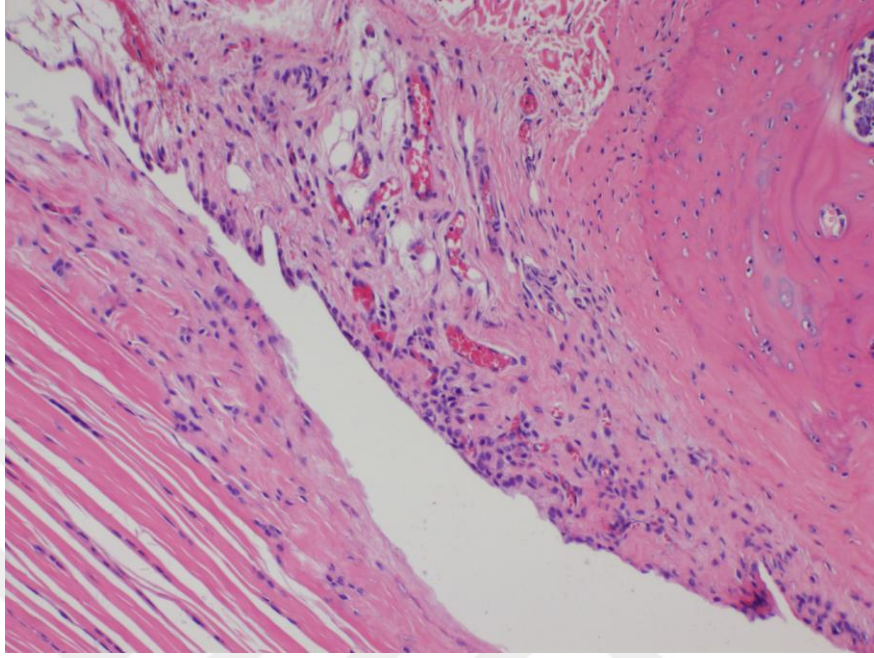
Şekil 4.5: Kontrol grubunda picro-sirius Red histokimyasal ile kırmızı boyanın kollajen liflerde artış H&E x10 büyütme



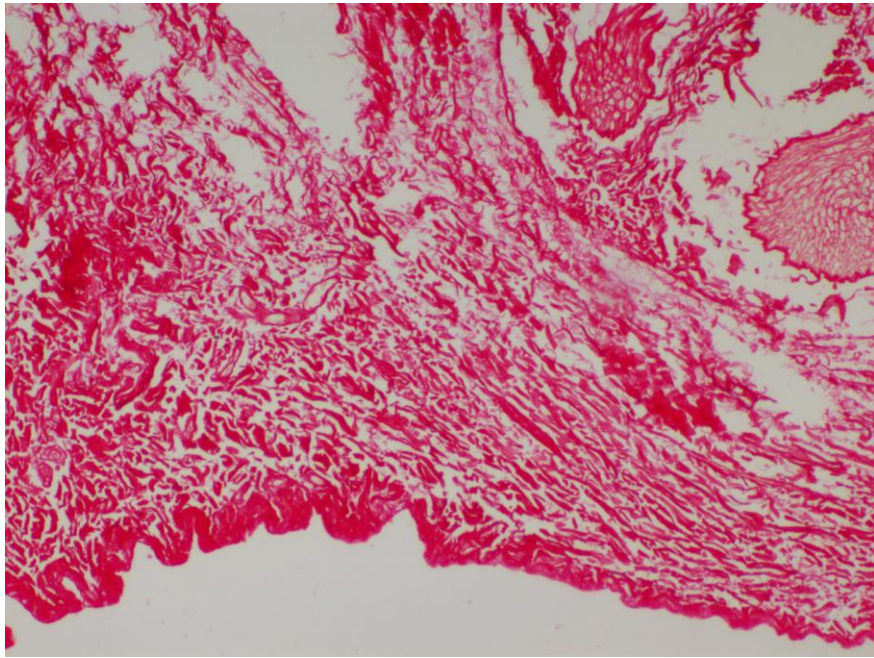
Şekil 4.6: Kortikosteroid grubunda vasküler proliferasyon H&E x10 büyütme



Şekil 4.7: Kortikosteroid grubunda picro-sirius Red histokimyasal ile kollajen liflerde azalma H&E x4 büyütme



Şekil 4.8: TZP grubunda damar proliferasyon H&E x10 büyüme



Şekil 4.9: TZP grubunda Picro-sirus Red histokimyası ile kollajen lif yoğunluğunda azalma H&Ex 4 büyüme

5. TARTIŞMA

5.1. Donuk Omuz Oluşturulması ve EHA'nın Değerlendirilmesi

Etiyoloji, Patoloji ve tedavisi tam olarak belrigin olmayan Donuk omuz hastalığını daha iyi tanımlamak için bir hayvan modelinde araştırmak mantıklıdır. Primer Donuk omuzu bir hayvan modeli üzerinde oluşturulması mümkün görülmediğinden dolayı, yapılan çalışmalarda eklem immobilizasyonu ile sekonder Donuk omuz modeli oluşturulması tercih edilmektedir. Diyabetten sonra en sık ikinci seonder Donuk omuzun sebebi immobilizasyondur.

Bu amaçla Donuk omuzu model haline getirmek için büyük ve küçük hayvanlar kullanılabilir. Tavşan ve köpek gibi büyük hayvanların üzerinde cerrahi işlem yapıldığı kolay olamsı avantajlı olsa da sıçanların temini kolay olduğundan dolayı birçok çalışmada tercih edilmektedir. Ayrıca tavşanlara göre sıçanların cerrahi işlemlere daha dayanıklı olduğu bilinmektedir ve insan omuzuna olan anatomik benzerliklerinden dolayı da sıçanların omuz patolojilerini incelemek için daha uygun olduğu kabul edilmektedir. Omuz biyomekaniği açısından, sıçanlar dört ayaklı (kuadripedal) olsalar da beslenme sırasında arka ayakları üzerinde ayağa kalkarlar ve kollarını serbest olarak insandakine benzer şekilde kullanırlar. Böylece insan omuz hareketlerini köpeklere ve tavşanlara göre daha iyi taklit ederler. Soslowsky ve ark. (85) öne yürüme esnasında sıçanların omuz hareketlerinin insandaki abd. hareketine benzediğini bildirmiştir. Donuk omuzda EHA'nda en belirgin kısıtlılık insanlarda dış rotasyon yönünde olurken, sıçan modelinde abd. yönünde olduğu bilinmektedir (7-9).

Çalışmamızda iyileşmenin araştırıldığı gruplarda abd. yönündeki düzelmenin fazla olması da yürüme esnasında sıçanların omuz hareketlerinde en fazla kullandıkları yön olduğu için beklenen bir sonuçtur.

Hayvan deneyleri üzerinde Donuk omuz oluşturmak için 1994 ve 1996 yıllarında ilk olarak Schollmeier ve ark. (88, 89) uygulama yapmışlardır. bu uygulama köpeklerin omuz eklemlerini alçı ile immobilize edilerek yapılmıştır. İmmobilizasyon ile EHA'nda azalma ve eklem içi basınçta artma saptayarak başarılı şekilde Donuk omuz modeli oluşturmuşlardır. Artmış sinovit görünümü ve damar sayısı yanında subakromiyal

bursadaki yapışıklıkların varlığını histolojik olarak bildirmişlerdir. İmmobilizasyonun sonlandırılması ile patolojinin iyileştiğini ve oluşturulan modelin insan Donuk omuzuna benzediğini savunmuşlardır.

Alçı kullanılarak eksternal tespit ile oluşturulan omuz immobilizasyon modelleri sıçanlarda da tarif edilmiştir (6, 7, 90-92). Alçı ile her hayvanda aynı pozisyonun sağlanamaması, gevşek ve kıllı cilt dokusu nedeniyle alçı içinde hareket olması ve alçının gevşemesi sorunları bu çalışmaların eleştiriye açık yönüdür. Çalışmamızda, internal tespit yöntemi kullanılarak sağlanan immobilizasyon daha güvenilir olduğu için tercih edilmiştir. İnternal tespit yapılırken dikkat edilmesi gereken nokta uygulanan yöntemde omuz eklemine cerrahi diseksiyon yapılmaması gerektiğidir. Cerrahi işlem esnasında omuz eklemine yapılacak hasar sonucu direkt travma ile intrinsik donmuş omuza neden olabileceği unutulmamalıdır.

İlk defa Kanno ve ark. (8) tarafından 2010 yılında S- Dawley üzerinde omuz ekleminde internal tespit yöntemiyle sekonder ekstrinsik Donuk omuz modeli yapılmıştır.

Çalışmalarında sıçanların omuz eklemi açılmadan, posterior yaklaşımla, iki adet plastik plak kullanarak, skapulada tel ile, humeral tarafta ise vida ile tespit yapılmıştır. Sıçanlarda spina skapula ile humerus arasındaki maksimum add. açısı olan 60° abdüksiyonda tespit sağlanmıştır. Hayvanlar sekiz hafta boyunca serbest kafes aktivitesinde izlenmiştir.

Sakrifikasyondan sonra omuzlar -80 santigrat derecede saklanmıştır. EHA'ları önce en blok rezeksiyon sonrası, takiben rotator manşet kasları dışındaki kasların sıyırılması sonrası, takiben sadece kapsül kalacak şekilde ve ardından sırayla üç yerden kapsülotomi yapılarak ölçülmüştür. Pilot çalışmalarında 20 ve 30 gram ağırlık kullanıldığında %10 ve %13 oranında humerus shaft kırığı gözlenmesi nedeniyle; EHA ölçümlerini 10 gram ağırlık altında çekilen röntgen üzerinde gerçekleştirmişlerdir. Bu nedenle biz de çalışmamızda benzer şekilde 10 gram ağırlık kullanarak EHA değerlendirdik. Çalışmalarının EHA bulgularında sham grubunda 79° abd. ve 43° toplam rotasyon elde edilmiş, immobilizasyon grubunda ise 66° abd. ve 17° toplam rotasyon bulunmuştur.

İmmobilize grupta kasların var olması ile sıyrılması arasında abd. değerlerinde fark çıkmamış olması ve kapsülotomi sonrası belirgin artış saptanması nedeniyle patolojinin kapsülden kaynaklandığının anlaşıldığını söylemişlerdir. Bu nedenle biz de çalışmamızda işlemler öncesi herhangi bir kas disseksiyonu yapmadan, en blok rezeksiyon sonrası ölçümleri gerçekleştirdik.

Bizim çalışmamızda daha yüksek abd.değerleri çıkmasının nedeni olarak;

1. omuzlar dondurulmadan sakrifikasyondan hemen sonra ölçüm yapılması,
2. humerus shaftına yerleştirilen intrameduller iğne üzerinden uygulanan daha yüksek tork değeri ya da
3. tespit için uygulanan yöntemin plak yerine sütür materyali olması sayılabilir.

Çalışmalarında abd. yönündeki kısıtlılığın en belirgin saptanmasının nedeni olarak çift plak tekniği ile yeterli rotasyonel stabilitenin sağlanamamış olabileceğini düşünmüşlerdir. Bu düşünce çalışmamızda kullandığımız sütür ile tespit yöntemi için de geçerlidir.

Sütür materyali kullanarak omuz immobilizasyon modeli, ilk kez 2013 yılında Ochiai ve ark. (9) tarafından oluşturulmuştur. Sıçanlarda S-Dawley humerus ve skapula No. 2-0 FiberWire ile bağlanarak tek sütür ile tespit edilmiştir. Sekiz hafta immobilizasyon sonrası eklem hareket açıklığı 10 gr ağırlık altında röntgen ile değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda $36.3^{\circ} (\pm 5.9^{\circ})$ abd. saptanmıştır. Bizim çalışmamızda kontrol grubunda abd. ölçümünün ortalaması $38.25^{\circ} (\pm 11.11^{\circ})$ saptandı. sonuçların yakın olması humerusun 2/3 distalinden intramedüller saplanmış olan enjektör ucu ve üzerine 10 gram ağırlık asılarak standart tork ve dönme momenti oluşturulmasından dolayı düşündürmektedir.

Farelerin omuzlarında da benzer şekilde Oki ve ark. (10) tarafından 2015 yılında, tek suture (No. 3-0 nylon) ile tespit yapılarak Donuk omuz modeli oluşturulmuştur.

Çalışmalarında eklem hareket açıklığı değerlendirilmesi sadece abd. yönünde yapılmıştır. Sakrifikasyon sonrası en blok çıkarılan omuz ekleminde taze olarak çalışılmıştır. Skapula strafora sabitlenmiş ve humerus medullasına yerleştirilen enjektör ucuna asılan 10 gr ağırlık altında gonyometre ile ölçüm yapılmıştır. Skapula medial kenarı ile humerus arasındaki açı sağlıklı grupta $112.5^{\circ} (\pm 4.6^{\circ})$, immobilize grupta 51.5°

($\pm 5.5^\circ$) olarak bildirilmiştir. Biz de çalışmamızda abd. ölçümünde tarif ettikleri bu yöntemi kullandık. Farklı olarak çalışmamızda abd. dışında add. da ölçüldü.

Çalışmamızda kullandığımız Donuk omuz modeli 2015 yılında Villa-Camacho ve ark. (11) tarafından S- Dawley üzerinde oluşturulmuştur. Skapula ile humerus arasında iki adet No. 2-0 örgülü polyester sütür (Ethibond) ile tek suture göre 8 hafta boyunca daha stabil ve güvenilir bir tespit yapılmıştır.

Benzer çalışmalardan farklı olarak EHA ölçümleri özel düzenekte anestezi altında in vivo olarak gerçekleştirilmiştir. Cerrahi işlemlerden önce her denek için, skapulotorasik eklem hareketi katılmadığı 80° iç rotasyon ve 60° dış rotasyon hareket açıklıklarında saptanan tork değeri not edilmiştir. Deneklerin karşı omuzunda bile farklı değerler saptanırken, aynı omuzun tekrar ölçümünde yakın değerler bulunması sonucu intraspesimen ölçümlerin tekrarlanabilir ve güvenilir olduğunubildirmişlerdir.

Ölçümlerde denekler arasında belirgin farklar olması (artmış interspesimen değişkenlik) nedeniyle, her sıçan kendi tespit öncesi değerleri ile kıyaslanarak internal kontrol grubu yapılmıştır. Bu sayede az sayıda denek kullanılarak (her grupta 5 sıçan) istenen istatistiksel önem düzeyi elde edilmiştir. İn vivo ölçümlerin diğer avantajı da sakrifikasyona gerek olmamasıdır, fakat bu yöntemde abd. yönünde hareket açıklığı skapulotorasik hareket nedeniyle değerlendirilememektedir.

Çalışmalarında sütürler alındıktan sonrasında sekiz hafta boyunca iyileşme düzeyi iki grupta incelenmiştir. İlk grupta tespit öncesi saptanan tork değerleri uygulanarak eklem hareket açıklığındaki azalma kinematik olarak incelenmiştir. Bu grupta rehabilitasyona benzer zorlama yapılmadığı için doğal seyir gibi düşünülebilir. Sütürler alındığı gün tespit öncesine göre toplam rotasyonun %63 azaldığını, iyileşmenin 30 güne kadar giderek arttığını ve 5. haftadan itibaren %19 kısıtlılık kalacak şekilde plato çizdiğini bildirmişlerdir. İkinci grupta ise tespit öncesi ölçülen EHA derecelerine omuzun zorlanarak getirilmesi için gereken tork miktarı kinetik olarak incelenmiştir. Sütürler alındığı gün iç rotasyon için %159.6, dış rotasyon için %138.8 oranında artmış güç gerektiği, bu değerlerin azalarak 3. haftada plato çizdiği ve tespit öncesine göre %17.9 oranında sertlik kaldığı bildirilmiştir. Bu bulgular klinik pratike bilinen hastaların çoğunda tam olarak düzelme sağlanamaması ile uyumludur.Çalışmamızda KS

tedavisinin sağladığı yararı tedavi almayan grupla kıyaslayabilmek için sakrifikasyon zamanının uygun olması önemliydi. Bunun için sıçanlarda doğal seyrinde iyileşmenin plato çizdiği zaman olan beşinci haftadan daha öncesini seçmemiz gerekliydi. Bu nedenle sakrifikasyon zamanı olarak hastalık modeli oluşturduktan sonra, doğal seyrinde iyileşme döneminin ortasına denk gelen, omuz serbest bırakıldıktan sonraki ikinci haftayı tercih ettik.

5.2. Histolojik ve İmmunohistokimyasal Değerlendirme

Donuk omuz fizyopatolojisi tam olarak anlaşılamadığı için literatürde ana lezyonun fibrozis mi yoksa inflamasyon veya sinovit mi olduğu konusunda çelişkiler mevcuttur. Ozaki ve ark.(93) ile Bunker ve ark.(94) yapmış olduğu çalışmalarda kapsüldeki fibrozisin ana lezyon olduğunu, inflamasyon ve sinovitin eşlik etmediğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan Wiley ve ark.(95) ile Uitvlugt ve ark.(96) en belirgin eklem içi patolojik bulgunun sinovit olduğunu bildirmişlerdir. Sinoviyada inflamasyonun ve kapsülde fibrozisin birlikte görüldüğünü savunan yayınlar da mevcuttur (97, 98).

Histopatolojik olarak Donuk omuzun ilk evresi olan donma döneminde inflamasyonun, ikinci evresi olan donmuş dönemde ise fibrozisin ön planda olduğu düşünülmektedir. Klinikte donma döneminden, donmuş döneme geçiş birdenbire olmamaktadır. Evreler arası geçiş keskin sınırlarla ayrılmadığı için klinik çalışmalarda inflamasyon ya da fibrozis aynı dönemde birlikte görülebilmektedir.

Liu ve ark.(6) S- Dawley üzerinde alçı ile oluşturdukları omuz immobilizasyon modelinde EHA sonuçlarına bakmadıkları için ve takip süresinin kısa olması nedeniyle Donuk omuz modeli olarak referans alınmasının uygun olmadığını söylemişlerdir; fakat sıçanlarda omuz immobilizasyonunun ilk dört haftasındaki patolojik değişiklikleri inceledikleri için bulguları değerlidir. Ayrıca diğer çalışmalardan farklı olarak transvers kesitler alarak histolojik değerlendirme yapılmıştır. Immobilizasyon grubunda subscapular bursada yapışıklıklar ve sinoviyal hiperplazi olduğunu bildirmişlerdir. Bu bulguların insanlardaki Donuk omuzu ile uyumlu olduğunu söylemişlerdir. Immobilize grupta ikinci ve üçüncü haftada görülen anterior eklem kapsülünün hiperplastik

sinoviyal dokusu ise dördüncü haftada saptanmamıştır. Bu bulgular Donuk omuzun ilk evrede inflamatuvar bir dönemle başladığını doğrulamaktadır.

Benzer bir şekilde Kim ve ark.(7) tarafından sıçanlarda alçı ile immobilizasyon sağlanarak oluşturulan Donuk omuz modelinde 3. gün, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6. haftalarda abd. değerleri ve histolojik bulgular değerlendirilmiştir. Abd. derecelerinin 1. Haftadan itibaren sağlıklı omuza göre belirgin olarak azalmış olduğu, 2. ve 3. haftalardan itibaren ise daha fazla azalmadığı bildirilmiştir. Histolojik olarak 3. günde aksillada sinoviyal katlantıların sayısının ve subsinoviyal yağ dokusunun kalınlığının azaldığı, ekleme inflamatuvar hücrelerin infiltre olduğu ve subsinoviyal alanda kapiller proliferasyon olduğu bildirilmiştir. Birinci haftada subsinoviyal yağ dokusunun neredeyse kalmadığı ve kapsülün kalınlaşmaya başladığı fark edilmiştir. İkinci haftada sinoviyumun ve subsinoviyal dokunun humeral tarafta kemiğin korteksine yapıştığı bildirilmiştir. İkinci haftaya kadar sinoviyal dokularda inflamatuvar hücrelerin varlığı gözlenmiştir; fakat üçüncü haftadan itibaren inflamatuvar hücrelerin azaldığı ve sinoviyumda ve subsinoviyal alanda fibrozisin belirgin olduğu bildirilmiştir. Üçüncü haftadan itibaren benzer bulgular olduğu bildirilmiştir. İlk haftalarda saptanan bulgular Donuk omuzun ilk evresi olan donma döneminde inflamasyon ile başladığını doğrulamaktadır. İlerleyen haftalarda fibrozis saptanması ise hastalığın donmuş döneminde beklenen klinik bulgularla uyumludur.

Bizim çalışmamızda, immobilizasyonun onuncu haftasında %62.5 kontrol grubundaki sıçanlarda synovial proliferasyon saptanırken %37.5’unda görülmemiştir. bu gruba 8.haftada SF yapıldığı için synovial inflamasyon artışında etkili olup olmadığı tartışmalıdır ve oluşturduğumuz Donuk omuz modelinin hastalığın ikinci evresi olan donmuş (frozen) dönem ile uyumlu olduğunu desteklememektedir. Gelecekteki çalışmalarda sham ve doğal seyir gruplarını da oluşturmak ve immobilizasyon süreleri farklı olan gruplar arasındaki iyileşme düzeylerinin kıyaslanması faydalı olabilir.

Sıçan omuzunun histopatolojik incelemesinde makroskopik kesitlerin alındığı yön(transvers, koronal) spesimenlerde hangi anatomik yapıların net görüleceğini etkilemektedir. Dış rotasyon yönündeki kısıtlılıkta patolojinin kaynağı olan subskapular bölge ve rotator interval gibi yapılar transvers kesitlerde iyi değerlendirilmektedir.

Koronal kesitlerde ise abd. hareketinde azalmaya neden olan aksilladaki patolojik değişiklikler görülebilmektedir. Klinik olarak Donuk omuzda dış rotasyon hareket açıklığındaki kısıtlılığın patognomonik olduğu kabul edilmektedir. Sıçanlarda ise Donuk omuz modelinde en belirgin kısıtlılığın abd. yönünde olduğu bilinmektedir (7-9). Bu nedenle aksilla bölgesinin daha iyi incelenmesi amacıyla, koronal kesit olarak histopatolojik değerlendirme yapmak daha uygundur. Genel olarak sıçanlarda omuz immobilizasyonunun incelendiği deneylerde bizim çalışmamızdaki gibi koronal kesit üzerinde çalışılmıştır.

Kapsülde ve sinoviyumda artmış tip-III kollajen birikiminin Donuk omuzda önemli bir patojenik faktör olduğu düşünülmektedir (94, 98, 99). Bunker ve ark. (100) kapsülün sertleşmesine artan Tip-III kollajenin neden olduğunu düşünmüştür. Schollmeier ve ark. (88) köpek üzerinde oluşturdıkları immobilizasyon modelinde Tip-III kollajenin sinoviyumda yoğun olarak boyandığını bildirmiştir. Kanno ve ark. (8) sıçanlarda immobilizasyon grubunda Tip-III kollajenin sinoviyumda pozitif boyandığını; fakat derin sinoviyal subintimal alanda daha şiddetli boyandığını bildirmiştir. Benzer şekilde Liu ve ark. (6) sıçanlarda Tip-III kollajenin sinoviyumda, subsinoviyal alanda ve kaslar arası alanda (spatium intermusculare) immobilize grupta 2. 3. 4. haftalarda biriktiğini, histolojik boyanmanın (picrosirius kırmızısı) yanında ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) yöntemiyle göstermişlerdir. Eklemden Tip-III kollajen seviyelerinin immobilizasyon ile artmadığını bildiren hayvan çalışmaları da mevcuttur.

Sıçanların diz eklemine oluşturdıkları immobilizasyon modelinde Matsumoto ve ark. (101) subintimal alanda Tip-I kollajenin 4 ve 16 haftada arttığını, Tip-III kollajenin ise 16 ve 32 haftada azaldığını immunohistokimyasal olarak göstermiştir. Amiel ve ark. (102) tavşan dizlerinde dokuz hafta immobilizasyon sonrası kapsülde Tip-I kollajenin arttığını fakat Tip-III kollajenin artmadığını bildirmiştir. Diğer taraftan Hildebrand ve ark. (103, 104) tavşan dizlerinde 2, 4 ve 6 hafta immobilizasyon sonrası Tip-I ve Tip-III kollajenin mRNA ve protein seviyelerinin arttığını göstermiştir.

Hagiwara ve ark. (105) sıçanların diz eklemi kapsülünde 1, 2, 4, 8 veya 16 haftalarda Tip-I ve Tip-III kollajenin protein ve mRNA seviyelerinin artmadığını bildirmiştir. Oki ve ark. (10) farelerde oluşturdıkları Donuk omuz modelinde kapsül

dokusunda, Vegf (Vasküler endotelial büyüme faktörü), Tip-I, II, III ve VI kollajenin mRNA seviyelerinin arttığını gen analizi ile göstermiştir. Ayrıca damara spesifik olan anti-PECAM antikoru ile özellikle subakromiyal bursada artmış damarlanma olduğunu immunohistokimyasal olarak göstermiştir. Klinik çalışmalarda da artroskopik tedavi esnasında alınan patolojik incelemelerde artmış vasküler invazyon tespit edilmiştir (95, 106, 107).

Bizim çalışmamızda da kapsül dokusunda immobilize kontrol grupta hem kollajen tip 3 ve hem de kapiller damar sayılarının arttığı saptandı.

5.3. Donuk Omuzda Eklem içi KS ve TZP Tedavisinin Başarısını Kıyaslama

Literatürde Donuk omuzda hayvan modeli üzerinde eklemiçi KS ve TZP uygulamasının başarısını kıyaslayan klinik çalışma mevcut değildir ve bu açıdan bizim çalışmamız bilginiz dahilinde literatürdeki ilk çalışmadır.

Omuz eklemine uygulanan enjeksiyonlarda en büyük endişe, ilacın işlem sonucu eklem içine ulaşp ulaşmadığıdır. Eustace ve ark. (108) yapmış olduğu çalışmada, bir radyolojik görüntüleme olmadan omuz içine uygulanan enjeksiyonun %68 oranında başarısız olduğunu söylemişlerdir. Benzer şekilde başka çalışmalarda da (109-111) ultrason ve floroskopi kullanımı ile yapılan işlemin körlemesine ilaç uygulamasına göre daha başarılı olduğu bulunmuştur; fakat Cochrane meta-analizlerinde (112, 113) eklem içi veya eklem çevresi ilaç uygulamasının benzer sonuçlara sahip olduğu bildirilmiştir. Eklem çevresi enjeksiyonun sistemik etki göstererek faydalı olmadığı; iyileştirici etkisini KS'lerin kapsülden eklem içine penetrasyonu sonucu gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Rotator manşet sendromu için Bloom ve ark.'nın (112) 2012 de yaptığı meta-analizde, bir ultrason yardımcı subakromiyal enjeksiyon çalışmasında fayda sağlanamadığı, bunun aksine bir adet gluteal intramuskuler enjeksiyon çalışmasında ve dört adet landmark yardımcı enjeksiyon çalışmasında iyi sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir.

Tamai ve Yamamoto (114) tarafından Donuk omuzda dinamik manyetik rezonans görüntüleme ile yapılan çalışmada, hem glenohumeral eklemden hem de subakromiyal alanda artmış sinyal yoğunluğu saptanması inflamasyon olarak yorumlanmıştır. Ochiai ve ark. (9) tarafından sıçanlarda oluşturulan Donuk omuz modelinde ise, hastalıkta ağrının kaynaklandığı yeri tespit etmek amacıyla, glenohumeral ekleme (Fluoro-Gold)

ve subakromiyal alana (1,1' Dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine) nörotransmitter (neurotracer) enjeksiyonu yapılmıştır. Sensöryal sinir aksonu boyunca retrograd olarak taşınan bu maddeler, sıçanların C1 - T1 arası dorsal kök ganglionları üzerinde, CGRP (Kalsitonin gen ilişkili peptit) antikoru ile boyanarak immunohistokimyasal olarak incelenmiştir. İmmobilizasyon grubunda ağrıya sekonder artmış CGRP boyanması saptanırken, glenohumeral ve subakromiyal alana enjekte edilen nörotransmitterler arasında boyanma şiddeti farklı bulunmamıştır. Bu nedenle eklem içi uygulamada efektif bir konservatif tedavi yöntemi olarak kabul edilen glukokortikoid enjeksiyonunun subakromiyal alanda da potansiyel olarak etkili bir tedavi olduğunu söylemişlerdir.

Bu çalışmada da eklem çevresi enjeksiyonun da etkili olduğu bilindiğinden dolayı (115); deney sırasında enjeksiyonun radyolojik görüntüleme eşliğinde yapılmasına ihtiyaç duyulmadı.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Günlük yaşamı ileri derecede kısıtlayan, iyileşme süresi on yıla kadar uzayabilen Donuk omuz, hem hasta hem de toplum için önemli sosyo-ekonomik kayıplara ve psikolojik sorunlara yol açan bir rahatsızlıktır.

Multifaktöryel sebeplerden oluşan ve nedeni tam olarak bilinmeyen bu hastalığın fizyopatolojisi ve tedavi yollarını araştırmak oldukça önemlidir. Bu nedenle, sıçanlar üzerinde oluşturulan Donuk omuz modelinde uygulanan eklem içi KS ve TZP tedavi yöntemlerinin etkileri ve üstünlüklerinin belirlenmesi bu çalışmada amaçlandı.

Çalışma sonucunda özet olarak aşağıda açıklanan bulgulara ulaşılmıştır:

1. Biyomekanik açıdan incelemede, KS grubunun EHA'larındaki artış düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, klinik açıdan iyileşme gösterse de istatistiksel açıdan anlamlı fark oluşturmadığı belirlendi.
2. TZP tedavisi uygulanan gruptaki hayvanların, Kontrol grubundan add. ve toplam EHA da klinik açıdan iyileşme gösterse de istatistiksel açıdan hiçbir yönde anlamlı fark oluşturacak düzeyde iyileşemediği anlaşıldı.
3. KS grubunun eklem hareket açıklıklarındaki artış düzeyi, TZP grubu ile karşılaştırıldığında ise klinik açıdan iyileşme göstermesine rağmen istatistiksel açıdan anlamlı fark oluşturacak düzeyde iyileşemediği tespit edildi.

Biyomekanik Sonuç:

Sonuç olarak, üç grubun biribiri ile karşılaştırılmasında klinik açısından fark çok az olsa bile KS uygulanan sıçanların biyomekanik açıdan diğer iki gruba göre daha iyi iyileştiği tespit edildi. TZP'nin, EHA üzerinde etkisi, kontrol grubuna göre daha iyi olmasına rağmen, KS'e göre daha iyileşemenin daha az olduğu saptandı. Fakat tüm ortalamalar karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanamadı.

Histopatolojik Sonuç:

Histopatolojik açıdan değerlendirmede ise Donuk omuzun evreleri arasında belirgin bir sınır olmaması, uygulanan tedavilerin başarısını etkilediği düşünülmektedir.

Örneğin uygulanan TZP veya KS'in, Donuk omuzun en çok hangi evresinde daha etkili olduğu tartışmalı bir konudur. Bu nedenle, bizim çalışmamız, sıçanlarda oluşturulan diğer Donuk omuz modellerindeki gibi, sekiz haftalık immobilizasyon sonrası (yani kapsüler kalınlaşma ve fibrozis artışı olduğu dönem sonrası), hastalığın ikinci evresi olan donuk omuz oluşma döneminde yapılmıştır. Buna karşın, KS tedavisinin ikinci dönemde etkin olmasının sebebinin, ilk dönemdeki inflamatuvar bulgular olduğu şeklinde düşünülmektedir. İkinci dönem (8. haftadan sonra) ile uyumlu histopatolojik bulguların saptandığı bir hayvan modeli üzerinde, KS tedavisinin başarısını değerlendirmemiz, çalışmamızın eleştiriye açık olan yönlerinden biridir. Bundan sonraki çalışmalarda inflamatuvar bulguların saptandığı erken dönemlerde başlanan tedavilerin etkileri incelenebilir. Erken dönem uygulanan tedavi ile Donuk omuz gelişmediği ispatlanırsa; omuz immobilizasyonu gerektiren durumlarda profilaktik olarak eklem içi KS veya TZP gibi uygulamaların tedavisi klinik çalışmalarda araştırılabilir.

Sonraki çalışmalarda, tedavi sonrası daha uzun dönemli takip süreleri ile, donuk omuza ait değişikliklerin geri dönüşümlü olup olmadığına incelenebilir. Ayrıca daha detaylı incelemek için diğer çalışmalar için sham ve doğal seyir gruplarını da oluşturmak ve biyomekanik ölçümlerde de iç ve dış rotasyonlarının ölçülmesi gerekebilir.

7.KAYNAKLAR

1. Lorbach O, Anagnostakos K, Scherf C, et al. Nonoperative management of adhesive capsulitis of the shoulder: oral cortisone application versus intra-articular cortisone injections. *J Shoulder Elbow Surg* 19: 172-9, 2010.
2. Buchbinder R, Green S, Youd JM, et al. Oral steroids for adhesive capsulitis. *Cochrane Database Syst Rev* 4: CD006189, 2006.
3. Kvarstein G. Frozen shoulder and corticosteroids--still a need for needles? 156: 1587-8, 2015.
4. Takase K. Oral steroid therapy for frozen shoulder. *West Indian Med J* 59: 674-9, 2010.
5. Widiastuti-Samekto M, Sianturi GP. Frozen shoulder syndrome: comparison of oral route corticosteroid and intra-articular corticosteroid injection. *Med J Malaysia* 59: 312-6, 2004.
6. Liu Y.L, Ao YF, Cui GQ , et al. Changes of histology and capsular collagen in a rat shoulder immobilization model. *Chin Med J (Engl)* 124: 3939-44, 2011.
7. Kim D.H, Lee KH, Lho YMet, al. Characterization of a frozen shoulder model using immobilization in rats.*J Orthop Surg Res* 11: 160, 2016.
8. Kanno A, Sano H, Itoi E, Development of a shoulder contracture model in rats. *J Shoulder Elbow Surg* 19: 700-8, 2010.
9. Ochiai N, Ohtori S, Kenmoku T, et al. Sensory innervation of rat contracture shoulder model. *J Shoulder Elbow Surg* 22: 158-64. 2013.
10. Oki S, Shirasawa H, Yoda M, et al. Generation and characterization of a novel shoulder contracture mouse model. *J Orthop Res* 33: 1732-8, 2015.
11. Villa-Camacho JC, Okajima S, Perez-Viloria ME, et al. In vivo kinetic evaluation of an adhesive capsulitis model in rats.*J Shoulder Elbow Surg* 24: 1809-16, 2015.
12. Reeves B. The natural history of the frozen shoulder syndrome. *Scand J Rheumatol* 4: 193-6, 1975.
13. Bhargav D. Murrell GAC. Basic science of adhesive capsulitis. *Techniques in Shoulder & Elbow Surgery* 12: 126–9, 2011.

14. Lynch TS, Edwards SL. Adhesive capsulitis: current concepts in diagnosis and treatment. *Current Orthopaedic Practice* 24: 365–9, 2013.
15. Duplay S. De la périarthrite scapulo-humérale et des raideurs de l'épaule qui en sont la conséquence. *Arch Gen Med* 20: 513-514, 1872.
16. Codman E. The shoulder: rupture of the supraspinatus tendon and other lesions in or about the subacromial bursa. Boston, MA: Thomas Todd Co. 1934
17. Neviaser JS. Adhesive capsulitis of the shoulder. *J Bone Joint Surg Am* 27 :211-22, 1945.
18. Neviaser AS, Neviaser JS. Adhesive capsulitis of the shoulder. *J Am Acad Orthop Surg* 19: 536-42, 2011.
19. Tasto JP, Elias DW. Adhesive capsulitis. *Sports Med Arthrosc* 15: 216–21, 2007.
20. Tighe CB, Oakley WS Jr. The prevalence of a diabetic condition and adhesive capsulitis of the shoulder. *South Med J* 101: 591–5, 2008.
21. Travell JG, Simmons DG. Myofascial pain and dysfunction: trigger point manual. Baltimore: Williams & Wilkins, 3, 63-74, 1983.
22. Bunker TD, Esler CAN. Frozen shoulder and lipids. *J Bone Joint Surg Br* 77: 684-6, 1995.
23. Bunker TD, Reilly J, Baird KS, et al. Expression of growth factors cytokines and matrix metalloproteinases in frozen shoulder. *J Bone Joint Surg* 82: 768-73, 2000.
24. Griggs SM, Ahn A, Green A, Idiopathic adhesive capsulitis: a prospective functional outcome study of non-operative treatment. *J Bone Joint Surg Am* 82: 1398-407, 2000.
25. Lequesne M, Dang N, Bensasson M, et al. Increased association of diabetes mellitus and capsulitis of the shoulder and shoulder hand syndrome. *Scand J Rheumatol* 6: 53-6, 1977.
26. Iannotti JP, Williams GR. Disorders of the Shoulder: Diagnosis and Management. ed 2. Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins 539-60, 2007.
27. Grasland A, Ziza JM, Gilles R, et al. Adhesive capsulitis of shoulder and treatment with protease inhibitors in patients with human immunodeficiency virus infection: report of 8 cases. *J Rheumatol* 27: 2642-6, 2000.

28. Hutchinson JW, Tierney GM, Parsons SL, et al. Dupuytren's disease and frozen shoulder induced by treatment with a matrix metalloproteinase inhibitor. *J Bone Joint Surg Br* 80: 907-8, 1998.
29. Massoud SN, Pearse EO, Levy O, et al. Operative management of the frozen shoulder in patients with diabetes. *J Shoulder Elbow Surg* 11: 609-13, 2002.
30. Neviaser AS, Hannafin JA. Adhesive capsulitis: a review of current treatment. *Am J Sports Med* 38: 2346-56, 2010.
31. Sheridan MA, Hannafin JA. Upper extremity: emphasis on frozen shoulder. *Orthop Clin North Am* 37: 531-9, 2006.
32. Bunker TD, Anthony PP. The Pathology of frozen shoulder: A Dupuytren-like Disease. *J Bone Joint Surg Br* 77: 677-83, 1995.
33. Ozaki J, Nakagawa Y, Sakurai G, et al. Recalcitrant chronic adhesive capsulitis of the shoulder: role of contracture of the coracohumeral ligament and rotator interval in pathogenesis and treatment. *J Bone Joint Surg Am* 71: 1511-5, 1989.
34. Smith AM. Frozen Shoulder. In: Galatz LM ed. *Shoulder and Elbow* 3. Rosemont, IL, American Academy of Orthopaedic Surgeons 577-83, 2008.
35. Robinson CM, Seah KT, Chee YH, et al. Frozen shoulder *J Bone Joint Surg Br* 94:1-9, 2012.
36. DePalma A. *Surgery of the Shoulder*. Philadelphia, PA: Lippincott; 1973.
37. Nicholson GG. The effects of passive joint mobilization on pain and hypomobility associated with adhesive capsulitis of the shoulder. *J Orthop Sports Phys Ther* 6: 238-46, 1985.
38. Rundquist PJ, Anderson DD, Guanche CA, et al. Shoulder kinematics in subjects with frozen shoulder. *Arch Phys Med Rehabil* 84:1473-9, 2003.
39. Vermeulen HM, Obermann WR, Burger BJ, et al. Endrange mobilization techniques in adhesive capsulitis of the shoulder joint: A multiple-subject case report. *Phys Ther* 80:1204-13, 2000.
40. Cyriax J. *Textbook of Orthopaedic Medicine: Diagnosis of Soft Tissue Lesions*. 7: 535, 1983.

41. Bunker TD, Anthony PP. The pathology of frozen shoulder. A Dupuytren-like disease. *J Bone Joint Surg Br* 77: 677-83, 1995.
42. Rizk TE, Pinals RS. Frozen shoulder. *Semin Arthritis Rheum* 11: 440-52, 1982.
43. Binder AI, Bulgen DY, Hazleman BL, et al. Frozen shoulder: an arthrographic and radionuclear scan assessment. *Ann Rheum Dis* 43: 365-9, 1984.
44. Shaffer B, Tibone JE, Kerlan RK. Frozen shoulder. A long-term follow-up. *J Bone Joint Surg Am* 74: 738-46, 1992.
45. Jurgel J, Rannama L, Gapeyeva H, et al. Shoulder function in patients with frozen shoulder before and after 4 week rehabilitation. *Medicina (Kaunas)* 41: 30-8, 2005.
46. Leggin B, Kelley MJ, Pontillo M. Impairments and Function in Patients with Frozen Shoulder Compared to Patients with Rotator Cuff Tendonopathy. *Second International Congress of Shoulder Therapists. Bahia, Brazil: 2007.*
47. Neviaser RJ. Painful conditions affecting the shoulder. *Clin Orthop Relat Res* 173: 63-69, 1983.
48. Lee JC, Guy S, Connell D, et al. MRI of the rotator interval of the shoulder. *Clin Radiol* 62: 416-23, 2007.
49. Lee JC, Sykes C, Saifuddin A, et al. Adhesive capsulitis: sonographic changes in the rotator cuff interval with arthroscopic correlation. *Skeletal Radiol* 34: 522-7, 2005.
50. Dias R, Cutts S, Massoud S. Frozen shoulder. *BMJ* 331: 1453-6, 2005.
51. Reeves B. The natural history of the frozen shoulder syndrome. *Scand J Rheumatol* 4: 193-6, 1975.
52. Akpınar S, Özalay M, Hersekli MA, et al. Arthroscopic capsular release for frozen shoulder. *Acta Orthop Traumatol Turc* 37: 213-8, 2003.
53. Levine WN, Kashyap CP, Bak SF, et al. Nonoperative management of idiopathic adhesive capsulitis. *J Shoulder Elbow Surg* 16: 569-73, 2007.
54. Hsu JE, Anakwenze OA, Warrender WJ, et al. Current review of adhesive capsulitis. *J Shoulder Elbow Surg* 20: 502-14, 2011.
55. Oh JH, Oh CH, Choi JA, et al. Comparison of glenohumeral and subacromial steroid injection in primary frozen shoulder: a prospective, randomized short-term comparison study. *J Shoulder Elbow Surg* 20: 1034-40, 2011.

56. Sethi PM, Kingston S, Elattrache N. Accuracy of anterior intra-articular injection of the glenohumeral joint. *Arthroscopy* 21: 77–80, 2005.
57. Carrette S, Moffet H, Tardif J, et al. Intraarticular corticosteroids, supervised physiotherapy, or a combination of the two in the treatment of adhesive capsulitis of the shoulder: a placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 48: 829–38, 2003.
58. Buchbinder R, Hoving JL, Green S, et al. Short course prednisolone for adhesive capsulitis (frozen shoulder or stiff painful shoulder): a randomised, double blind, placebo controlled trial. *Ann Rheum Dis* 63: 1460–9, 2004.
59. Chen HS, Chang KH, Kang JH, et al. Treatment of frozen shoulder with intra-articular injection of botulinum toxin in shoulder joints. *Med Hypotheses* 77: 305–7, 2011.
60. Khan AA, Mowla A, Shakoor MA, et al. Arthrographic distension of the shoulder joint in the management of frozen shoulder. *Mymensingh Med J* 14: 67-70, 2005.
61. Nevisaser AS, Nevisaser JS. Adhesive capsulitis of the shoulder. *J Am Acad Orthop Surg* 19: 536-42, 2011.
62. Kivimäki J, Pohjolainen T, Malmivaara A, et al. Manipulation under anesthesia with home exercises versus home exercises alone in the treatment of frozen shoulder: a randomized, controlled trial with 125 patients. *J Shoulder Elbow Surg* 16: 722-726, 2007.
63. Dodenhoff RM, Levy O, Wilson A, et al. Manipulation under anesthesia for primary frozen shoulder: effect on early recovery and return to activity. *J Shoulder Elbow Surg* 9: 23-26, 2000.
64. Quraishi NA, Johnston P, Bayer J, et al. Thawing the frozen shoulder: a randomised trial comparing manipulation under anaesthesia with hydrodilatation. *J Bone Joint Surg Br* 89: 1197-1200, 2007.
65. Berghs BM, Sole-Molins X, Bunker TD, Arthroscopic release of adhesive capsulitis. *J Shoulder Elbow Surg* 13: 180–5, 2004.
66. Paoloni J, De Vos RJ, Hamilton B, et al. Platelet-rich plasma treatment for ligament and tendon injuries. *Clin J Sport Med* 21: 37-45, 2011.
67. Rees JD, Wilson AM, Wolman RL, Current concepts in the management of tendon disorders. *Rheumatology (Oxford)* 45: 508-21, 2006.

68. Rees JD, Maffulli N, Cook J. Management of tendinopathy. *Am J Sports Med* 37: 1855-67, 2009.
69. Maynard DM, Heijnen HF, Horne MK, et al. Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry. *J Thromb Haemost* 5: 1945–55, 2007.
70. Italiano JE, Hartwig JH. Megakaryocyte Development and Platelet Formation, in *Platelets*, Amsterdam: Elsevier 63–85, 2007
71. Josefsson EC, Dowling MR, Lebois M, et al. The regulation of platelet life span. In: Michelson AD, editor. *Platelets*, 3rd ed. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier/Academic Press 51–65, 2013.
72. Hoffmeister KM, The role of lectins and glycans in platelet clearance. *J Thromb Haemost* 9: 35–43, 2011.
73. Schwertz H, Köster S, Kahr WH, et al. Anucleate platelets generate progeny. *Blood* 115: 3801–9, 2010.
74. Handagama PJ, George JN, Shuman MA, et al. Incorporation of a circulating protein into megakaryocyte and platelet granules. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 861–5, 1987.
75. Kendal EC. The development of cortisone as a therapeutic agent. 1950; Available from: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1950/kendall-lecture.pdf.
76. Hollander JL. The local effects of compound F (hydrocortisone) injected into joints. *Bull Rheum Dis* 2: 3-4, 1951.
77. Hollander JL. Intrasynovial corticosteroid therapy in arthritis. *Md State Med J* 19: 62-6, 1970.
78. Noyes FR, Grood ES, Nussbaum NS, et al. Effect of intra-articular corticosteroids on ligament properties: a biomechanical and histological study in rhesus knees. *Clin Orthop Relat Res*, 123: 197-209, 1977.
79. MacLaren R, Jung R. Stress-dose corticosteroid therapy for sepsis and acute lung injury or acute respiratory distress syndrome in critically ill adults. *Pharmacotherapy* 22: 1140-56, 2002.
80. van der Meer JW. Immunomodulation by antimicrobial drugs. *Neth J Med* 61: 233-4, 2003.
81. McGowan JE Jr, Chesney PJ, Crossley KB, et al. Guidelines for the use of systemic glucocorticosteroids in the management of selected infections. Working Group on

Steroid Use, Antimicrobial Agents Committee, Infectious Diseases Society of America. J Infect Dis 165: 1-13, 1992.

82. Kapıcıoğlu S. Kortikosteroidler. Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği 6: 67-68, 2007.

83. Heithaus PA. Rat forelimb muscular system. Available from: <http://biology.kenyon.edu/courses/biol10/110pdfs/9muscle.pdf>.

84. Mieke R. Rat Frontpaw and Shoulder Anatomy. Available from: http://miekeroth.com/animals/frontpaw_rat/.

85. Norlin R, Hoe-Hansen C, Oquist G, et al. Shoulder region of the rat: anatomy and fiber composition of some suprascapular nerve branches. Anat Rec 239: 332-42, 1994.

86. Edelstein L, Thomas SJ, Soslowsky LJ. Rotator cuff tears: what have we learned from animal models? J Musculoskelet Neuronal Interact 11: 150-62, 2011.

87. Soslowsky LJ, Carpenter JE, DeBano CM, et al. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. J Shoulder Elbow Surg 5: 383-92, 1996.

88. Schollmeier G, Uhthoff HK, Sarkar K, et al. Effects of immobilization on the capsule of the canine glenohumeral joint. A structural functional study. Clin Orthop Relat Res 304: 37-42, 1994 .

89. Shollmeier G, Sarkar K, Fukuhara K, et al. Structural and functional changes in the canine shoulder after cessation of immobilization. Clin Orthop Relat Res 323: 310-5, 1996.

90. Thomopoulos S, Williams GR, Soslowsky LJ. Tendon to bone healing: differences in biomechanical, structural, and compositional properties due to a range of activity levels. J Biomech Eng 125:106-13, 2003.

91. Gimbel JA, Van Kleunen JP, Williams GR, et al, Long durations of immobilization in the rat result in enhanced mechanical properties of the healing supraspinatus tendon insertion site. J Biomech Eng 129: 400-4, 2007.

92. Sarver JJ, Peltz CD, Dourte, et al. After rotator cuff repair, stiffness--but not the loss in range of motion-- increased transiently for immobilized shoulders in a rat model. J Shoulder Elbow Surg 17: 108-113, 2008.

93. Ozaki J, Nakagawa Y, Sakurai G, et al. Recalcitrant chronic adhesive capsulitis of the shoulder. Role of contracture of the coracohumeral ligament and rotator interval in pathogenesis and treatment. J Bone Joint Surg Am 71:1511-5, 1989.

94. Bunker TD, Anthony P P. The pathology of frozen shoulder. A Dupuytren-like disease. *J Bone Joint Surg Br* 77: 677-83, 1995.
95. Wiley AM. Arthroscopic appearance of frozen shoulder. *Arthroscopy* 7: 138- 43, 1991.
96. Uitvlugt G, Detrisac DA, Johnson LL, et al. Arthroscopic observations before and after manipulation of frozen shoulder. *Arthroscopy* 9: 181-5, 1993.
97. Hand GC, Athanasou NA, Matthews T, et al. The pathology of frozen shoulder. *J Bone Joint Surg Br* 89: 928-32, 2007.
98. Rodeo SA, Hannafin JA, Tom J, et al. Immunolocalization of cytokines and their receptors in adhesive capsulitis of the shoulder. *J Orthop Res* 15: 427-36, 1997.
99. Uhthoff H K, Boileau P. Primary frozen shoulder: global capsular stiffness versus localized contracture. *Clin Orthop Relat Res* 456:79-84, 2007.
100. Bunker TD, Reilly J, Baird KS, et al., Expression of growth factors, cytokines and matrix metalloproteinases in frozen shoulder. *J Bone Joint Surg Br* 82: 768-73, 2000.
101. Matsumoto F, Trudel G, Uhthoff HK. High collagen type I and low collagen type III levels in knee joint contracture: an immunohistochemical study with histological correlate. *Acta Orthop Scand* 73: 335-43, 2002.
102. Amiel D, Akeson WH, Harwood FL, et al. The effect of immobilization on the types of collagen synthesized in periarticular connective tissue. *Connect Tissue Res* 8: 27-32, 1980.
103. Hildebrand KA, Zhang M, Hart DA. Joint capsule matrix turnover in a rabbit model of chronic joint contractures: Correlation with human contractures. *J Orthop Res* 24: 1036-43, 2006.
104. Hildebrand KA, Zhang M, Gernscheid NM, et al. Cellular, matrix, and growth factor components of the joint capsule are modified early in the process of posttraumatic contracture formation in a rabbit model. *Acta Orthop* 79: 116-25, 2008.
105. Hagiwara Y, Ando A, Onoda Y, et al. Expression patterns of collagen types I and III in the capsule of a rat knee contracture model. *J Orthop Res* 28: 315-21, 2010.
106. Yamaguchi K, Sethi N, Bauer GS. Postoperative pain control following arthroscopic release of adhesive capsulitis: a short-term retrospective review study of the use of an intra-articular pain catheter. *Arthroscopy* 18: 359-65, 2002.

107. Okuno Y, Oguro S, Iwamoto W, et al. Short-term results of transcatheter arterial embolization for abnormal neovessels in patients with adhesive capsulitis: a pilot study. *J Shoulder Elbow Surg* 23:199-206, 2014.
108. Eustace JA, Brophy D, Gibney R, et al. Comparison of the accuracy of steroid placement with clinical outcome in patients with shoulder symptoms. *Ann Rheum Dis* 56: 59-63, 1997.
109. Sibbitt WL, Jr, Peisajovich A, Michael AA, et al. Does sonographic needle guidance affect the clinical outcome of intraarticular injections? *J Rheumatol* 36: 1892-902, 2009.
110. Naredo E, Cabero F, Beneyto P, et al. A randomized comparative study of short term response to blind injection versus sonographic-guided injection of local corticosteroids in patients with painful shoulder. *J Rheumatol* 31: 308-14, 2004.
111. Edmund S, Wenyun L, Keh OO, et al. Image-guided versus blind corticosteroid injections in adults with shoulder pain: a systematic review. *BMC Musculoskelet Disord* 12: 137, 2011.
112. Bloom JE, Rischin A, Johnston RV, et al. Image-guided versus blind glucocorticoid injection for shoulder pain. *Cochrane Database Syst Rev* 8: CD009147, 2012.
113. Buchbinder R, Green S, Youd JM. Corticosteroid injections for shoulder pain. *Cochrane Database Syst Rev* 1: CD004016, 2003.
114. Tamai K, Yamato M. Abnormal synovium in the frozen shoulder: a preliminary report with dynamic magnetic resonance imaging. *J Shoulder Elbow Surg* 6: 534-43, 1997.
115. Cho CH, Kim du H, Bae KC, et al. Proper site of corticosteroid injection for the treatment of idiopathic frozen shoulder: Results from a randomized trial. *Joint Bone Spine* 83: 324-9, 2016