

**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TENDON MATERYALİNİN KEMİK TÜNEL İÇERİSİNDE  
İYİLEŞMESİNE GLUKOZAMİN KONDROİTİN SÜLFATIN  
ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. ANIL TAŞKESEN**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. SACİT TURANLI**

**ANKARA  
EKİM 2012**

## ÖNSÖZ

*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji ABD' de araştırma görevlisi olarak çalıştığım süre içinde bilgi ve becerilerimin her geçen gün artmasında ve bu mesleğin inceliklerini öğrenmemde kendi tecrübeleri ve bilgilerini bana aktararak destek olan, etik ve bilimsel açıdan örnek aldığım; tez danışmanım Prof. Dr. Sacit Turanlı başta olmak üzere değerli eğitmenlerim Prof.Dr. Şahap Atik, Prof.Dr. Haluk Yetkin, Prof. Dr. Selçuk Bölükbaşı, Prof. Dr. Necdet Altun, Prof. Dr. Erdal Cila, Prof. Dr. Ertuğrul Şener, Prof. Dr. Aykın Şimşek, Prof. Dr. Ulunay Kanatlı, Doç. Dr. Hamza Özer, Doç. Dr. Alpaslan Şenköylü, Doç. Dr. Hakan Selek, Doç. Dr. Akif Muhtar Öztürk, Doç. Dr. Hakan Atalar, Doç. Dr. Erdinç Esen, Doç. Dr. Turgay Çavuşoğlu, ve Öğr. Gör. Dr. Baybars Ataoğlu'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.*

*Uzmanlık tezimi hazırlarken, ihtiyaç duyduğumda değerli zamanını benim için ayıran ve bu çalışmada desteğini her zaman hissettiğim Doç. Dr. Hamza Özer'e ayrıca teşekkürlerimi sunarım.*

*Uzmanlık eğitimimde emek harcayan uzman ağabeylerim ve eğitimim süresince her konuda yardım ve desteklerini gördüğüm tüm asistan arkadaşlarıma, poliklinik, servis ve ameliyathane hemşire, personel ve sekreterlerine, Ft. Funda Bülgin Kesici'ye, tezimin hazırlanması aşamasında bana destek ve yardımcı olan Prof. Dr. Metin Gürü, Prof. Vet. Oğuz Kul ve Vet. Elif Kaya'ya teşekkür ederim.*

*Tüm yaşamım boyunca yetişmemi sağlayan ve sonsuz desteklerini esirgemeyen annem Ayla Taşkesen ve babam Ömer Serdar Taşkesen'e, zorlu uzmanlık eğitim hayatımda bana her zaman destek olan ve daima sevgi, özveri ve anlayışla yanımda yer alan sevgili eşim Dr. Nermin Kozpınar Taşkesen'e sonsuz teşekkür ederim.*

## İÇİNDEKİLER

|                                                               |                                  |
|---------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| 1.GİRİŞ.....                                                  | 5                                |
| 2.GENEL BİLGİLER .....                                        | 8                                |
| 2.1.TENDONLAR .....                                           | 8                                |
| 2.1.1. <i>Tendonların Yapısı</i> .....                        | 8                                |
| 2.1.2. <i>Tendonun Bölümleri</i> .....                        | 12                               |
| 2.1.3 <i>Kemik Tendon Bileşkesi</i> .....                     | 13                               |
| 2.1.3.1. <i>Normal Enthezis</i> .....                         | 14                               |
| 2.1.4. <i>Tendon Tipleri</i> .....                            | 16                               |
| 2.1.5. <i>Tendon Biyomekaniği</i> .....                       | 17                               |
| 2.1.6. <i>Tendon Yaralanma Tipleri</i> .....                  | 19                               |
| 2.1.7. <i>Tendon İyileşmesi</i> .....                         | 21                               |
| 2.2.KOLLAJEN.....                                             | 23                               |
| 2.2.1. <i>Kollajen Tipleri</i> .....                          | 24                               |
| 2.3.GLUKOZAMİN-KONDROİTİN SÜLFAT.....                         | 25                               |
| 2.3.1. <i>Glukozamin</i> .....                                | 25                               |
| 2.3.2. <i>Kondroitin Sülfat</i> .....                         | 26                               |
| 2.3.3. <i>Glukozamin Kondroitin Sülfat Kombinasyonu</i> ..... | 27                               |
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM .....                                       | 29                               |
| 3.1.CERRAHİ TEKNİK.....                                       | 30                               |
| 3.2.MAKROSKOPİK DEĞERLENDİRME .....                           | 37                               |
| 3.3.HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME .....                            | 39                               |
| 3.4.BİYOMEKANİK DEĞERLENDİRME .....                           | 42                               |
| 3.5.İSTATİSTİK.....                                           | 45                               |
| 4.BULGULAR.....                                               | HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ. |
| 4.1.HİSTOLOJİK BULGULAR .....                                 | 46                               |
| 4.2. BİYOMEKANİK BULGULAR.....                                | 57                               |

|                                    |                                         |
|------------------------------------|-----------------------------------------|
| <b>5.TARTIŞMA.....</b>             | <b>HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.</b> |
| <b>6.SONUÇ .....</b>               | <b>69</b>                               |
| <b>7.ÖZET .....</b>                | <b>72</b>                               |
| <b>8.ABSTRACT.....</b>             | <b>74</b>                               |
| <b>9.EKLER .....</b>               | <b>76</b>                               |
| <b>9.1.ETİK KURUL ONAYI.....</b>   | <b>76</b>                               |
| <b>10.KAYNAKLAR .....</b>          | <b>77</b>                               |
| <b>10.1. ŞEKİL KAYNAKLARI.....</b> | <b>84</b>                               |

## 1. GİRİŞ

Tendon yaralanmaları günümüzde sık karşılaşılan bir kas iskelet sistemi patolojisidir. Yaralanmalar fazla kullanıma, travmaya veya enflamatuvar sürece bağlı olabilirler. Tendon ve bağ yaralanmaları kas iskelet yaralanmaları içinde 15. sırada yer alırken spor yaralanmalarının %30-50'sini oluşturmaktadırlar (1). Bu yaralanmalar tendonların gövde kesimlerinde oluşabileceği gibi tendonların kemiğe bağlantı noktalarından da meydana gelebilir. Tendon yaralanmaları kendiliğinden iyileşme sonrası fonksiyonel kayıplara neden olabileceklerinden cerrahi tamire ihtiyaç duyarlar. Cerrahi tedavi sonrası tendonun yeniden kemiğe güçlü bir şekilde bağlanması eklem hareketlerinin fonksiyonel olarak sağlanması açısından önemlidir. Aynı zamanda iyileşme sonrası ortaya çıkabilecek güç kayıpları eklemlerde osteoartrite yol açabilir (2). İyileşme döneminin başlangıcı bağlantının en güçsüz olduğu dönemdir. Bu dönemde genellikle hareket kısıtlaması ve yük vermekten kaçınmak gereklidir (3). İyileşme döneminin uzunluğu kişinin fiziksel aktivite kaybına ve buna bağlı olarak iş gücü kaybına neden olabileceğinden bir halk sağlığı sorunu olarak da göze çarpmaktadır.

Bağ yaralanmaları ise eklem içi ve eklem dışı olmak üzere iki farklı anatomik pozisyondaki yapılarda gelişebilir. Eklem dışı yaralanmalar dizin iç ve dış yan bağları, dirseğin iç yan bağları, omuzun orta-alt glenohumeral ligamanlarında sıklıkla görülebilmektedir. Eklem içi bağ yaralanmaları ise sıklıkla diz eklemi içerisindeki ön ve arka çapraz bağlarda oluşabilmektedir. Bağlara ait olan yaralanmalarda bütünlüğün korunmuş olması durumunda konservatif tedavi yöntemlerinin seçilirken bütünlüğü korunmamış olanlarda ise cerrahi rekonstrüksiyon gerekmektedir (42).

Tendon ve bağ tamirinde tendonun veya bağın gerçek yerine sabitlenmesi ve tendon/bağ-kemik doku arası bağlantının normal yapıya ulaşması önemlidir. Kemik-tendon/bağ bağlantısı; sert kemik dokudan yumuşak tendon/bağ dokusuna geçiş noktası olması nedeniyle karmaşık bir yapıdır. Bir yaralanma sonrası bu

bölgeyi oluşturan kollajen lifleri ve fibrokartilajın yeniden düzenlenmesi aşaması mekanik gücün yeniden sağlanması açısından hayati önem taşır. Ancak, bu geçiş bölgesinin iyileşme potansiyeli bölgenin hipovasküler bir yapıya sahip olmasından dolayı düşüktür (4,5).

Tendonun kemiğe bağlanması karmaşık bir süreçtir. Öncelikle arayüzde bir fibrotik doku oluşur, bunu yeni kemik doku oluşumu ve kemiğin tendonun içine doğru büyümesi izler. En son aşamada ise yeniden şekillenme gerçekleşir (6,7). Bu aşamalardan herhangi birisinde meydana gelebilecek aksama veya gecikme tendonun ve dolayısı ile kasın eski gücüne ulaşamamasına ve fonksiyonel kayıplara neden olabilir.

Tamir bölgesinin iyileşme problemleri, bağlantı noktasındaki kemik rezorbsiyonundan, fibrokartilaj geçiş bölgesinin yeniden yapılanma sorunlarından veya tendon-kemik arası oluşan kollajen liflerinin eksikliğinden kaynaklanabilir (8,9,10). Kemik-tendon arası bağlantının iyileşmesi tendon ve kemik arasındaki fibrovasküler arayüzün doğru şekillenmesine ve daha sonra kemiğin bu arayüze tutunmasına bağlıdır. Aynı zamanda iyileşme sonrası tendonun çekme gücü tendon ve kemik arasında oluşan kollajen liflerinin devamlılığı ile doğrudan ilişkilidir (11).

Zaman içerisinde bu bölgenin daha hızlı ve daha sağlam bir şekilde iyileşebilmesi için çeşitli yöntemler denenmiştir. Bu yöntemler arasında şok dalgaları uygulaması, allojen kondrositler, platelet kaynaklı büyüme faktörleri, kemik iliği hücreleri, kemik morfojenik proteini bulunmaktadır (12,13). Bunlar dışında Plateletten Zengin Plazma (PZP) da son zamanlarda popülerlik kazanmış ve kullanılmıştır. PZP'nin tenosit proliferasyonunu arttırdığına ve kollajen yapımını uyardığına dair yayınlar mevcuttur (14). Çeşitli büyüme faktörleri, tendon çevresini periost ile kaplama yöntemi de denenmiş yöntemler arasındadır (15). Bu yöntemlerden bazıları olumlu sonuçlar ortaya koymuştur.

Temel sağlık hizmetlerinin hızlı bir şekilde artması ve buna bağlı olarak ortalama yaşam sũresinin uzaması osteoartrit gibi uzun soluklu sağlık sorunlarının gũrũlme sıklığını da artırmıştır. Hem iş gũcũ kaybına hem de fonksiyonel bir yaşam sũrmeye engel olan osteoartrit'in tedavisinde medikal yũntemler ile beraber fizik tedavi yũntemleri de kullanılmaktadır. Tedaviye katkıda bulunmak amacı ile hastalığın semptomlarının ve kliniğinin geriletilmesi amacı ile destekleyici kimyasal ajanlar tedaviye eklenebilmektedir. Glukozamin-kondroitin sũlfat(GlcN-CS) gũnũmũzde sıklıkla kullanılan bir kimyasal birleşiktir. (16,17). GlcN-CS birleşiklerinin matriks proteoglikanlarının sentezini artırarak eklemlerde kıkırdak kaybına engel olduğu ve siklooksijenaz-2 (cox-2) inhibisyonu ile de anti-enflamatuar etki gũsterdiđi literatũrde bildirilmiştir. (17,18,64). GlcN-CS'nin kıkırdak, tendon ve bağdoku hũcreleri kũltũrlerinde kollajen sentezini uyardığı gũsterilmiřtir (20). Ancak bu etkinin canlılar ũzerinde gerçekteşişip gerçekteşmediğini gũsteren bir çalışma yoktur.

ũn çapraz bağ yaralanmaları sonrası da otojen ve ya allojen tendon greftleri kullanılarak tamir uygulanmaktadır. Bu tedavi metodunda tendon, kemik içinde açılan tũnellere çeşitli yũntemler ile sabitlenir ve bu tendonun ligament fonksiyonu gũrmesi beklenir. Ŗn çapraz bağ kopmaları ardından uygulanan bu cerrahinin en önemli komplikasyonu tũnellere yerleştirilen tendonun gevşemesi ve gũcũnũ kaybederek fonksiyon gũrememesidir (42).

AMAÇ: Bu çalışmamızda, kemik tũnel içine yerleştirilen tendonda, hũcre kũltũrlerinde kollajen sentezini uyaran ve anti-enflamatuar etki gũsteren glukozamin-kondroitin sũlfatın iyileşme sũrecine etkisini ve iyileşme sonrası oluşan kemik-tendon arası bağlantının gũcũnũ histolojik ve biyomekanik olarak araştırmayı amaçladık.

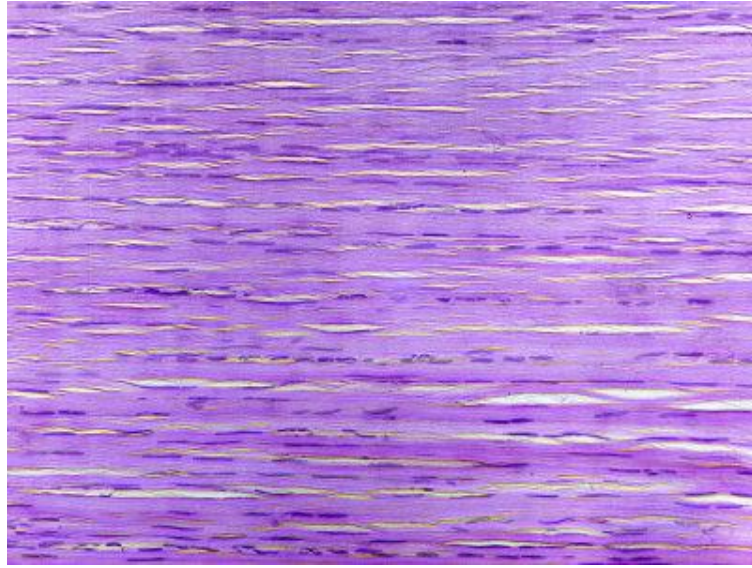
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. TENDONLAR

#### 2.1.1. Tendonların Yapısı

Tendonlar, kasları kemiğe bağlayan ve kasın kasılma kuvvetini kemiğe yansıtan fibröz bağlantı dokularıdır. Gerilmeye karşı dayanıklıdır (21). Sağlıklı bir tendonda kollajen lifleri birbirlerine paralel olarak paketlenmiş halde bulunurlar. Tendon kuru ağırlığının %86'sı kollajen, %2'si elastin, %1-5'i proteoglikanlar, %0,2'si ise bakır, manganez ve kalsiyum gibi inorganik komponentlerden oluşur. Kuru ağırlığın büyük bölümünü oluşturan ve tendonun ana yapı taşı olan kollajen fibroblastlar tarafından üretilir (22).

Tendonların uzunlamasına kesitlerinde fibroblastlar iğsi yapıda görünürlerken enine kesitlerde ise sitoplazmik uzantıları olan yıldızsı şekillerde görünürler (23) (Şekil 1 ve 2).

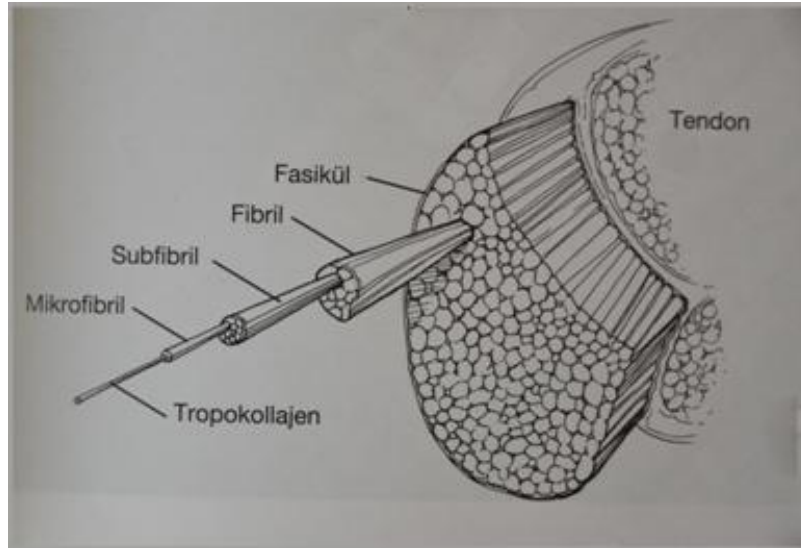


**Şekil 1.** Uzunlamasına kesit alınmış bit tendon görüntüsü. Fibroblastlar iğsi yapıda görünüyorlar.



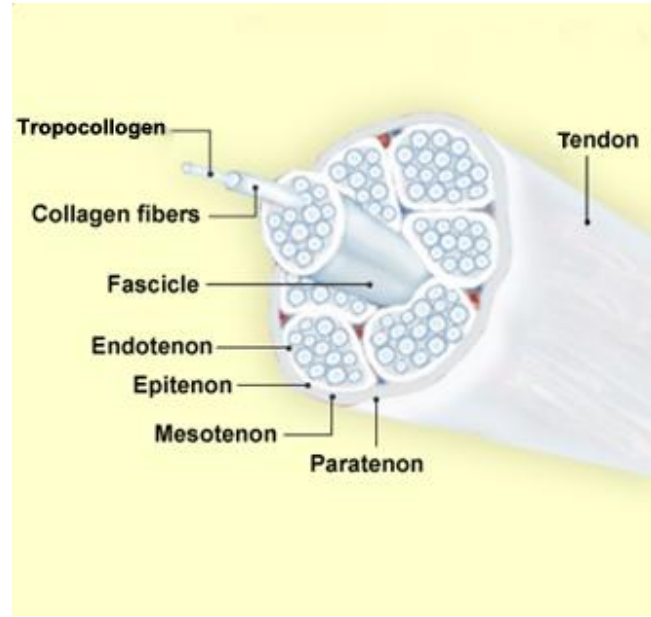
**Şekil 2.** Enine kesit alınmış bir tendon görüntüsü. Fibroblastlar matriks içinde yıldızsı şekilde görünüyorlar.

Fibroblastlarca üretilen kollajen molekülleri tendonun en küçük fonksiyonel yapı taşı olarak görülmektedirler. Kollajen molekülleri bir araya gelerek mikrofibrilleri oluştururlar. Mikrofibriller subfibrilleri, subfibriller fibrilleri meydana getirirler. Fibriller kasın kasılma doğrultusunda dizilirler. Fibriller birleşerek fasikülleri meydana getirirler (23) (Şekil 3).



**Şekil 3.** Tropokollajenlerin birleşerek tendon yapısını oluşturmalarının şematik çizimi.

Kollajen fibrilleri fasikülü oluşturmak için bir araya geldiklerinde epitenon ile kaplanırlar. Epitenon kasın kasılması sırasında kollajen fasiküllerinin kendi üzerlerinde kaymasına yardımcı olur. Epitenon ile kaplanan fasiküller bir araya gelir ve tendonu oluştururlar. Tendonlar genelde paratenon adı verilen bir zar ile kaplıdır (23) (Şekil 4). Paratenon tendonun beslenmesinde görev alır.



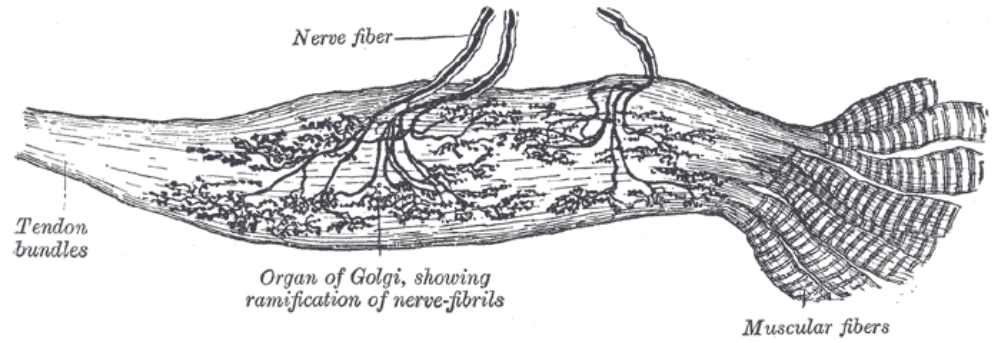
**Şekil 4.** Fasikülleri saran epitenon ve tendonu saran paratenonun şematik çizimi.

Tendon yapısında bulunan kollajenin %97-98 kadarı tip I kollajendir. Kıkırdak birleşme yerinde tip II, damar duvarlarının çevresinde tip III ve tip V, kapiller damarların bazal membranlarında tip IX ve tip IV kollajen ve minaralize fibrokartilaj bölgede de tip X kollajen bulunur (24).

Tendonların %1-5'ini oluşturan proteoglikanlar büyük ölçüde hidrofiliktirler ve su moleküllerine bağlanırlar. Proteoglikanlardan en fazla oranda bulunan dekorindir. Dekorinin görevi tendon gelişimi ve iyileşmesi sırasında kollajen liflerinin çapının ayarlanmasıdır. Dekorin normal bir tendonda yükü kollajen lifleri arasında transfer eder. Tendonda bulunan bir diğer proteoglikan agregandır. Agregan kompresif alanlarda bulunur (23). Proteoglikanlar kollajen

fibrilleri ile bir arada bulunurlar. Sahip oldukları glikozaminoglikan zicirleri fibriller ile bağlantı halindedir. Tendonun ana glizaminoglikan komponenti kondroitin sülfat ve dermatan sülfattır. Dermatan sülfat fibriller arasındaki dizilim ilişkisini sağlar. Kondroitin sülfat fibril yapılarının bozulmaması için fibriller arasında onları ayrı tutma görevi yapar (25).

Tendonlar, içlerinde sinir lifleri içermezler. Ancak epitendon ve paratenon sinir sonlanmaları içerirler. Kas tendon bileşkesinde golgi tendon organları denilen reseptörler yer alır. Golgi tendon organları golgi tendon refleksinin duyu kısmının oluşumunu sağlarlar. Proprioseptif duyu reseptörleridirler (Şekil 5).



**Şekil 5.** Kas – tendon bileşkesinde proprioseptif duyu sağlayan golgi tendon organının şematik çizimi

Tendon uzunluğu kişiden kişiye değişmekle beraber genetik predispozan bir faktör mevcuttur. Tendon uzunluğunda çevresel faktörlerin etkisi gösterilememiştir. Ancak tendon boyu travma sonrasında uygulanan germe egzersizlerine göre kısalık gösterebilir (26).

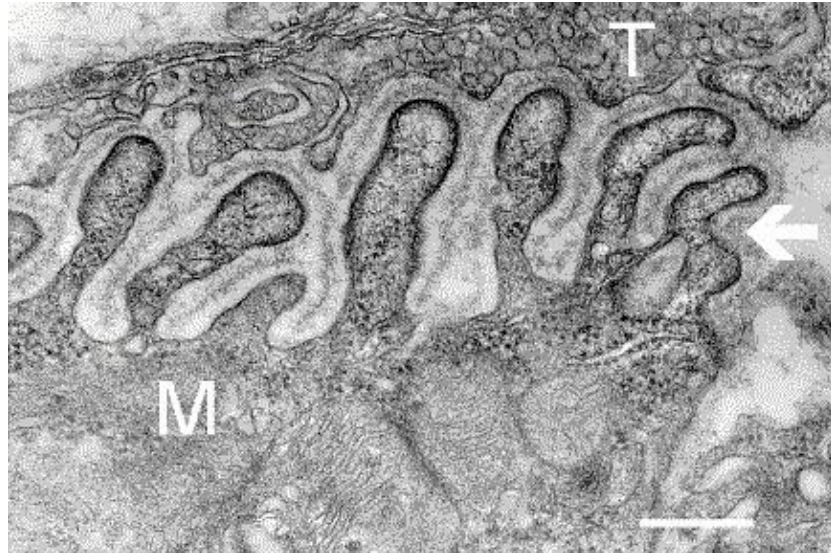
Tendonu saran bağ dokular düşük sürtünme sağlayarak harekete yardımcı olurlar. Aynı zamanda bu bağ dokular tendon gövdesine kan damarlarının girişine yardımcı olurlar. Birçok tendonda tendonu çevre dokulara tutturan mezotenon bulunur. Mezotenon tendonla beraber gerilebilir ve tekrar büzüşebilir.

Tendonlar ana olarak 3 bölümden oluşur. Tendon gövdesi, kas tendon bileşkesi ve kemik yapışma noktası.

### 2.1.2 Tendonun Bölümleri

**Tendon Gövdesi:** Fibroblastlar ve yoğun çizgisel dizilimde kollajen liflerinden oluşur. Kollajen lifleri arasında endotenon bulunur ve bu lifler fasikülleri oluşturur. Fasiküller epitenon ile sarılırlar. Epitenon tendonu saran ince bağ dokusudur. Kas ile tendonun birleşme yerinde epitenon kası çevreleyen epimisyum denilen ince fibröz örtü şeklinde devam eder.

**Kas-Tendon Bileşkesi:** Kas ve tendonun tutunumu kasın fibröz dokularındaki kollajen fibrillerinin tendondaki kollajen fibrilleri şeklinde devam etmesiyle sağlanır. Tendon kollajen lifleri kas hücre membranı ile kenetlenme yapar. Elektron mikroskopta bu görüntü iç içe kenetlenmiş parmaklar gibi görünür (Şekil 6).



**Şekil 6.** Kas-tendon bileşkesinin elektron mikroskobundaki görünümü. Tendon ve kas arasında parmaklı çıkıntılar görülmekte.

**Kemik Yapışma Noktası:** Bu noktalara enthesis denir. Tendonlar kemiğe 2 farklı şekilde tutunurlar. İndirekt tutunum ve direkt tutunum.

İndirekt tutunum: bu tip bağlanma noktaları daha nadirdir. Direkt bağlanma noktalarına göre daha geniş bir alana yayılmışlardır. Kollajen fibrillerinin büyük çoğunluğu periosta katılır. Yüzeyel ve derin kollajen fibrillerinden oluşurlar ve yüzeyel fibriller periostun fibröz tabakasına katılırken derin fibriller kemik korteksine girerler. Ancak direkt bağlanmadaki gibi keskin sınırlı mineralize ve mineralize olmayan fibrokartilaj bölgelerinden geçmezler.

Direkt tutunum: Tendonlardaki kollajen fibriller kemik kortekse dik açı yapacak şekilde kemiğe girerler. Bu fibriller kemiğin organik matriksindeki kollajen fibrillerle kuvvetli bağlar yaparlar. Tendonların kemik yüzeye oblik olarak geldiği yerlerde kollajen fibriller kemiğe dik açı yapacak şekilde keskin bir dönüş yaparlar. Kemik ile tendon birleşim noktası 4 bölgeden oluşur. Bu bölgeler; tendon, fibrokartilaj, mineralize fibrokartilaj (Sharpey lifleri diye de bilinir) ve kemiktir. Fibrokartilaj bölge ve mineralize fibrokartilaj bölge birbirinden keskin bir sınırla ayrılırlar (24).

### 2.1.3 Kemik Tendon Bileşkesi

Kemik tendon bileşkesi tendonların kemiğe tutunma noktalarıdır. Kompleks bir yapıya sahip bu bölge yumuşak dokudan sert bir dokuya geçiş sağlaması açısından önemlidir. Bu bölge tendonların kemikten ayrıldığı yaralanmalarda tendonların fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için iyileşmesi gereken en önemli bölgedir. Ancak kompleks yapısı nedeniyle iyileşme problemleri ortaya çıkabilir. Bu bölge 4 ana kısımdan oluşur.

Tendon: tendonun devam kısmıdır ve düzgün dizilmiş tip I kollajen fibrilleri ve bir miktar dekorin içerir.

**Fibrokartilaj;** tendinöz yapıdan kemiksi yapıya geçişin başlangıç noktasıdır. Büyük oranda tip II ve tip III kollajen ve az miktarda da tip I, IX ve X kollajen içerir. Proteoglikanlardan dekorin ve agregan içerir.

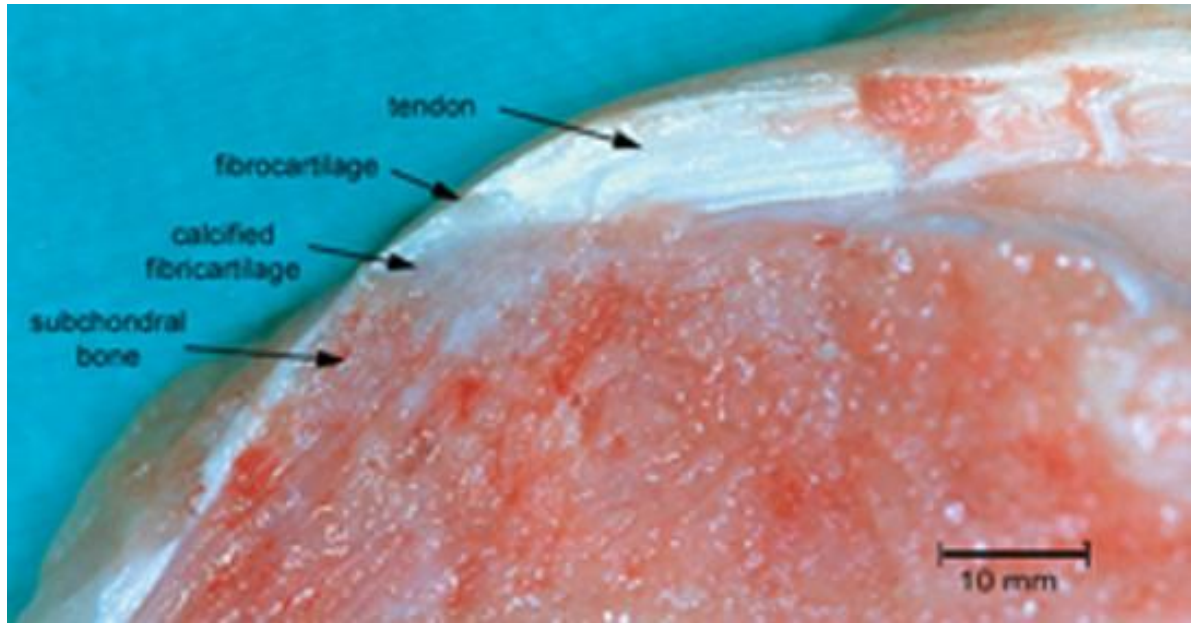
**Mineralize fibrokartilaj;** kemik dokuya geçişi gösterir. En çok tip II ve önemli ölçüde tip X kollajen içerir. Proteoglikan olarak agregan bulunur.

**Kemik;** yüksek mineral içerir ve tip I kollajenden oluşur.

Geçiş bölgesi normal tendondan daha zayıf bir bölgedir (4, 23).

#### 2.1.3.1 Normal Enthezis

Makroskobik olarak normal enthezis dokusuna bakıldığında zaman iki doku arasında kademeli bir geçiş olduğu görülmektedir (Şekil 7). Beyaz çizgisel hat kemik ve tendonu ayıran fibrokartilaj yapıyı göstermektedir.



**Şekil 7.** Koyun patellar tendonunun tibiaya enthesisinin makroskobik görünüşü. Her tabaka ayrı ayrı görülebilmektedir.

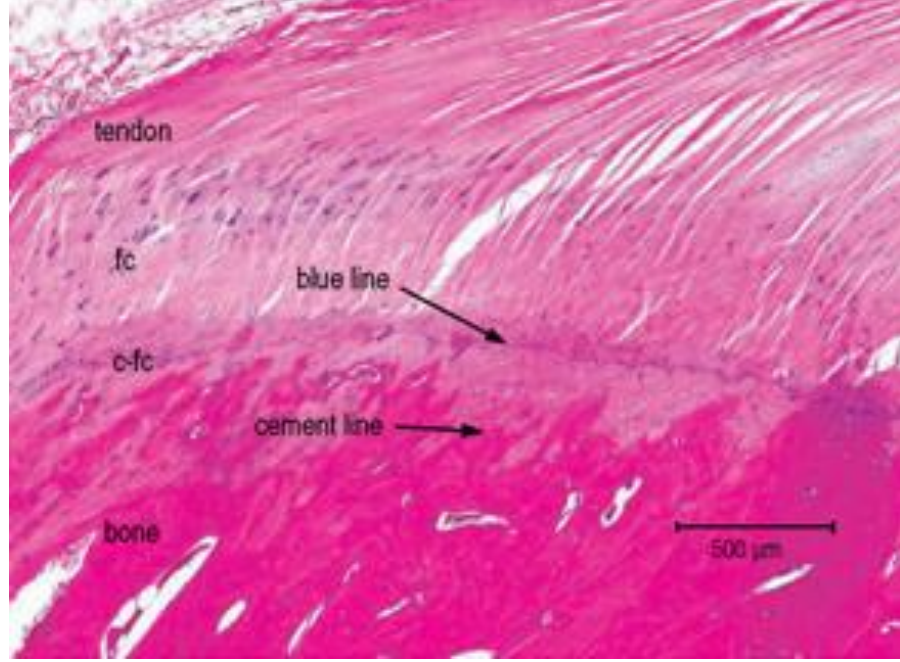
Tendon lifleri kemik yüzeye ulaşınca yönleri kemiğe dik bir hale gelmektedir. Tendon, yapışma yerinde kemiğe daha geniş bir alanda tutunmak için genişlemekte ve kalınlaşmaktadır. Yapışma yerinde tendon lifleri artık birbirinden ayrı şekilde görülememektedir. Bu bölgede tendon dokusu daha yoğun ve daha organize bir hale gelmiştir. Tendon yapışma yerinin hemen altında üçgen şekilli kalsifiye fibrokartilaj hat görülmektedir. Üçgenin tepesi kemiğe doğru ilerlemiştir.

Mikroskopik incelemede tendon ve fibrokartilaj doku arasında hücre morfolojisinde de değişiklik olduğu görülmektedir. Fibroblastlar kondrositlere dönüşmektedirler. Histolojik olarak fibrokartilaj ve kalsifiye fibrokartilaj ile kalsifiye fibrokartilaj ve kemik arasında iki adet sınır bulunmaktadır. Bunlar “mavi hat” ve “çimento hattı” olarak isimlendirilmektedir (Şekil 8).

Fibrokartilaj bölgenin kollajen lifleri tendon lifindeki kollajen liflerine göre daha sıkı olarak bir arada bulunurlar ve daha dalgalı bir yapı sergilerler. Fibrokartilaj bölgede bulunan hücreler koyu boyanan çekirdekler içeren kolonlar halinde dizilmiş kondrositlerdir. Hücreler arası matriks hematoksilen eozin (H&E) ile açık mavi boyanır. Kalsifiye fibrokartilaj bölgedeki kollajen lifleri kemiğe dik olarak uzanırlar ancak hücresel komponentleri daha küçük ve yuvarlak şekilli olduğundan fibrokartilaj bölgeye göre daha zor ayırtedilebilirler. Bu bölgedeki hücreler H&E ile mavi halkalı olarak boyanırlar. Hücreler bu bölgede daha küçük olduklarından ve daha yoğun dizildiklerinden dolayı boyanma farklılığı oluştururlar. Oluşan bu farklı boyanma paterni “mavi çizgi” olarak ortaya çıkar.

Kalsifiye fibrokartilaj ve kemik arası bağlantı birbiri içine geçmiş parmaksı uzantılar gibi görülmektedir. Yapışma yerinin hemen altında bulunan kemik doku çevre süngerimsi kemik dokuya göre daha yoğun bir yapıdadır ve kortikal bir kemik dokuyu andırır. Bu kemik doku tabakası paralel ve halkasal şekilde uzanan lameller yapıdan ve lakünalar içindeki küçük osteositlerden oluşur.

Kalsifiye fibrokartilaj tabakada bulunan kollajen lifler çevredeki lamellerin içine uzanmaz ancak lameller yapıya tutunurlar (11).



**Şekil 8.** Entezisin histolojik kesiti. H&E ile boyanmış. Tendon, fibrokartilaj, kalsifiye fibrokartilaj ve kemik kısımlarının hepsi görülmekte. Kalsifiye ve kalsifiye olmayan fibrokartilaj arasında “mavi çizgi” görülmekte.

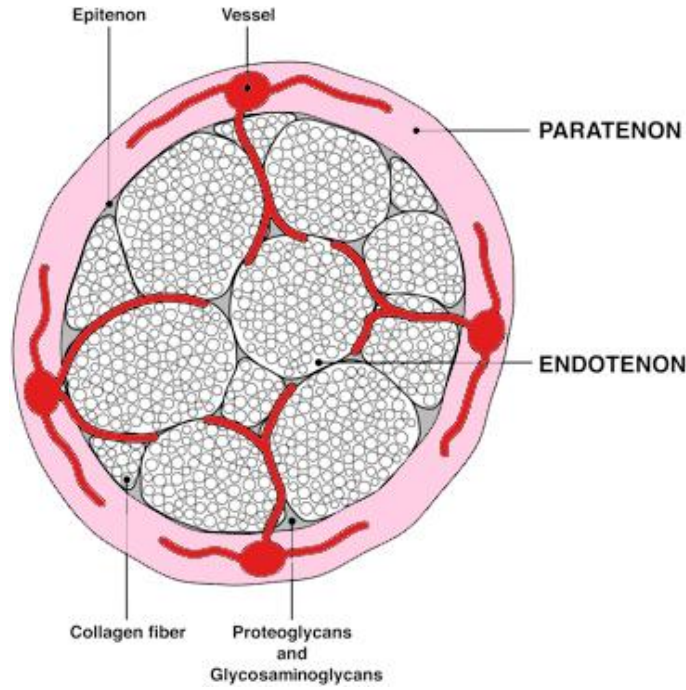
#### 2.1.4 Tendon Tipleri

İki tip tendon vardır:

- Paratenon ile çevrili olan tendonlar
- Kılıflı tendonlar

Paratenon ile çevrili olan tendonların zengin kapiller ağı ve bunu besleyen birçok damarı vardır (vasküler tendonlar) (Şekil 9). Kılıflı tendonda mezotenon sadece bir tendon segmentini besleyen bir damar taşır. Avasküler bölümler vaskülarize segmentlerden diffüzyon yoluyla beslenirler. Bu vasküler farklılıklardan dolayı paratenon ile çevrili tendonlar daha iyi iyileşirler.

Tendonlar görev yaptıkları yerlere göre de çeşitli şekillerde olabilirler. Örneğin latissimus dorsi tendonu yayvan bir tendon iken biceps brachii kasının tendonu kalem gibi bir yapı gösterir (28).

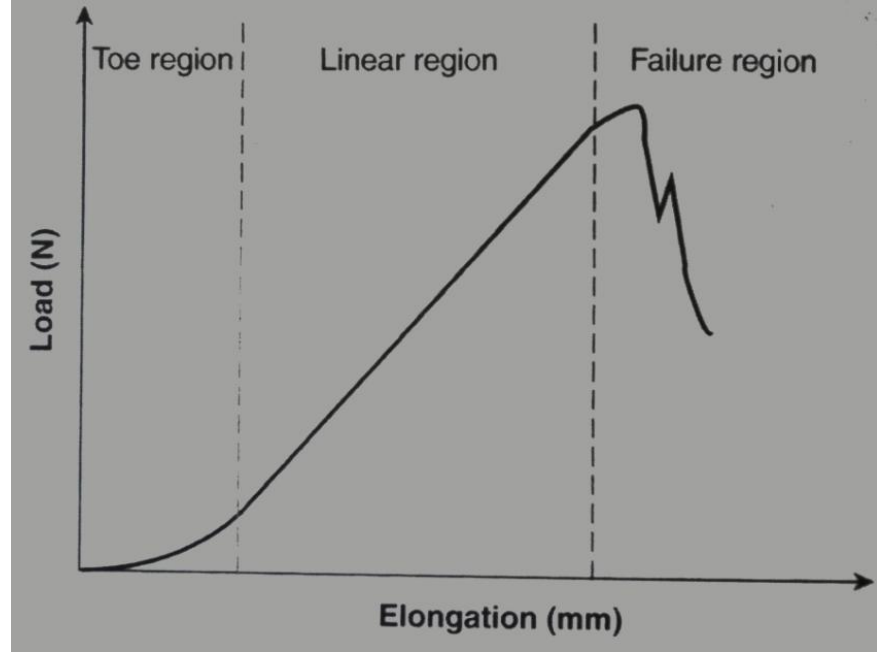


**Şekil 9.** Epitenonda yer alan damarlar tendonun iç kısımlarına doğru uzanmaktadır.

### 2.1.5 Tendon Biyomekaniği

Yıllardır tendonların kasları kemiklere bağlamak ve gücü kemiğe aktarmak gibi basit fonksiyonları olduğu düşünülüyordu. Ancak son 20 yıldır tendonların elastik özellikleri ve gerginlikleri üzerine çalışmalar yapıldı. Bu çalışmalarda anlaşıldı ki; kaslar ve tendonlar aktif olarak kasılmasalar bile mevcut stabiliteyi koruyacak güçleri sağlamaktadırlar. (29).

Tendonlar yüksek tensil özelliktedirler ve yük altında büzüşürler. Tendonların yük-uzama eğrileri 3 dönemden oluşmaktadır. Bunlar; bazal dönem, uzama dönemi ve kopma dönemleridir (23) (Şekil 10).



**Şekil 10.** *Klasik bir tendon gerim ve kopma grafiği. X eksenini uzama miktarını Y eksenini ise uygulanan kuvveti göstermektedir.*

Bazal dönem tendonun en az yük altında kaldığı “büzüşük” olduğu dönemdir. Uzama dönemi fizyolojik yüklenme olan dönemdir, tendon uzaması ve gerilmesi gerçekleşir. Kopma dönemi fizyolojik yüklenmenin üzerinde olan yüklenme dönemidir. tendon maksimum gerilmesinin ardından kopar.

Tendonların mekanik özellikleri kollajen liflerinin çapına ve dizilimlerine bağlıdır. Kollajen lifleri birbirlerine paralel olarak sıkı bir şekilde paketlenmiştir ancak düzlemsel değişiklikler nedeniyle dalgalı bir görünüm sergilerler (29).

Tendonlarda kollajen lifleri aminoasit düzenlerinde belli noktalardaki hidroksiprolin ve prolin yokluğuna bağlı esneme kabiliyetine sahiptirler. Bu esneme kabiliyeti sayesinde eğilme, dönme ve dalgalanma hareketleri yapabilirler. Bu sayede tendonlar düz bir çubuk gibi değil esnek bir yapı gibi hareket ederler.

Tendonun mekanik özellikleri kadar proteoglikan içeriği de önemlidir. Kollajen lifleri tensil kuvvetlere karşı koyarken proteoglikanlar kompresif kuvvetlere karşı koyarlar. Kollajen liflerinin uzaması ve gerginliği aynı yük

altında tendonun uzaması ve gerginliğinden azdır. Uzama ve gerginlikteki bu farkı sağlayan proteoglikan ara maddedir.

Proteoglikan matriks, kollajen liflerine non-kovalen bağlarla bağlıdır ve bu bağlar geridönüşümlü olarak kırılıp tekrar oluşabilirler. Bu özellik tendona kollajen liflerinden daha elastik bir yapı kazandırır.

Tendonun biyomekanik özelliklerini birçok komponent belirler.

Anatomik yerleşim; farklı yerlerdeki tendonlar farklı yapısal özellikler gösterirler. (örn. Fleksör dijitorum longus, ekstansör tendonlardan 2 kat daha güçlüdür) Bu tendonların o bölgedeki fonksiyonları ile ilgili olarak değişir.

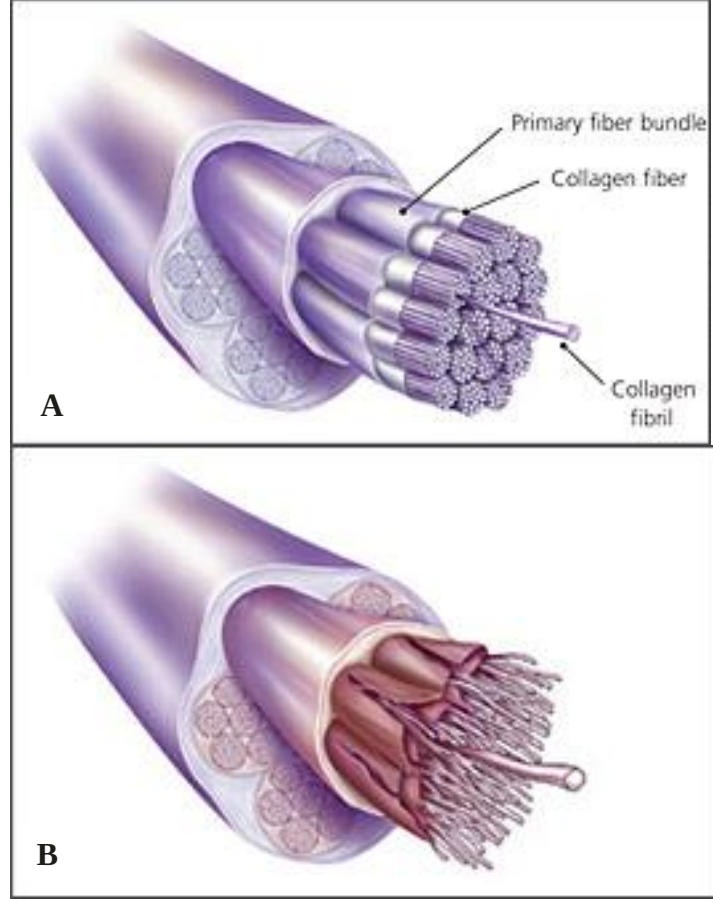
Egzersiz ve hareketsizlik; egzersiz tendonu pozitif yönde etkilerken hareketsizlik yıkıcı bir etki yapar.

Yaş; Tendonun yapısı ve içeriği doğumdan itibaren gelişmeye başlar ve matüriteye kadar devam eder. İleri yaşlarda tendon yapısal özelliklerini kaybetmeye başlar (23).

### **2.1.6 Tendon Yaralanma Tipleri**

Tendonlar kontraktıl yapının en temel kısmıdır. Tendonun tensil kuvveti bağlı bulunduğu kasın tensil kuvvetinin 2 katı olabilir. Tendonlar normal histolojik yapılarında nadiren koparlar. Tendonların en zayıf olduğu bölge kas tendon bileşkesi ve tendon kemik bileşkesidir (31).

Tendonların birçok yaralanma şekli vardır. Bunlar fazla kullanıma bağlı değişik şekillerdeki tendinopatilerdir. Bu tür yaralanmalar enflamasyon, dejenerasyon ve ya tendonda zayıflama ile kendini gösterir. Bu yaralanmalar ileri düzeylerde tendon kopmalarına neden olabilirler (31).



**Şekil 11.** A. Normal tendon kesitinin şematik görüntüsü. B. Enflamasyon bulunan tendonun şematik görünümü. Kollajen liflerinin düzensizliği ve endotenondaki düzensizlikler dikkat çekicidir.

Paratenonit; paratenonun enflamasyonunu tanımlar.

Tendinozis; tendonun non-enflamatuvar yaralanmasıdır. Kronik fazla kullanıma bağlı oluşur. Hücre düzeyinde gerçekleşir. Kollajende, hücrelerde ve vasküler yapılarda bozulmalara neden olur (Şekil 11). İleri seviyelerde rüptür meydana gelir (30). Kendiliğinden oluşan tendon rüptürlerinde kollajen liflerinde paralellik kaybı, uzunluk ve çaplarında bozulmalar, tenositlerde yuvarlaklaşma, hücre anormallikleri ve damarlanmada artış olduğu gösterilmiştir. Bu

kendiliğinden oluşan rüptürlerin temelinde tendinozis olduğunu düşündürmektedir. Tendinozis paratenonit ile beraber olabilir.

Diğer bir yaralanma tipi tendinittir. Tendonda beslenme bozukluğunun eşlik ettiği dejenerasyon ve enflamasyon vardır (30).

Tenosinovit; tendonun ve çevresindeki sinovial kılıfın enflamasyonunu ve/veya iritasyonunu tanımlar. Sinovial kılıf genelde ekstremitelerdeki distal tendonlarda bulunur.

Avülsiyon; yüksek tensil kuvvetlere bağlı oluşan akut tendon yaralanmasıdır. Tendon kemiğe yapışma yerinden ayrılır. Bu tür yaralanmalar daha sık olarak geniş kas gruplarının tendonlarının küçük yüzeylere yapıştığı yerlerde görülür.

### **2.1.7 Tendon İyileşmesi**

Yaralanma sonrası tendinöz iyileşme epitenonda bulunan fibroblastlar ve yeniden şekillenme sağlayan makrofajlarca başlatılır. Tedavi onarım sürecini etkiler. Tendon iyileşmesi büyük oranda intrinsik yetenek ile olur. Tendon onarımı 7-10. günlerde en zayıftır. Çoğu tendon orijinal gücüne 21-28. günlerde ve maksimum gücüne 6. ayda ulaşır. Erken hareket eklem hareket açıklığını artırır ancak tendon onarım dokusunda zayıflamaya neden olur. Hareketsizlik ise tendon gücünde artışa neden olurken kemik tendon arasındaki güç azalır.

Tendon iyileşmesinin 4 aşaması vardır. Bunlar hemostaz fazı, enflamasyon fazı, proliferasyon fazı ve yeniden şekillenme fazıdır.

Hemostaz Fazı: Yaralanmadan sonraki 5 dakika içinde trombosit tıkaç oluşur. Bu aşamadan sonra 10 – 15 dakikada koagülasyon kaskadı ve fibrin

oluşumu yoluyla ikincil tıkaç oluşur. Fibronektin hücrelere yapışır ve kemotaktik görev yapar. Trombositlerden salgılanan faktörler ile bir sonraki faz başlar.

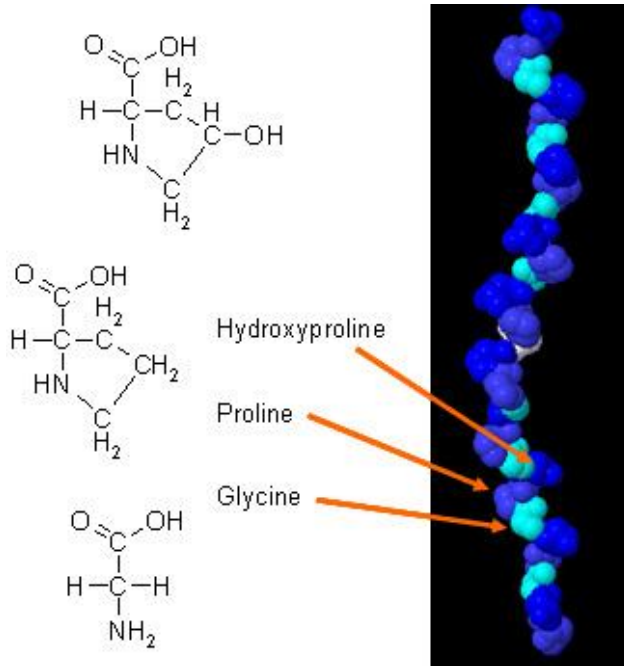
**Enflamasyon Fazı:** İki hafta içinde yaralı nekrotik doku makrofajlar aracılığı ile temizlenir. Bu aşamada prostoglandinler enflamatuvar yanıtın oluşumuna yardım ederler (28).

**Proliferasyon Fazı:** Yaraya fibroblastlar infiltre olur ve çoğalmaya başlarlar. Ekstraselüler matriksi üretmeye başlarlar. Bu matriks büyük oranda tip III kollajen içerir. Bu aşama haftalar sürer.

**Yeniden Şekillenme Fazı:** matriks metalloproteinazları kollajen matriksi yıkar, tip III kollajenin yerini tip I kollajen alır. Kollajen fibrilleri kasın yüklenme doğrultusunda dizilirler. Bu faz aylar ve yıllar sürebilir. Tamir sonrası tendonun yapısal özellikleri normal halinin ancak üçte ikisine ulaşabilir. İçerik özelliklerinin durumu da farklı değildir (23).

## 2.2 KOLLAJEN

Kollajenler 3'lü helikal yapıya sahiptirler. Bu yapı 2 adet  $\alpha 1$  ve 1 adet  $\alpha 2$  zincirinden oluşur. Kollajenin aminoasit dizilimi oluşturdukları protein yapıya göre farklılık gösterir. Ancak tüm kollajen tiplerinde ortak özellik yüksek oranda hidroksiprolin, glisin ve prolin içermeleridir (Şekil 12). Hücre içinde ribozomlarda 2 tip peptid zinciri oluşur. İlk oluşan bu alfa-1 ve alfa-2 zincirleri preprokollajen olarak bilinirler. Bu zincirlerin her iki uçlarında sinyal peptidleri bulunur. Ribozomlarda oluşan zincirler düz endoplazmik retikulum (DER) lümenine geçerler. Sinyal peptidleri DER içinde koparılırlar ve pro-alfa peptidler oluşur. DER içinde hidroksillenen zincirler 2 alfa-1 ve 1 alfa-2 zincirinin helikal yapıya geçmesi ile prokollajen haline gelirler. Prokollajen golgi aparatından ekstraselüler matikse salınır. Prokollajen yapı, kollajen peptidaz ile hücre dışında şekillenir ve tropokollajen oluşur. Tropokollajen molekülleri arasında lizinaz ve hidroksilizinaz enzimi ile kovalen bağlar kurulur. Kovalen bağlı bu yapıya kollajen fibrili denir (20).



**Şekil 12.** Kollajen molekülünün yapısını belirleyen, molekül içinde bulunan hidroksile aminoasitlerdir.

İnsan vücudundaki kollajenin %90'ı tip I kollajendir. Bu güne kadar 28 tip kollajen tanımlanmıştır (20).

### 2.2.1. Kollajen Tipleri

| BAŞLICA KOLLAJEN<br>TİPLERİ       | BULUNDUKLARI<br>YERLER                                                                                                                    | SENTEZLENDİKLERİ<br>HÜCRELER                                        |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| <b>Tip I</b>                      | <b>Kemik</b> , deri, <b>tendon</b> , dişin dentin tabakası, fasya, sklera, organ kapsülleri, fibröz kıkırdak, eklem kapsülü               | Fibroblastlar, osteoblastlar, kondroblastlar, odontoblastlar        |
| <b>Tip II</b>                     | <b>Hyalin</b> ve elastik kıkırdak dokuda, vitröz sıvıda                                                                                   | Kondroblastlar                                                      |
| <b>Tip III</b>                    | Kaslar, endonöryum, arterler, uterus, karaciğer, dalak, böbrek, akciğer, ağsı dokuda, tip I kollajenle beraber, <b>iyileşme dokusunda</b> | Kas hücreleri, retiküler hücreler, schwann hücreleri, hepatositler  |
| <b>Tip IV</b>                     | Epiteliyal ve endoteliyal bazal membranda                                                                                                 | Endoteliyal ve epitelyal hücreler, kas hücreleri, schwann hücreleri |
| <b>Tip V</b>                      | Hücre yüzeyinde, saç ve plasentada                                                                                                        |                                                                     |
| <b>Tip VII</b><br><b>Tip VIII</b> | Tip IV kollajene eşlik ederler                                                                                                            |                                                                     |

**Tablo 1.** Kollajen tipleri – bulundukları yerler – sentezlendikleri hücreler

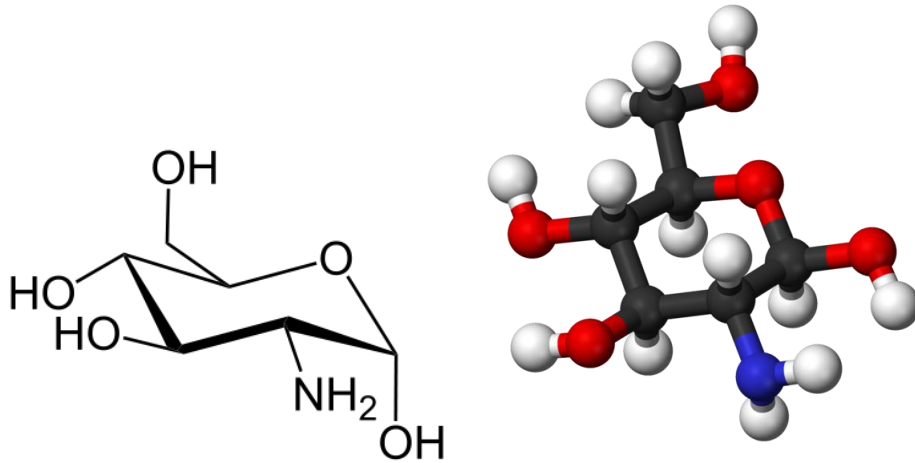
Kollajen molekülü %33 glisin, %15 prolin ve %15 hidroksprolinden oluşur. Kollajen molekülü 300nm boyunda ve 1,5 nm genişliğindedir (23).

## 2.3 GLUKOZAMİN-KONDROİTİN SÜLFAT

### 2.3.1 Glukozamin

Glukozamin ( $C_6H_{13}NO_5$ ) bir aminoşekerdir ve glikolize protein ve lipid üretiminde önemli bir öncül maddedir. Glukozamin eklem bacaklıların ve kabukluların dış iskeletlerini oluşturan polisakkarit kitozan ve kitinin bir parçasıdır. Aynı zamanda *Aspergillus niger* mantarında da bulunur. Glukozamin en verimli monosakaritlerdendir. D-glukozamin doğal olarak glukozamin-6-fosfat olarak üretilir. Bu madde azot içeren şekerlerin öncülüdür. Glukozamin glukozamin-6-fosfatın oluşumunda önemlidir. Ticari olarak kabukluların dış iskeletlerinin hidrolizi ile ve az bir miktarda da buğday ve mısırın fermentasyonundan elde edilir.

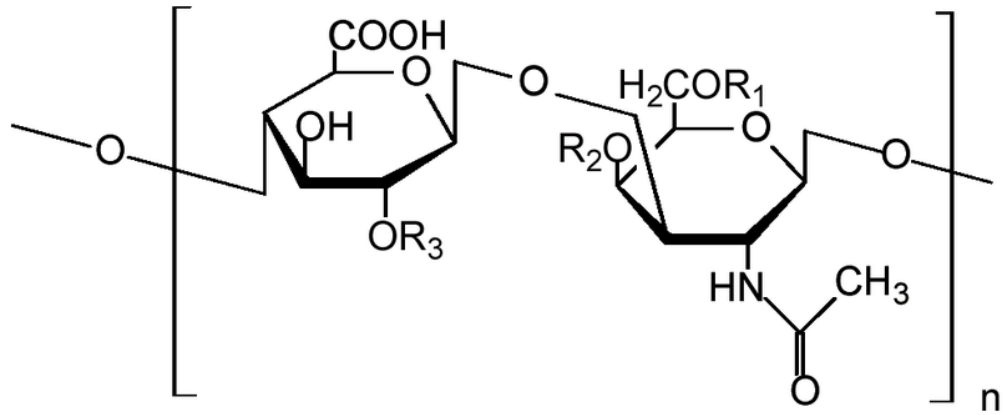
Glukozamin tek başına ve ya kombinasyonlar ile osteoartrit tedavisinde kullanılabilir. Glukozaminin glikoprotein sentezini arttırdığı ve proteolitik enzimlerin aktivitesini azalttığı gösterilmiş ve osteoartritli hastalarda ağrıyı azalttığı bildirilmiştir (33,34).



Şekil 13. Glukozaminin şematik çizimleri

### 2.3.2 Kondroitin Sülfat

Kondroitin sülfat birbirini izleyen şeker zincirlerinden oluşan sülfatlanmış bir glikozaminoglikandır. Kıkırdak dokunun önemli bir komponentidir ve kompresif yüklere direnci sağlar (35).



Şekil 14. Kondroitin sülfatın şematik çizimi

Kondroitin sülfat ekstraselüler matriksin ana komponentidir. Dokunun yapısal bütünlüğüne önemli katkı yapar. Eklem kıkırdağındaki agreganın önemli bir parçasıdır.

Ticari olarak sığır trakeasından, domuz kulağı ve burnundan, köpek balığı kıkırdaklarından, balık ve kuş kıkırdaklarından elde edilir.

Osteoartritli hastalarda kondroitin sülfat, anti-enflamatuar etkisi, proteoglikan sentezinde artış yapması ve proteolitik enzimleri inhibe etmesi nedeniyle kullanılmaktadır.

Daha önce yapılan çalışmalarda tek başına kullanılan glukozaminin ve ya kondroitin sülfatın kollajen sentezi üzerine ve proteolitik enzim aktivitesine etkilerinin yetersiz olduğunu gösterilmiştir. Bu nedenle bu iki ilacın

kombinasyonlarının daha yüz güldürücü sonuçları olduğu vurgulanmıştır (36,37,38).

### **2.3.3 GLUKOZAMİN-KONDROİTİN SÜLFAT KOMBİNASYONU**

Glukozamin-Konroitin Sülfat (GlcN-CS) kombinasyonu osteoartrit hastalarının klinik şikâyetlerine etkileri açısından araştırılmıştır. Hayvan deneylerinde bu ilacın eklem kıkırdağı yıkımını azalttığı ve anti-enflamatuar etkileri olduğu gösterilmiştir. Çalışmalar bu ilaç kombinasyonunun matriks proteoglikan sentezini arttırdığını ve metalloproteinaz aktivitesini azalttığını göstermiştir.

Günümüzde tendon yaralanmalarında non-steroidal anti enflamatuar ilaçlar (NSAEİ) yaralanma bölgesindeki enflamasyonu baskılamak ve bu enflamasyona bağlı yeni oluşan doku bütünlüğünü korumak amacıyla kullanılmaktadır. Ancak NSAEİ'nin fazla kullanılması hücre çoğalması ve proteoglikan sentezi üzerine olumsuz etkiler yaratmaktadır.

GlcN-CS kombinasyonu kondrositlerdeki metabolik aktiviteyi arttırdıkları gibi ligamentler ve tendonlarda da kollajen sentezini arttıran yararlı bir etki göstermektedir. Tendon ve ligament hücrelerinin eklem kıkırdağı hücreleri ile aynı kökenden gelmeleri nedeniyle bu hücreler eklem kıkırdağı hücreleri gibi yaşa bağlı olarak metabolizmalarında ve mekanik yapılarında değişiklikler göstermektedirler. Bu hücreler tamir yeteneklerini ve normal yeniden şekillenme özelliklerini zamanla kaybetmektedirler. Bu nedenle GlcN-CS kondroistlerde olduğu gibi bu hücrelerde de metabolizma artışına neden olabilir.

Yapılan çalışmalarda hücre kültürlerinde değişik dozlarda GlcN-CS'nin kollajen sentezini arttırdığı gösterilmiştir. GlcN-CS'ye hücrelerin verdiği yanıt kıyaslandığında en çok yanıtın ligament hücrelerinden daha sonra kondrositlerden ve onlardan sonra da tenositlerden geldiği görülmüştür. Tüm hücre tiplerinde

maksimum yanıt 1 - 10  $\mu\text{g ml}^{-1}$  dozunda alınmıştır ve bu dozda tenositlerdeki kollajen sentezi %22 oranında artış göstermiştir.

|                    | Kontrol    | GlcN-CS<br>1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ | GlcN-CS<br>10 $\mu\text{g ml}^{-1}$ |
|--------------------|------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| Kondrositler       | 380        | 592                                | 560                                 |
| Ligament hücreleri | 520        | 880                                | 920                                 |
| <b>Tenositler</b>  | <b>316</b> | <b>385</b>                         | <b>419</b>                          |

**Tablo 2.** *GlcN-CS verilmesi sonrası hücre kültürlerinde tenositlerde meydana gelen kollajen sentezini gösteren tablo*

GlcN-CS kombinasyonu hücre kültürlerindeki tendon hücrelerinde kollajen sentezini arttırmıştır (20).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma “T.C. Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı” tarafından 08 Ocak 2010 ve B.30.2.GÜN.0.05.06.00/5-448 sayı ile verilen hayvan etik kurul onayı ile yürütülmüştür. Çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde bulunan hayvan deneyleri laboratuvarı, Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Kimya Bölümü bünyesinde bulunan germe çekme laboratuvarı ve Kırıkkale Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Patoloji Bölümü laboratuvarı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmamızda değişik etyolojik nedenlerle oluşabilecek kemik tendon bileşkesi yaralanmalarında cerrahi sonrası, kemik tendon bileşkesinin iyileşme sürecine ve kalitesine glukozamin kondroitin sülfatın etkisini histolojik ve biyomekanik olarak değerlendirmek amaçlanmıştır.

Çalışmada 28 adet Yeni Zellanda tavşanı kullanılmıştır. Tavşanlar 2 gruba ayrılmıştır. Birinci grup kontrol grubu ikinci grup ise glukozamin-kondroitin sülfat preparatı verilecek grup olarak planlanmıştır. 28 tavşanın her birisinin sağ arka bacaklarında bulunan ekstansor digitorum longus (EDL) kaslarının tendonları yapışma yerlerinden cerrahi olarak ayrılmış ve daha sonra tibialarında açılan tüneller içerisine yerleştirilmiştir. Kontrol grubuna normal gündelik yem ve suları dışında ek besin verilmezken glukozamin kondroitin sülfat grubuna cerrahi sonrası 1. günden itibaren günde 750mg glukozamin sülfat, 600 mg kondroitin sülfat, 20mg manganez ve 300mg methil-sülfonil-methan (MSM) kompleksi içeren ilaç verilmiştir (Kondromin-S MSM eff. tb. Akatis AG, Switzerland). İlaç tavşanların ortalama kiloları (3-3,5kg) göz önüne alınarak günlük sularında eritilerek verilmiştir. Glukozamin sülfat 210-250mg/kg/gün dozunda, kondroitin sülfat 170-200mg/kg/gün dozunda olacak şekilde verilmiştir. Verilen doz minimum toksik doz göz önünde bulundurularak ayarlanmıştır.

Tendon iyileşme süresi göz önüne alınarak kontrol grubundan ve GlcN-CS grubundan yedişer tavşan 6. haftada geri kalan yedişer tavşan ise 12. haftada sakrifiye edilmişlerdir. Tavşanların tibiaları ve tibial tünellerinde bulunan EDL kası tendonları kas komponenti ile beraber çıkartılmıştır. Altıncı ve 12. haftada alınan yedişer örneğin üçer tanesi biyomekanik dörder tanesi ise histolojik çalışmaya ayrılmıştır. Histolojik örnekler %10'luk formaldehit solüsyonunda saklanmıştır. Biyomekanik çalışmaya ayrılan örnekler ise protein yapılarında değişiklik olmaması için -80 derecelik dolaplarda saklanmıştır.

### 3.1. CERRAHİ TEKNİK

Tavşanlar 50mg alfamin ve 5mg/kg alfazin kulak venlerinden verilerek uyutulmuşlardır. Tavşanların sağ arka ayakları cerrahiye izin verecek şekilde traş edilmiş ve Baticon (100ml de %10 serbest iyot, 10 gr polyvidon iodin) ile temizlenmiştir (Şekil 15).



Şekil 15.

Cerrahi alan temizliğinin ardından sağ arka bacak fleksiyona getirilmiş ve dizin anteriorundan patellanın superior polünün 1 cm üzerinden başlayan ve inferior polün 2,5-3 cm altına uzanan longitudinal bir insizyon ile girilmiştir (şekil 16).



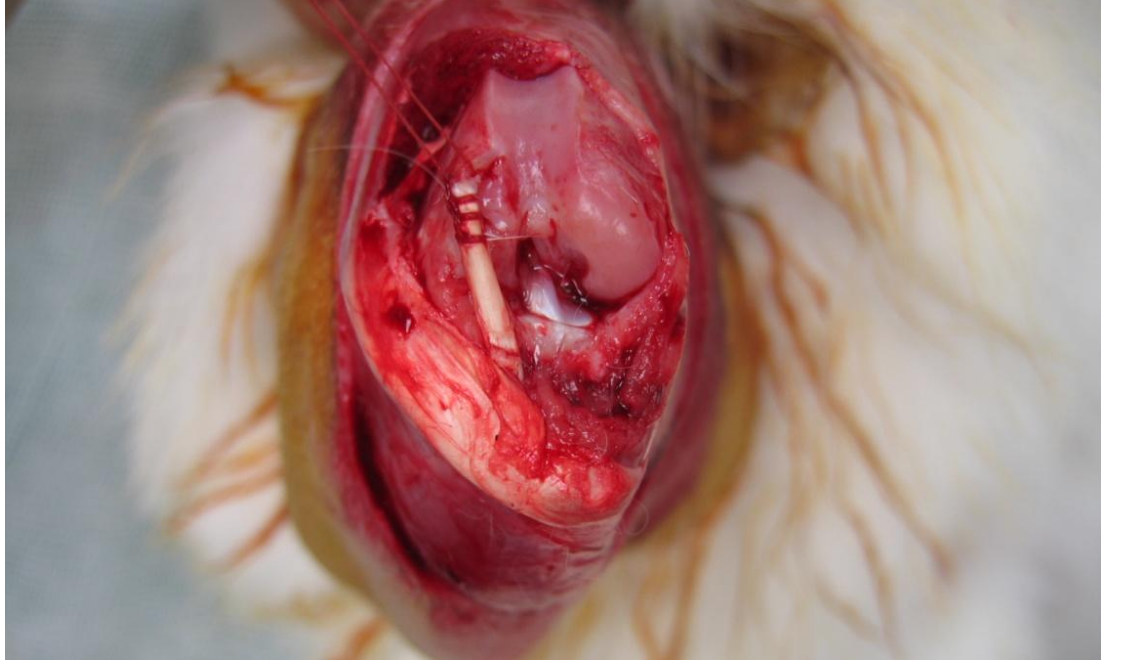
**şekil 16.**

Ardından diz fleksiyonda kalacak şekilde tutulurken patellanın 1cm üzerinden median parapatellar insizyon yapılmış ve insizyon patellanın inferior polünün 2 cm altına kadar uzatılmıştır. Median parapatellar insizyon ardından diz ekstansiyona getirilmiş ve patella laterale devrilecek şekilde tekrar fleksiyona getirilmiştir (şekil 17).

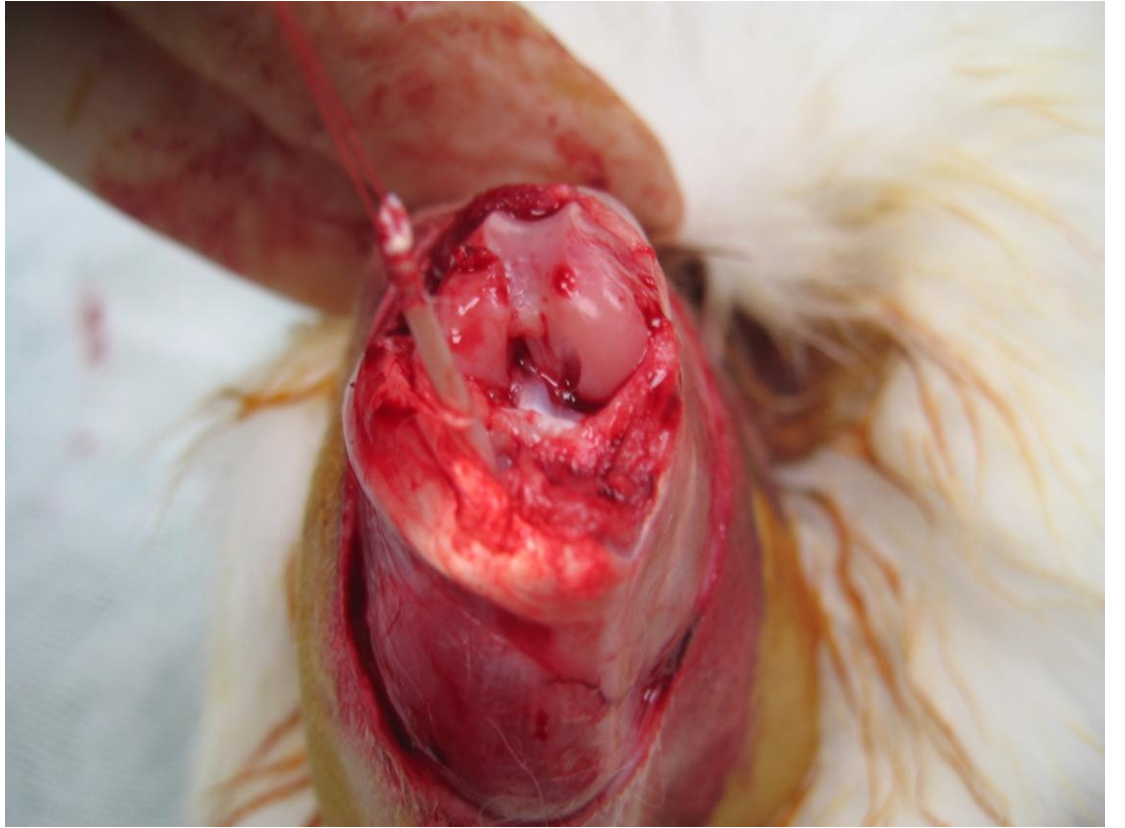


**Şekil 17.**

Fleksiyona getirilmiş olan diz ekleminde patellar tendon arkasındaki adipoz doku temizlendikten sonra lateral femoral kondile yapışan EDL kası tendonu görülmüştür. Tendon yapışma yerinden ayrılmadan önce tendon uygun tendon dikişleri ile tespit edilmiştir. Tendon tespiti 4.0 prolene ile tendonun sadece uç kısmını içerecek şekilde yapılmıştır. Tespiti takiben tendon yapışma yerinden 11 numara bistüri ile ayrılmıştır (Şekil 18,19).

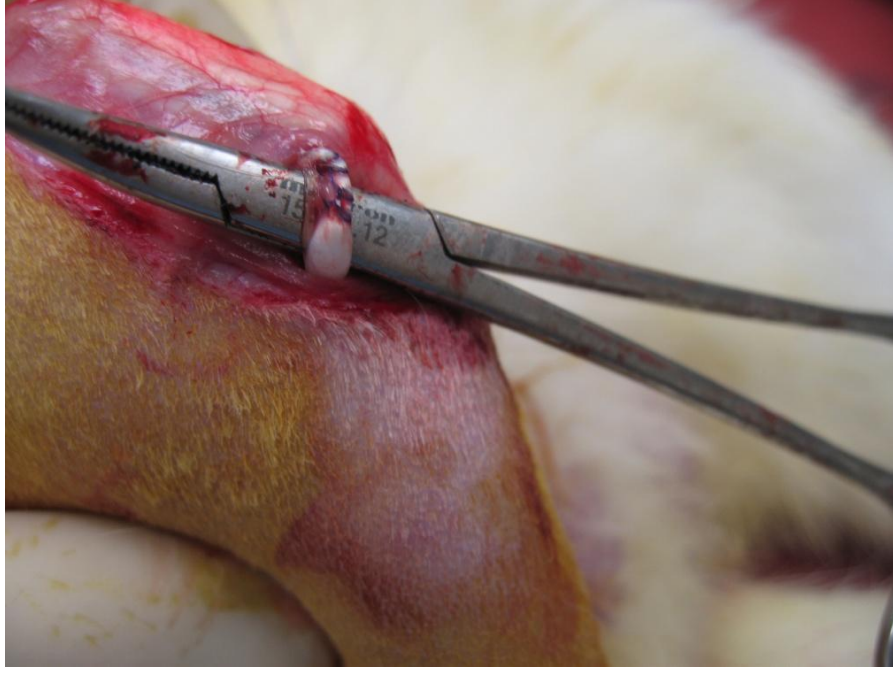


Şekil 18.

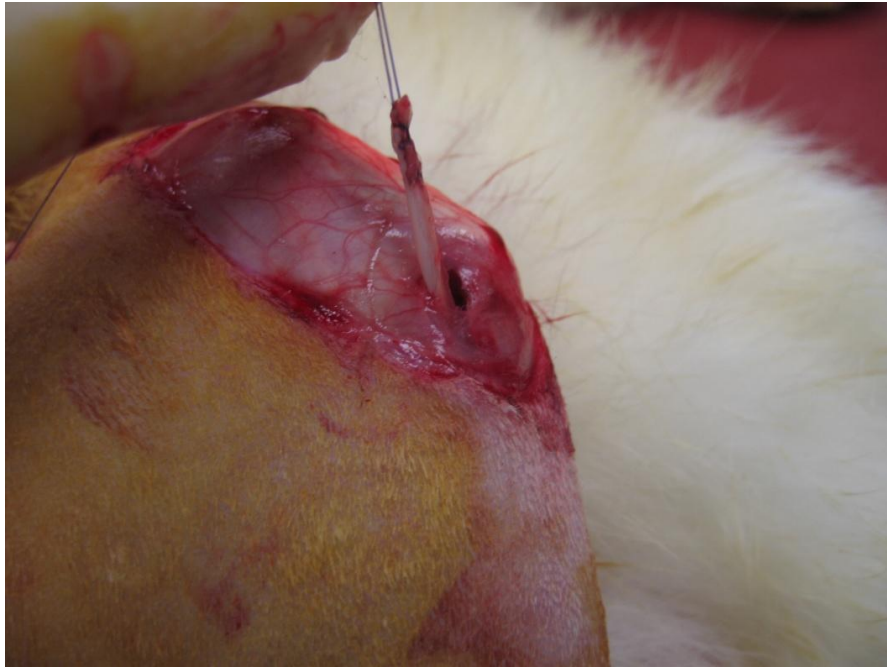


Şekil 19.

Bu işlem bittikten sonra tibia lateralinde EDL kası kas planları arasından bulunmuştur. Kas proksimale doğru takip edilmiş ve tespit edilmiş olan tendon distale doğru çekilerek eklem içerisinden çıkartılmıştır (Şekil 20,21).

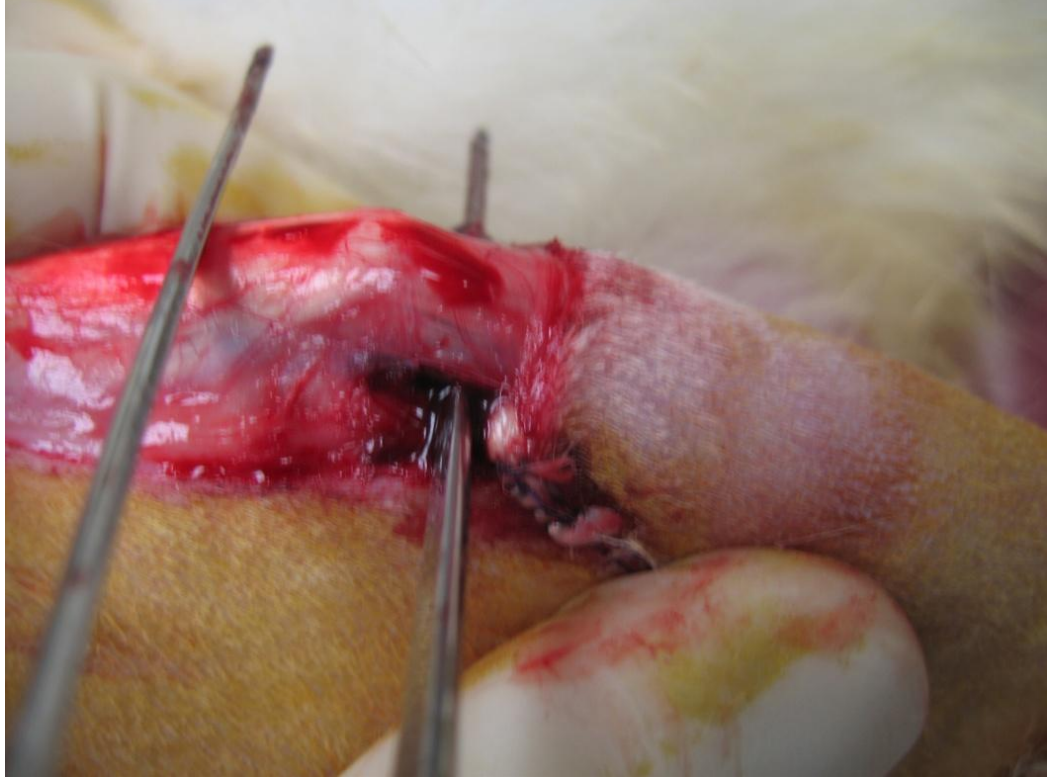


Şekil 12.



Şekil 13.

Ardından tibia metafizinde eklem seviyesinin 0,5 – 1 cm altına olacak şekilde 1,5mm kalınlığında delici ile transvers bir tünel açılmıştır (şekil 22).



**şekil 14.**

Açılan tünelin medial tarafından kanca haline getirilmiş bir tel laterale doğru gönderilmiş ve tendon dikişleri bu kanca yardımıyla mediale çekilmiştir (şekil 23).



**Şekil 15.**

Takiben tendon dikişi daha önceden gaz steril ettirilen düğmelerden geçirilmiş ve tendonun geri kaçmasını engelleyecek şekilde uygun gerginlikte tespit edilmiştir. Bu işlem sırasında tendon dikişlerinin tünel içinde en az düzeyde kalmasına dikkat edilmiştir. Ardından patella uygun şekilde 2.0 vicryl ile kapatılmıştır. Cilt 3.0 prolene ile kapatılmıştır. Pansuman yapılmamıştır. Tavşanlara cerrahi sonrası antibiyotik verilmemiştir.

Tavşanlar kontrol grubundan 7, GlcN-CS grubundan 7 tane olacak şekilde 6. ve 12. haftalarda intrakardiyak kan alınması yöntemi ile kurban edilmiştir. Kurban edilen tavşanların sağ tibiaları kemik tünele zarar verilmeden çıkarılmıştır.

### 3.2. MAKROSKOBİK DEĞERLENDİRME

Tüm tavşanlar sakrifiye edildikten sonra uygun cerrahi teknik ile kemik tünele zarar gelmeyecek şekilde tibia ve EDL kası çıkartılmıştır. Tibiaya yapışan diğer kas grupları uygun görüşe izin verecek şekilde temizlenmiştir. Bu işlemler sırasında örneklerin bir kısmında tendon tespiti için kullanılan düğmelerin ayrılmış olduğu görülmüştür. Ayrılmamış düğmeler tünelin medial tarafında tendona zarar vermeyecek şekilde 11 numara bistüri ile dikkatlice ayrılmıştır. Ardından tibiaya yapışık halde bulunan fibula kemik makas yardımıyla ayrılmıştır (Şekil 24,25).

Örnekler makroskopik olarak incelemeye uygun hale getirildikten sonra EDL kasına el ile traksiyon uygulanmış ve hiçbir tendonun kemik tünelden hareket etmediği görülmüştür.

Makroskopik incelemede tendonların kemik tünel içinde yer aldıkları kemik tünel-tendon birleşkesinde herhangi bir enflamatuvar görüntü olmadığı görülmüştür. Tünel çevresinde osteoliz veya tünellerde genişleme saptanmamıştır. Tünel çevresinde fibrotik dokulara ve ya enfekte görünümde dokulara rastlanmamıştır.



**Şekil 16. A ve B.** Çıkarılan örneğin çevre kaslar uzaklaştırıldıktan sonraki hali. 6. hafta 2. örnek



**Şekil 25.** Çıkartılan örneğin fibula uzaklaştırılmış ve tendonu sabitleyen düğmenin ayrılmış hali. 6. hafta 1. örnek

### 3.3. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME

Herbir deney grubunda, deney sonunda ötenazi yapılan tavşanlardan alınan tibial tünel içerisine yerleştirilmiş tendon dokuları, % 10'luk tamponlu formaldehidte 48-72 saat boyunca tespit edilmiştir. Sonrasında, kemik dokudan kalsiyum tuzlarının uzaklaştırılması ve kemik dokunun tendon ile birlikte incelenmesine imkân sağlanması amacıyla dekalsifikasyon yapılmıştır. Dekalsifikasyonda kısaca; dokular 1 hafta süreyle hidroklorik asit içeren ticari bir dekalsifikasyon solusyonunda (Shandon TBD-1TM, Thermo Scientific Inc.) tutulmuş ve bu solüsyon günlük değiştirilmiştir. Kemik dokunun yumuşamaya başladığı beşinci günde, incelenecek dokular mikrotom bıçağı kullanılarak tibial

tünel içerisinde tendon dokusunu içerecek şekilde 1,0 x 1,5 cm ölçülerinde trimlenmiştir. Sonrasında, 3 gün daha aynı şekilde dekalsifikasyon işlemine devam edilmiş ve doku örneklerinden 5 mm arayla horizontal geçen 2 kesit alınarak doku takip işlemlerine devam edilmiştir. Bu örnekler bir gece boyunca akan çeşme suyu altında yıkamaya alınmış ve sırasıyla 50°, 70°, 80°, 90°, 96° ve mutlak alkol serilerinden ikişer saat süreyle geçirilerek dehidrasyon yapılmıştır. 3x1 saat ksilol serilerinde tutularak şeffaflaştırılmış ardından 56 °C’de Parafin-ksilol (eşit oranda karışım) ve parafin aşamalarında ikişer saat işlendikten sonra yine paraffin içerisine bloklanmıştır.

#### Histopatolojik İncelemeler :

Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında beşer adet kesit rotary mikrotom yardımıyla 3-aminopropyl triethoxysilane kaplı adeziv lamlara alınmıştır. Rutin olarak hematoksilin ve eozin ile boyandıktan sonra, bağdoku proliferasyonunun değerlendirilebilmesi amacıyla Masson’un trikrom boyaması (Bio-Optica, İtalya) ve hyalin kıkırdak oluşumunun değerlendirilmesi için de Toluidin mavisi boyaması yapılmıştır. Tüm histopatolojik incelemeler, binoküler araştırma mikroskopunda (Olympus BX51) yapılmış ve dijital kamera (Olympus DP25) ile mikrofotografı çekilmiştir.

Histolojik değişiklikler herbir olgu için; Tablo 3’de açıklanan Yamakado ve ark. (2002) tarafından uyarlanan skorlama kriterleri göz önüne alınarak semikantitatif değerlendirilmiş ve değişikliklerin şiddeti ve yaygınlığına göre 0 ile 3 puan arasında semikantitatif olarak skorlanmıştır (40).

|                                                                                                         |                                                        |                                                       |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|---|
| Tibial Tünel içerisinde tendonun bağlanma/iyileşme derecesi ve değerlendirmede dikkate alınan kriterler | Bağ doku devamlılığı                                   | Tendon-Kemik arası kesintili                          | 1 |
|                                                                                                         |                                                        | Disorganize ancak sürekli                             | 2 |
|                                                                                                         |                                                        | Aynı yönde seyreden ve kesintisiz                     | 3 |
|                                                                                                         | İntersellüler matriks / Kollajen oluşumu               | Hafif                                                 | 1 |
|                                                                                                         |                                                        | Orta                                                  | 2 |
|                                                                                                         |                                                        | Yoğun                                                 | 3 |
|                                                                                                         | Fibroblast maturasyonu                                 | Eliptik ve Oval, selüler                              | 1 |
|                                                                                                         |                                                        | Eliptik, orta derecede hücrese                        | 2 |
|                                                                                                         |                                                        | İğsi yapıda ve kollajen arasında az sayıda fibroblast | 3 |
|                                                                                                         | Hyalin Kıkırdak oluşumu (İncelenen tüm örnek alanında) | 1-3 odak                                              | 1 |
|                                                                                                         |                                                        | 4-6 odak                                              | 2 |
|                                                                                                         |                                                        | 7 ve daha fazla odak                                  | 3 |
|                                                                                                         | Kapillar Damar (x20 mikroskop alanında)                | 7 ve daha fazla                                       | 1 |
|                                                                                                         |                                                        | 4 – 6 adet                                            | 2 |
|                                                                                                         |                                                        | 3 ve daha az                                          | 3 |

**Tablo 3.** Tibial tünel içersine yerleştirilen tendon bağlanma/iyileşme derecesi için kullanılan skrlama tablosu

### 3.4. BİYOMEKANİK DEĞERLENDİRME

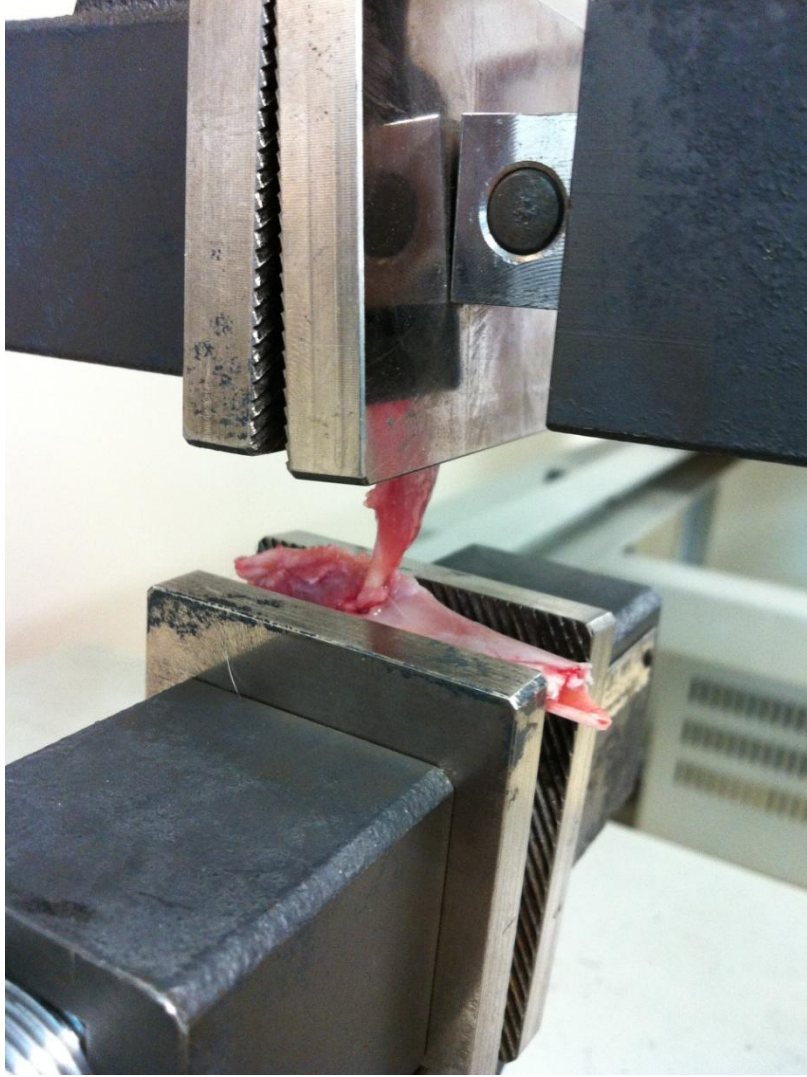
Biyomekanik değerlendirme Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi bünyesindeki germe çekme laboratuvarında bulunan Shimadzu AG-I/50N-10kN (Shimadzu, Kyoto, Japonya) cihazında 10 mm/dk koparma gücü ile yapılmıştır (Şekil 26).



Şekil 26.

Germe cihazının sabit tutucusuna tavşanlardan çıkarılmış olan materyalin kemik kısmı tutturulmuştur. Üstte kalan hareketli tutucuya ise kas komponent kas tendon bileşkesinin bir kısmını da içine alacak şekilde tuturulmuştur. Kas tendon

bileşkesinin ikinci bir güçsüz nokta olması nedeniyle tutucuya bu bölge de dahil edilmiştir (Şekil 27).



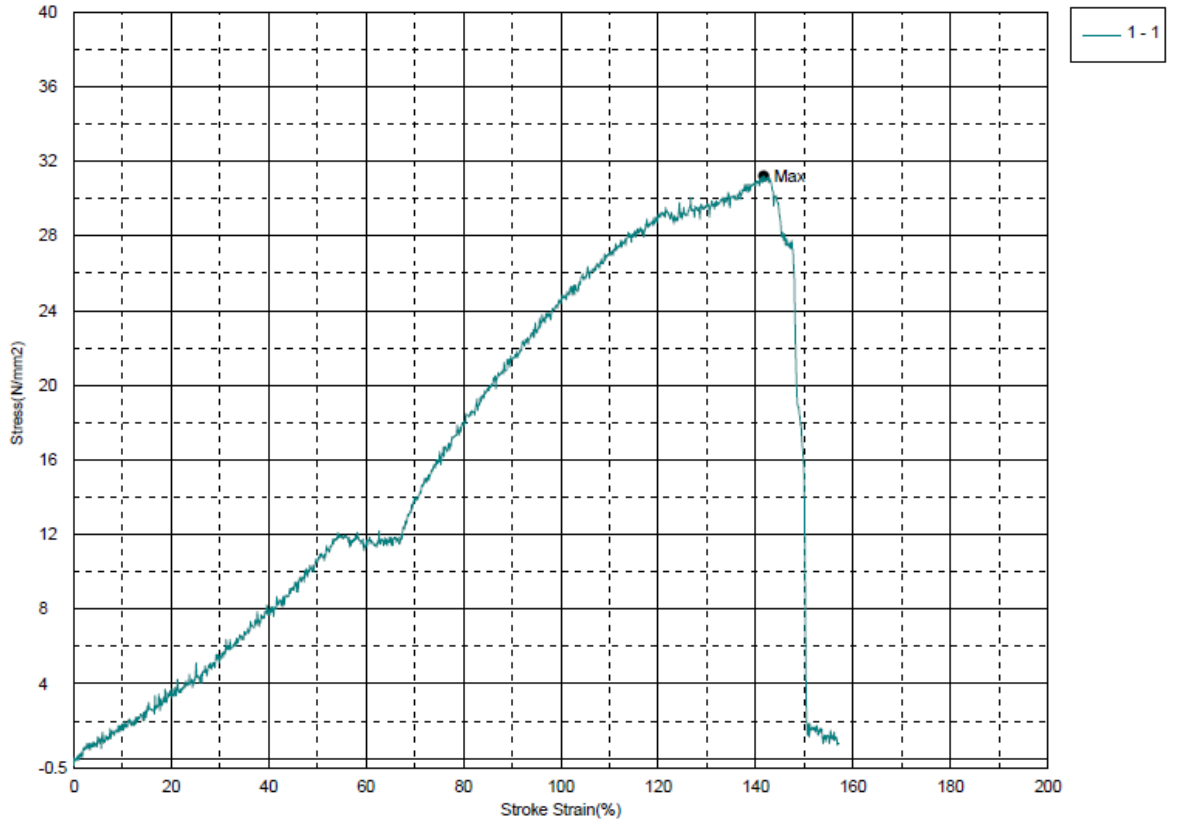
**Şekil 27.**

Materyalin cihaz tarafından iyice tutulduğuna emin olunduktan sonra tendon manüel olarak tendonda minimal gerginlik yaratacak şekilde gerilmiş ve sistemin ayarları 0 düzeyinde kalibre edilmiştir.

Sistem parametreleri her örnekte tendon çaplarının milimetrik ölçülerde bile olsa farklı olmasından dolayı tendonların çaplarının sonucu etkilememesi için

mm<sup>2</sup>'ye düşen kuvvet miktarı ve gerinim miktarı olarak belirlenmiştir. Mm<sup>2</sup>'ye düşen kuvvet birimi Newton olarak hesaplanmıştır.

Cihaz, ayarları 0 düzeyinde kalibre edildikten sonra germeye başlatılmıştır. Germe testi tendon belirli bir noktadan kopana, kemik tünel içinden ayrılana veya cihazın tutucularından sıyrılana kadar devam ettirilmiştir. Sıyrılan materyaller için test tekrarlanmıştır. Test sonucunda her materyal için x/y eksenleri germe miktarı/mm<sup>2</sup>'ye düşen kuvvet olan birer grafik elde edilmiştir.



Şekil 28. Germe testi sonrası ortaya çıkan gerim-kopma eğrisi

### 3.5. İSTATİSTİK

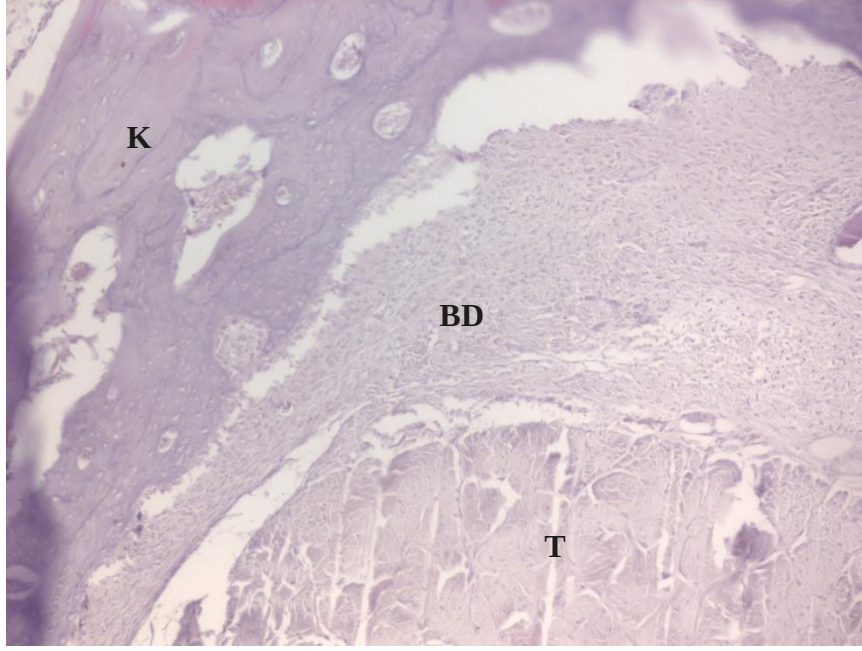
İlaç kullanımı ve zamana göre gruplandırılan örneklerin biyomekanik gerim değerleri ve histolojik skora değerleri, Windows için SPSS 15.0 Evaluation versiyon (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) programı kullanılarak yapılmıştır. Değerlendirmede; Mann-Whitney U bağımsız örneklem testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak  $p \leq 0,05$  değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

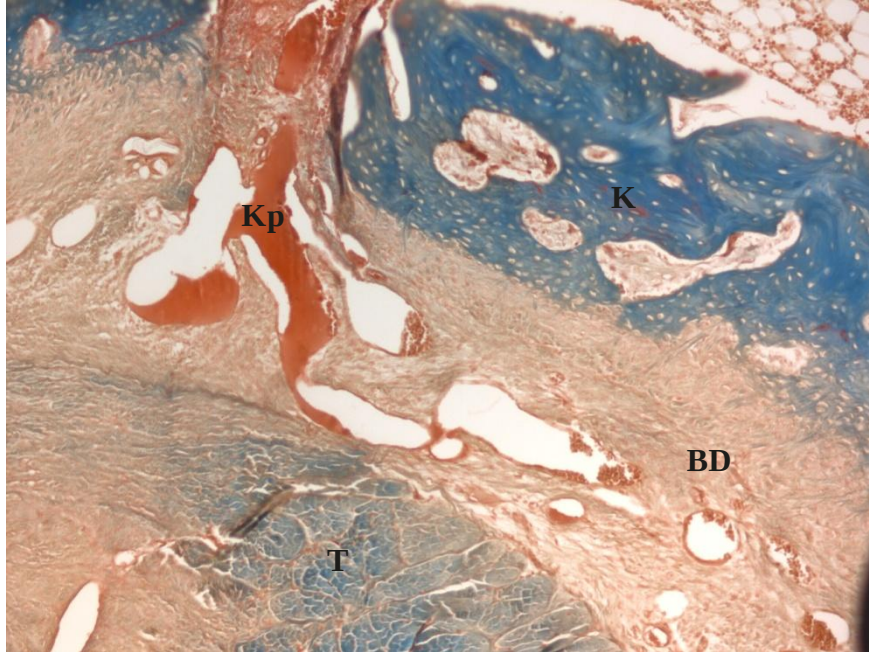
### 4.1. HİSTOLOJİK BULGULAR

#### **Kontrol grubu 6. hafta**

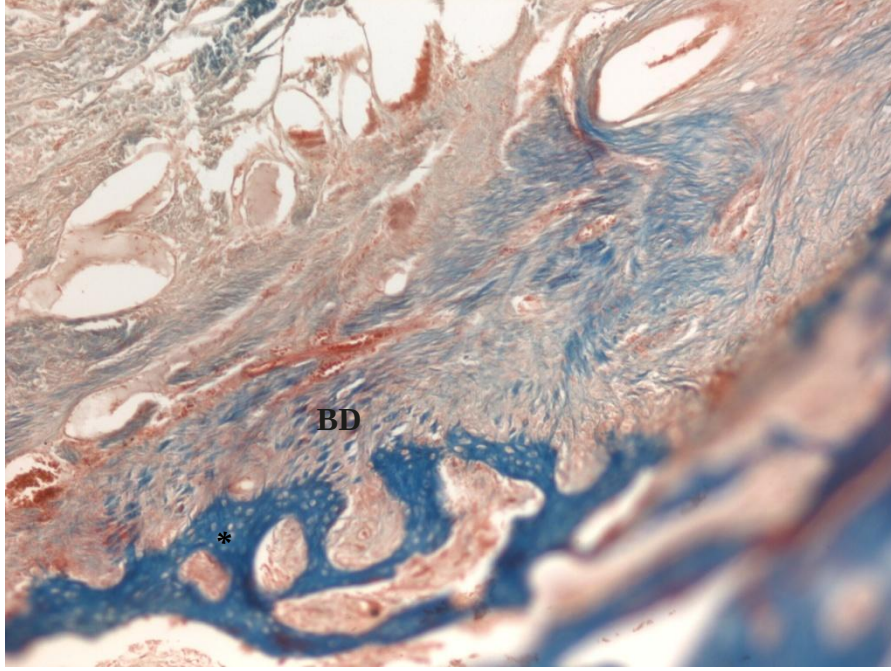
Tendon-kemik iyileşme bölgesinde, hemen tüm boşluğu dolduracak şekilde reparasyon aktivitesi gözlenmekle birlikte yeni şekillenen bağdokunun çoğu yerde hücresel ve gevşek yapıda olduğu görüldü. Benzer şekilde, bu bağdoku proliferasyonunun yer yer sirküler kordonlar yaparak düzensiz iyileşme alanları oluşturduğu dikkati çekti. Masson'un Trikrom boyamalarında, tendon-kemik hattı boyunca kesintisiz devam eden ve doğrudan bağlanmayı sağlayan bağdoku kollajen oluşumları oldukça zayıf yapıdaydı (Şekil 31). Fibroblastlar çoğu yerde oval veya eliptik çekirdekli ve geniş sitoplazmalı görünümde olup, fibroblastik aktivite oldukça zengin kapillar damar ağı ile desteklenmişti. 2. olguda, geçiş alanında geniş boşluklar halinde kapiller damarlardan oluşan bir reparasyon bölgesi, amorf ve içi boş non-reaksiyonel yapılar ile zayıf kollajen oluşumuna ait bölgeler izlendi. Tendonda kemikle bağlantılı olan bölgeler haricinde kemik iliğiyle sınırlı alanlarda iyileşme oldukça sınırlı ve kemik iliğinin tendonun şeklini aldığı izlendi. Toluidin Blue ile boyanmış kesitlerde, herhangi bir kıkırdak oluşumu gözlenmedi.



**Şekil 29.** Tendon – kemiki arasında kesintili gevşek bağdoku, Kontrol 6 hafta, hematoksilen-eozin X80. K: kemik, BD: bağdoku, T: tendon



**Şekil 30.** Reparasyon alanında geniş kapillar damar ağı. Kontrol 6 hafta, Masson'un trikrom boyaması, X8. K: kemik, BD: bağdoku, T: tendon, Kp: kapiller.



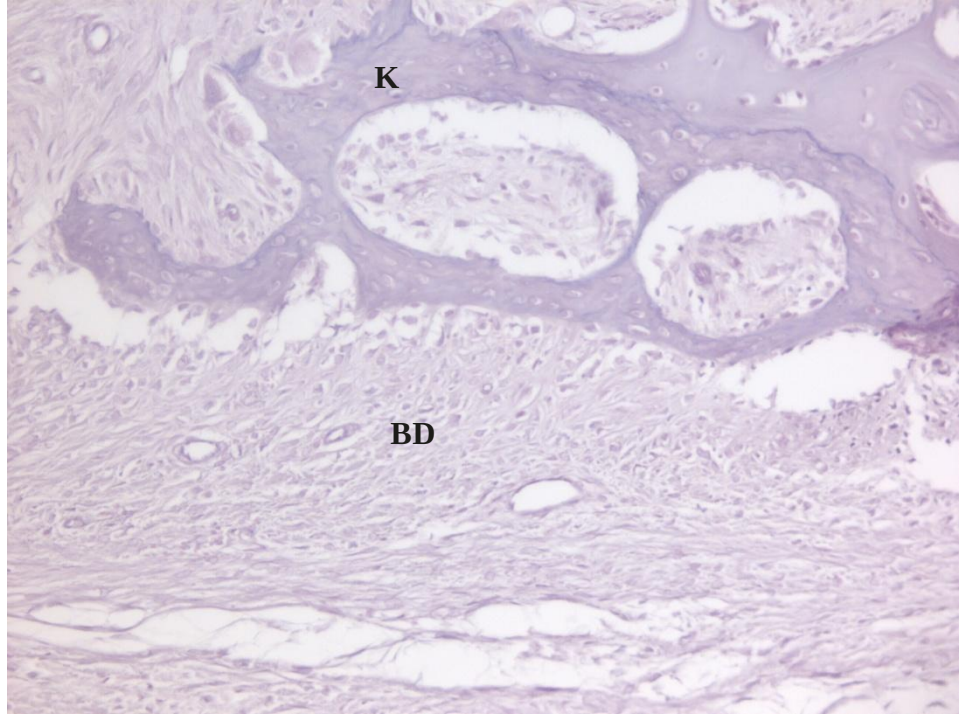
**Şekil 17.** *Kemiğe tutunmuş bağdoku proliferasyonu ve zayıf kollajen bağlantısı, Kontrol 6 hafta, Masson'un trikrom boyaması, X80. BD: bağdoku, \*: kemik.*

#### **Kontrol grubu 12. hafta**

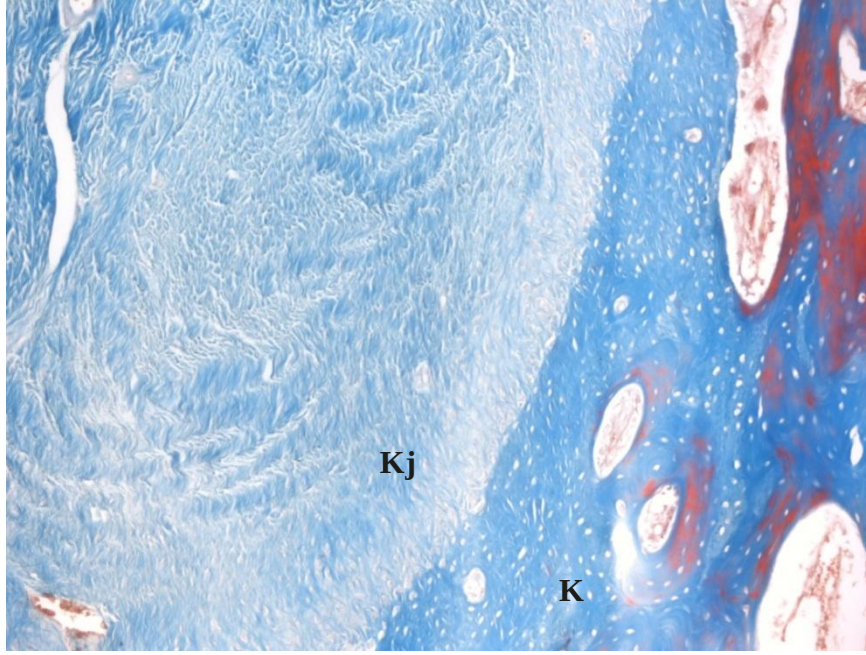
Geçiş bölgesinde fibroblastik aktivitenin 6. hafta olgulara oranla daha düzenli olduğu ve tendon-kemik doku arasında köprüler oluşturacak tarzda dizildiği gözlemlendi. Masson Trikrom boyamalarda, bağdoku incelendiğinde hücresellik daha az, hücre çekirdeğinin ince ve uzun, sitoplazma sınırlarının ise daha içsi olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte kısmen daha dar bir alanda sınırlı ve kompakt bağ dokudan oluşan tamir faaliyetlerinin yer yer kesintiye uğradığı ve/veya aralarında gevşek bağdoku katmanlarının yer aldığı bölgelerde ayrılmaların gerçekleştiği tespit edildi. Kapiller destek doku küçük ve az sayıda eritrosit içeren damarlardan ibaretti. Bir olguda, kapiller damarlar geniş ve yaygın bir destek doku halinde kemik-tendon bölgesini kaplamaktaydı. Yine bu olguda, geniş bir alanda sirküler dizilen bağdoku hücreleri, kollajen ve çok sayıda

kapillerden oluşan granülasyon dokusu, skar nedeniyle tendonun oluşan baskı nedeniyle şekil değiştirdiği ve kemik bağlantısının ayrıldığı tespit edildi.

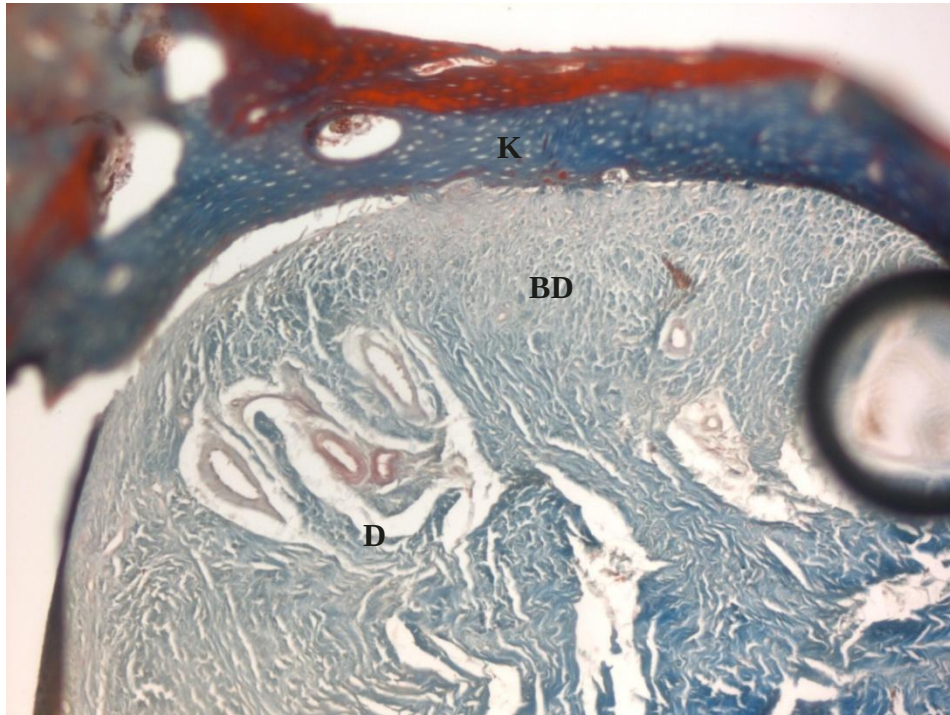
Toluidin blue boyamalarda, özellikle endosteal yüzeyde bağdoku bağlantısının gerçekleştiği 2-3 sıra hücrelerde multifokal alanlar halinde hyalin kırıldak metaplazisi gözlemlendi. Ancak bu geçişin tüm geçiş alanı boyunca değil kesintili ve sınırlı bir hat boyunca olduğu izlendi.



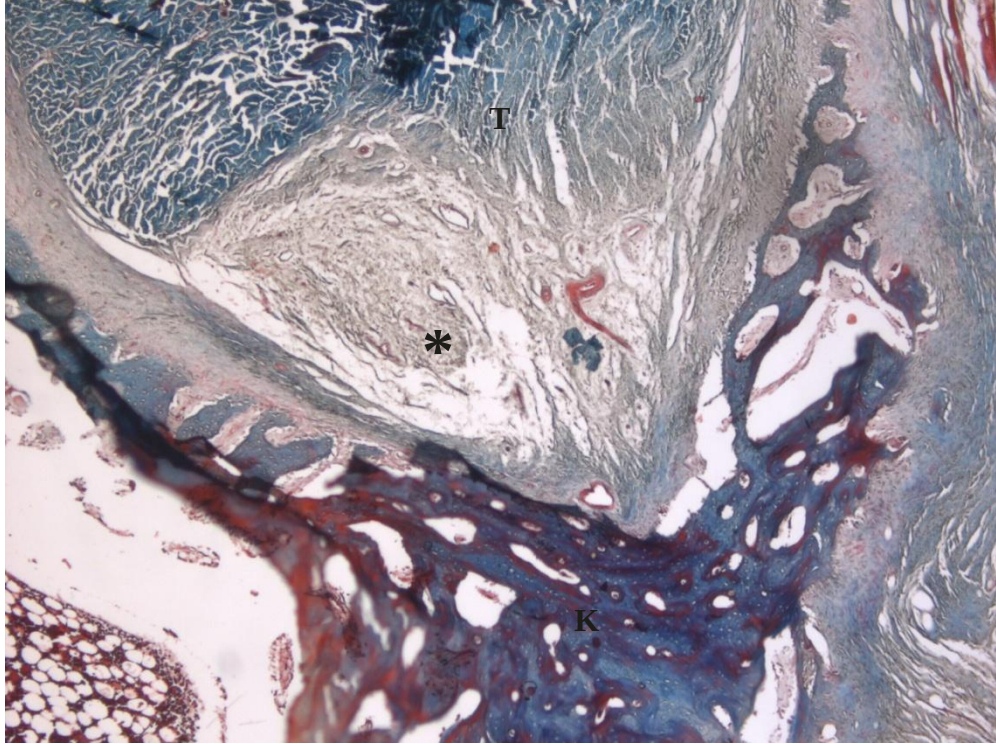
**Şekil 18.** Kısmen düzenli ve kesintisiz uzanan bağdoku proliferasyonu, kontrol 12 hafta, hematoxilen-eozin X 12. K: kemik, BD:bağ doku.



**Şekil 33.** *Düzenli seyreden kollajen demetleri ve tendon-kemik sınırı belirsiz durumda. Kontrol 12 hafta, Masson trikrom, x80. K: kemik, Kj: kollajen.*



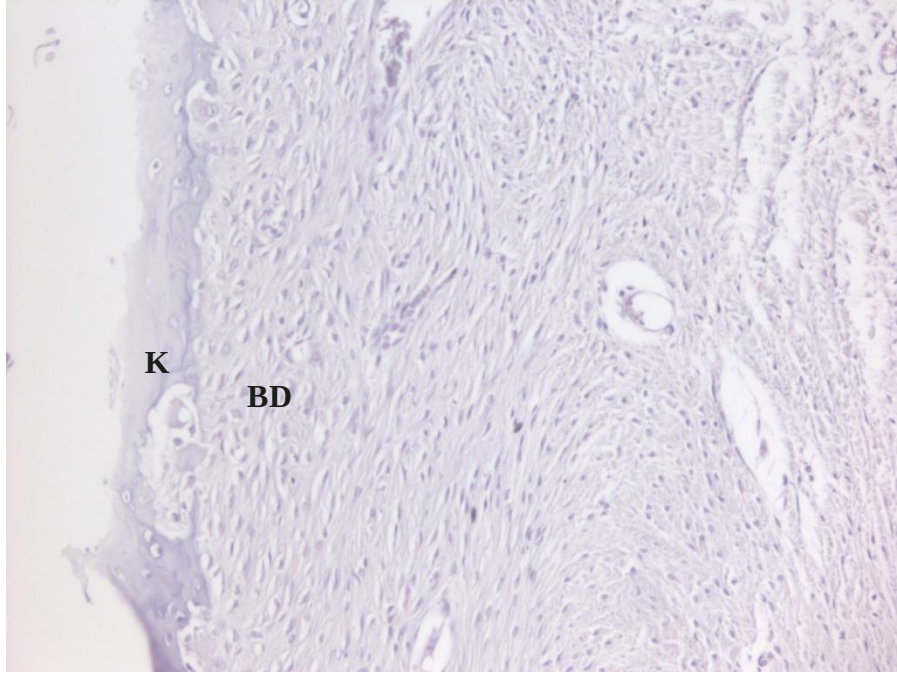
**Şekil 34.** *İyileşme alanında desorganize bağdoku ve damardan zengin alanlar, Kontrol 12 hafta, Masson trikrom, x80. K:kemik, BD: bağ doku, D: damarlar*



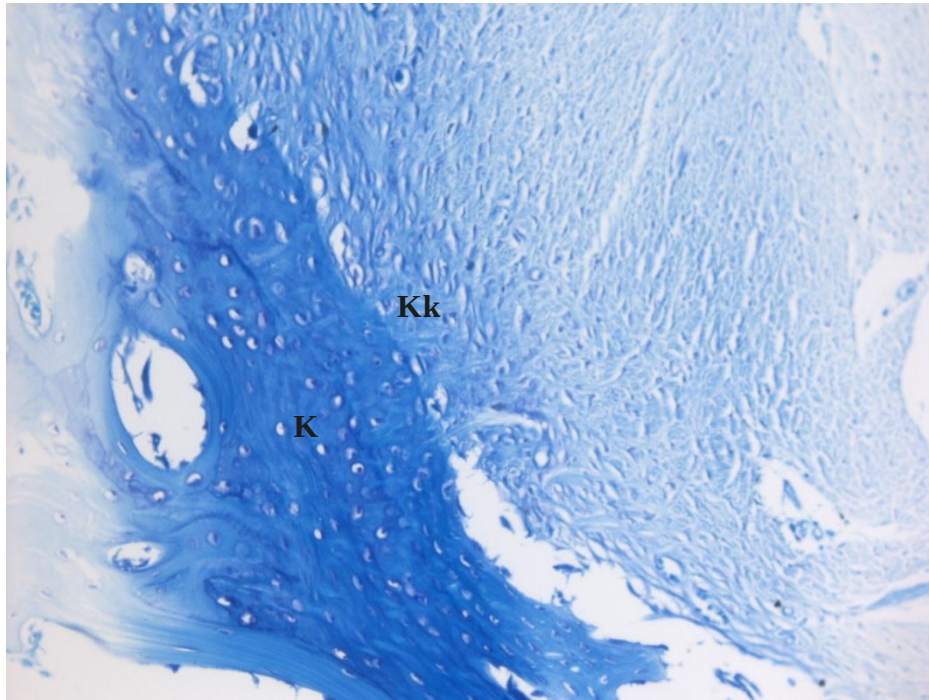
**Şekil 35.** *Tendona baskı altında bırakan, bağlantı bölgesinde granülom benzeri fokal alan. Kontrol 12 hafta, Masson trikrom, x80. K: kemik, T: tendon, \*: granülom benzeri fokal alan.*

### **İlaç verilen grup 6. hafta**

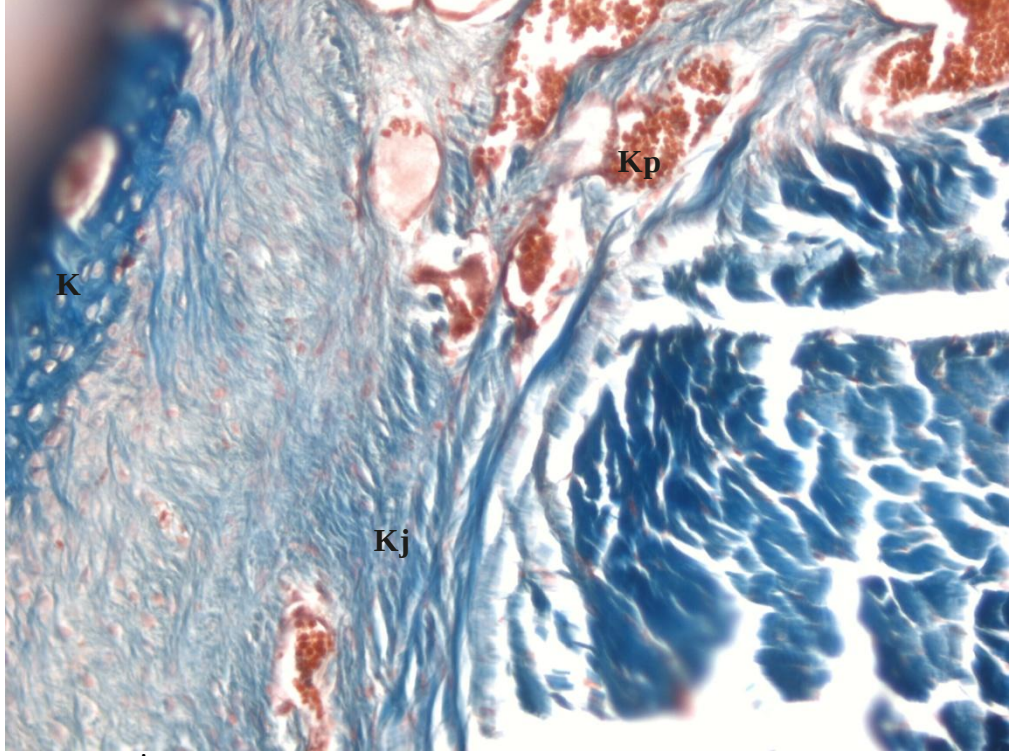
Tünel içerisinde tendon-kemik bağlantısının longitudinal seyreden bağdoku hücre ve ekstrasellüler matriks ile doldurulduğu ve kemik doku-bağdoku bağlantılarının oluştuğu gözlemlendi. Tamir faaliyetleri, tendon-kemik arası geçiş mesafesini daha dar bir alana sınırlamış ve genel olarak kompakt bağdokudan oluşmuştu. Bununla birlikte bazı alanlarda, bağdoku içerisinde geniş boşluklar ve gevşek bağdoku oluşumları mevcuttu. Kapiller destek dokunun oldukça az alan kapladığı ve küçük kapillerden oluştuğu gözlemlendi. Bağdoku hücrelerinin çoğu, iğsi şekilli fibrosit ve yine eliptik çekirdekli oval ya da yuvarlak fibroblastlara aitti. Masson trikrom boyalamalarda, yoğunluğu değişmekle birlikte geçiş bölgesinde yer yer kesintili kollajen oluşumları tespit edildi. Toluidine blue boyalamalarda, oldukça sınırlı bölgeler halinde de olsa hyaline kıkırdak metaplazilerine rastlandı.



**Şekil 36.** Düzenli ve tendon-kemik arasını doldurmuş genç bağdoku ile kapiilar destek dokusu, 6 hafta ilaç verilen grup, hematoksilen-eozin, X20.



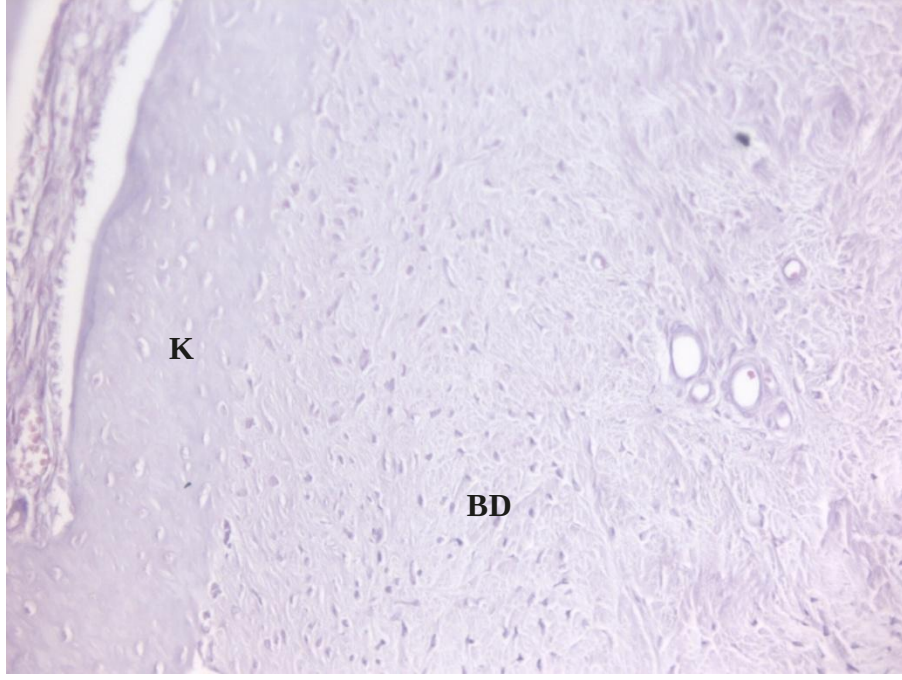
**Şekil 37.** Kemik dokuya yakın kıkırdak metaplazisi , 6 hafta ilaç verilen grup, Toluidin mavisi, X120. K:kemik, Kk: kıkırdak metaplazisi.



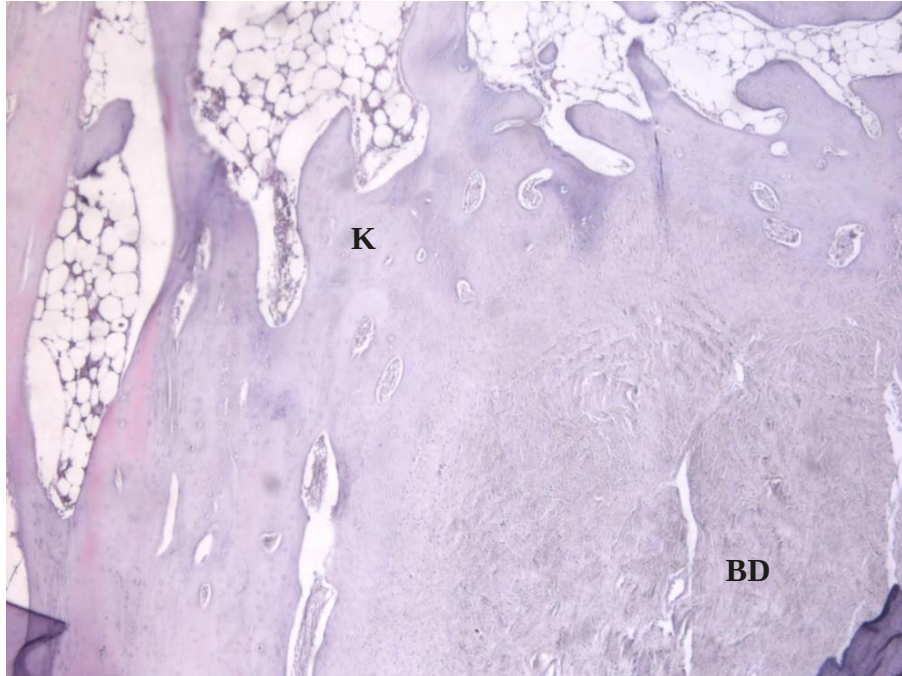
**Şekil 38.** *İyileşme hattında değişik derecelerde kollagen ve kapiller damarlar. 6 hafta ilaç verilen grup, Masson trikrom, X120. K:kemik, Kj: kollajen, Kp: kapiller.*

#### **İlaç verilen grup 12. hafta**

Tendon ile tünel boşluğu arasındaki sınırın gözden kaybolarak tam bütünlüğün sağlandığı bu grup örneklerde, olgun iğ şekilli fibrositlerin ve az sayıda kapillerlerin arasını dolduran yoğun kollajen demetleri ve kompakt bağdoku oluşumu gözlemlendi. Birçok alanda kemik yüzeye daha yakın olmak üzere kıkırdak metaplazisi mevcuttu. Ayrıca geçiş alanında, kümeler halinde hyaline kıkırdak oluşumları dikkati çekti.



**Şekil 39.** Tendon ve kemik bağlantısının tam gerçekleştiği ve işsi bağdoku, 12 hafta ilaç verilen grup, X20. K: kemik, BD: bağ doku.



**Şekil 40.** Tendon-kemik doku bağlantısının tamamen şekillendiği ve sınırların seçilemediği görülüyor. 12 hafta ilaç verilen grup, hematoxilen-eozin X80.



**Şekil 41.** Hyalin kıkırdak metaplazisi, 12 hafta ilaç verilen grup, toluidin mavisi, X120. K: kemik, Kk: kıkırdak yapı.

Tüm örnekler Yamato ve ark. tarafından tanımlanan skorumaya sistemine göre skorlanmışlardır (Tablo 4).

| Örnek sayısı | Deney Grubu             | Bağdoku Devamlılığı | İntersellüler Matriks /Kollajen | Fibroblast Maturasyonu | Hyalin Kıkırdak | Kapiller Oluşum | Toplam |
|--------------|-------------------------|---------------------|---------------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|--------|
| 1.           | <b>Kontrol 6 Hafta</b>  | 1                   | 1                               | 1                      | 0               | 1               | 4      |
| 2.           |                         | 1                   | 0                               | 1                      | 0               | 1               | 3      |
| 3.           |                         | 2                   | 1                               | 0                      | 0               | 1               | 4      |
| 4.           |                         | 1                   | 1                               | 1                      | 0               | 1               | 4      |
| 5.           | <b>Kontrol 12 Hafta</b> | 2                   | 2                               | 3                      | 1               | 2               | 9      |
| 6.           |                         | 3                   | 2                               | 2                      | 0               | 2               | 9      |
| 7.           |                         | 2                   | 3                               | 2                      | 2               | 3               | 12     |
| 8.           |                         | 1                   | 1                               | 3                      | 1               | 3               | 9      |
| 9.           | <b>İlaçlı 6 Hafta</b>   | 2                   | 2                               | 1                      | 1               | 2               | 8      |
| 10.          |                         | 2                   | 1                               | 3                      | 2               | 3               | 11     |
| 11.          |                         | 1                   | 2                               | 2                      | 2               | 2               | 9      |
| 12.          |                         | 2                   | 2                               | 2                      | 2               | 3               | 11     |
| 13.          | <b>İlaçlı 12 Hafta</b>  | 2                   | 3                               | 3                      | 3               | 3               | 14     |
| 14.          |                         | 3                   | 3                               | 3                      | 2               | 3               | 14     |
| 15.          |                         | 3                   | 2                               | 3                      | 2               | 3               | 13     |
| 16.          |                         | 3                   | 3                               | 3                      | 3               | 2               | 14     |

**Tablo 4.** Skorumaya sonuçları

Histolojik skorlama sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildiklerinde 6. hafta sakrifiye edilen grupta kemik-tendon geçiş alanında bağ doku devamlılığı, kollajen oluşum miktarı ve fibrinojen matürasyonu açısından iki grup arasında anlamlı bir fark oluşmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). Ancak 6. hafta ilaçlı ve kontrol grupları kemik tendon geçiş noktalarında oluşan hyalin kıkırdak ve kapiller damar oluşumları açısından karşılaştırıldıklarında aralarında anlamlı fark olduğu görülmüştür ( $p\leq 0,05$ ). 6. hafta örneklerinde GlcN-CS verilen grupta hyalin kıkırdak oluşumunun anlamlı ölçüde fazla olduğu ve anlamlı ölçüde azalmış kapiller damar oluşumu olduğu bulunmuştur. Aynı şekilde tüm skorlama verileri bir arada incelendiğinde 6. hafta sakrifiye edilen örneklerde kemik-tendon geçiş alanında ilaçlı grup ve kontrol grubu arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür ( $p\leq 0,05$ ) (Tablo 5).

| Gruplar                | Bağdoku Devamlılığı | Kollajen oluşumu | Fibrinojen Matürasyonu | Hyalin Kıkırdak oluşumu | Kapiller oluşumu | Toplam Skor  |
|------------------------|---------------------|------------------|------------------------|-------------------------|------------------|--------------|
| <b>6.Hafta kontrol</b> |                     |                  |                        |                         |                  |              |
| N                      | 4                   | 4                | 4                      | 4                       | 4                | 4            |
| Ortalama               | 1,25                | 0,75             | 0,75                   | 0,00                    | 1,00             | 3,75         |
| Std. Sapma             | 0,5                 | 0,5              | 0,5                    | 0,0                     | 0,0              | 0,5          |
| <b>6.hafta ilaçlı</b>  |                     |                  |                        |                         |                  |              |
| N                      | 4                   | 4                | 4                      | 4                       | 4                | 4            |
| Ortalama               | 1,75                | 1,75             | 2,00                   | 1,75                    | 2,50             | 9,75         |
| Std. Sapma             | 0,5                 | 0,5              | 0,8                    | 0,5                     | 0,6              | 1,5          |
| <b>p</b>               | <b>0,343</b>        | <b>0,057</b>     | <b>0,057</b>           | <b>0,029</b>            | <b>0,029</b>     | <b>0,029</b> |

**Tablo 5.** Yamakado ve ark. tarafından tanımlanan skorlama sistemine göre 6. hafta örneklerinin ortalama skorları ve standart sapmalarını ve Mann-Whitney U testine göre p değerleri tabloda verilmiştir.

Onikinci hafta örnekleri Yamakado ve ark. tarafından tanımlanan skorlama sistemi ile değerlendirilip skorlandırıldığında ilaçlı grup ve kontrol grubu arasında kemik-tendon geçiş alanında bağdoku devamlılığı, kollajen oluşumu, fibroblast matürasyonu, hyalin kıkırdak oluşumu ve kapiller damar oluşumları açısından tek tek incelendiğinde anlamlı bir fark görülmemiştir. Ancak

tüm veriler bir arada değerlendirildiğinde toplam skorda 12. hafta ilaçlı grupta anlamlı farklı sonuç elde edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ) (Tablo 6).

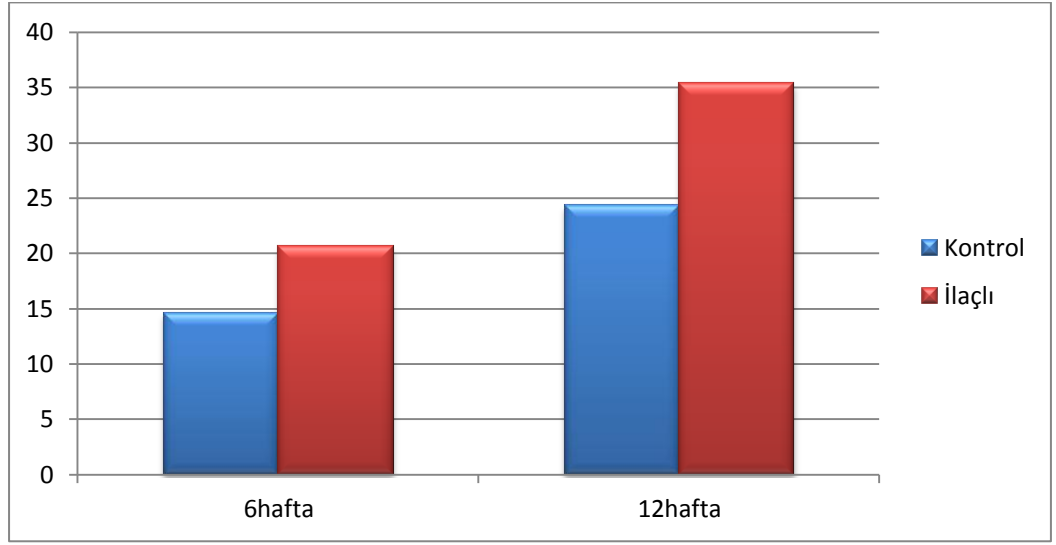
| Gruplar                  | Bağdoku Devamlılığı | Kollajen oluşumu | Fibrinojen Matürasyonu | Hyalin Kıkırdak oluşumu | Kapiller oluşumu | Toplam Skor  |
|--------------------------|---------------------|------------------|------------------------|-------------------------|------------------|--------------|
| <b>12. hafta kontrol</b> | N                   | 4                | 4                      | 4                       | 4                | 4            |
|                          | Ortalama            | 2,00             | 2,00                   | 2,50                    | 1,00             | 9,75         |
|                          | Std. Sapma          | 0,8              | 0,8                    | 0,6                     | 0,8              | 1,5          |
| <b>12. hafta ilaçlı</b>  | N                   | 4                | 4                      | 4                       | 4                | 4            |
|                          | Ortalama            | 2,75             | 2,75                   | 3,00                    | 2,50             | 13,75        |
|                          | Std. Sapma          | 0,5              | 0,5                    | 0,0                     | 0,6              | 0,5          |
| <b>p</b>                 |                     | 0,200            | 0,200                  | 0,343                   | 0,057            | 0,686        |
|                          |                     |                  |                        |                         |                  | <b>0,029</b> |

**Tablo 6.** Yamakado ve ark. tarafından tanımlanan skorlama sistemine göre 12. hafta örneklerinin ortalama skorları ve standart sapmalarını ve Mann-Whitney U testine göre p değerleri tabloda verilmiştir.

#### 4.2. BİYOMEKANİK BULGULAR

|                 | KONTROL                |                        | GlcN-CS                |                        |
|-----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|                 | 6.Hafta                | 12.Hafta               | 6.Hafta                | 12.Hafta               |
| <b>1</b>        | 13 N/mm <sup>2</sup>   | 24 N/mm <sup>2</sup>   | 19 N/mm <sup>2</sup>   | 34 N/mm <sup>2</sup>   |
| <b>2</b>        | 16 N/mm <sup>2</sup>   | 28 N/mm <sup>2</sup>   | 22 N/mm <sup>2</sup>   | 41 N/mm <sup>2</sup>   |
| <b>3</b>        | 15 N/mm <sup>2</sup>   | 21 N/mm <sup>2</sup>   | 21 N/mm <sup>2</sup>   | 31 N/mm <sup>2</sup>   |
| <b>Ortalama</b> | 14,7 N/mm <sup>2</sup> | 24,3 N/mm <sup>2</sup> | 20,7 N/mm <sup>2</sup> | 35,3 N/mm <sup>2</sup> |

**Tablo 7.** Biyomekanik test uygulanan her tendonun gerim sonuçları ve ortalamaları



**Şekil 42.** *Biyomekanik sonuçların grafiksel görünümü*

Biyomekanik sonuçlar Mann-Whitney U testi ile istatistiksel olarak incelendiğinde 6. hafta ve 12. hafta grupları arasında ilaçlı grup ve kontrol grubunda anlamlı bir fark elde edilememiştir. Ancak kontrol grubunda test edilen örneklerde, hem 6. hem de 12. hafta gruplarında tendonlar kemik tünel içinden sıyrılmıştır. Biyomekanik gerim testinden elde edilen veriler tendonların kemik tünel içinden sıyrılma kuvvetleridir. Buna karşın GlcN-CS grubunda hem 6. hem de 12. hafta örneklerinde hiçbir tendon ilaçsız kontrol grubunda olduğu gibi kemik tünel içinden sıyrılmamıştır. Kopma kuvvetine ulaşan tendonların hepsi ya tendon gövdesinden ya da kas-tendon bileşkesinden kopmuştur.



**Şekil 43.** Kontrol grubunun 6. hafta örnekleri. Tüm tendonlar kemik tünellerin içinden sıyrılmıştır.



**Şekil 19.** GlcN-CS grubunun 6. hafta örneklerinden birisi. Tendon kemik tünel içinde sabit kalırken koparma kuvvetine ulaşıldığında tendon muskulotendinöz bileşkedden ayrılmıştır.



**Şekil 20.** *GlcN-CS grubundan 12. haftaya ait bir örnek. Tendon kemik tünel içinde sabit kalırken kopma gücüne ulaşıldığında tendon gövdesinden kopma gerçekleşmiş.*

## 5. TARTIŞMA

Tendonların travma sonucu ve ya kronik enflamasyon sonrası kemiğe yapışma yerlerinden ve ya gövde kesimlerinden kopması kasın geri çekme gücüyle proksimal ve distal parçalar arasında bir boşluk oluşmasına neden olur. Bu boşluk eğer yeterince kısa bir boşluk ise yeni skar dokusu ile dolar ve iyileşme gerçekleşir. Ancak boşluğun skar dokusu ile dolması ve kasın geri çekilmiş olması nedeniyle kas tendon kompleksinin boyu uzar. Bu uzama sonucu ilgili kas ile ilişkili hareket kaybı ortaya çıkar. Bu nedenle günümüz şartlarında tendon kopmaları cerrahi girişim gerektirecek bir durumdur. Bu tip yaralanmalarda konservatif tedavi sonuçları cerrahi tedavi sonuçlarına göre daha kötüdür.

Tendon gövde kesimindeki kopmalar için çeşitli tamir yöntemleri tanımlanmıştır. Bu yöntemler bizim çalışmamız dışında kalmaktadır. Kemik yapışma yerinden kopan tendonların yeniden uygun yere sabitlenmeleri ile ilgili çeşitli yayınlar mevcuttur (2,4,5,7,9,22,31) Ancak cerrahi sonrası bile tendonların kemiğe tutunma bölgeleri eski güçlerine gelememektedir. Bunun nedeni kemik tendon bileşkesi karmaşık yapısının iyileşme sırasında eski histolojik ve biyomekanik özelliklerine ulaşamıyor olmasıdır. Bu durum ilgili kasın ilgilendirdiği bölgede fonksiyonel kayıplara neden olabilmektedir. Fonksiyonel kayıp oluşmaması durumunda bile iyileşme süresinin uzunluğu dikkat çekici düzeydedir. Hem sürecin uzunluğu hem de muhtemel fonksiyon kayıpları kişide iş gücü kaybına neden olup bir halk sağlığı sorunu haline de dönüşebilmektedir.

Ön çapraz bağ yaralanması sonrası yapılan bağ tamiri ameliyatı ortopedistlerin en sık yaptığı ameliyatlar arasında 6. sıradadır (41). Ön çapraz bağ rekonstrüksiyonu için çeşitli yöntemler tanımlanmıştır. Bu yöntemler arasında otojen greftler ve allojen greftler ile yapılan rekonstrüksiyonlar yer alır. Rekonstrüksiyonun temelini kopmuş olan ön çapraz bağın fonksiyonunu uygun olarak yerleştirilmiş bir tendon grefti ile yerine getirmeye çalışmak oluşturmaktadır. Bu greftler arasında hemstring tendon grefti, patellar tendon

grefti, kuadriseps tendon grefti ve çeşitli allojen tendon greftleri yer alır. Teknik olarak femur ve tibiada açılan tüneller içerisine tendon greftleri yerleştirilir. Yerleştirilen bu greftler kemik içi ve ya kemik dışı araçlar ile burda sabitlenirler. Bu greftler ile yapılan rekonstrüksiyon ameliyatlarından sonra ortaya çıkan başlıca komplikasyon tendon greftinin femur ve ya tibiada açılan tünellerden sıyrılması ve gücünü kaybederek fonksiyonunu yitirmesidir (42). Normal ÖÇB diz eklemi içinde femur ve tibiaya direkt bağlanma ile tutunur. ÖÇB tamiri sonrası kemik tünel içine yerleştirilen tendonun iyileşmesi birçok çalışma ile araştırılmıştır. Bu çalışmalar arasında insan çalışmaları da mevcuttur (43,44,45,46,47).

Pinczewski ve ark. revizyon ÖÇB ameliyatı yaptıkları 2 hastanın revizyon ameliyatı sırasında tendonları yerleştirdikleri tünellerden aldıkları biyopsi örneklerini incelemişler ve Sharpey benzeri kollajen lif devamlılığı olduğunu belirtmişlerdir (43). Petersen ve Laprell ÖÇB revizyonu yaptıkları 14 hastada patellar tendon grefti ve hemstring tendon greftinin kemik tünel içinde iyileşmelerini incelemişlerdir. Patellar tendon greftinin kemik komponentinin tünel içinde kemik kaynaması sayesinde iyileştiğini ancak hemstring tendonunun kemik tünel içinde fibrokartilaj doku oluşmadan fibröz doku ile iyileştiğini bulmuşlardır (44). Nebelung ve arkadaşları revizyon ÖÇB ameliyatı yaptıkları hastalardan aldıkları biyopsileri incelediklerinde hemstring tendon grefti kullanımı sonrası kemik tünel iyileşme bölgesinde kemik-tendon arası kollajen devamlılığı içermeyen bir granülasyon dokusu ile iyileştiğini bulmuşlardır (46). Robert ve ark. ÖÇB revizyonu yaptıkları 12 hastadan aldıkları biyopsilerde ÖÇB tamiri sonrası 3. ayda kemik-tendon arasında fibrokartilaj bir dokunun oluştuğunu ancak iki yapı arasında tam bir kollajen devamlılığı olmadığını bulmuşlardır. Aynı çalışmada Sharpey benzeri kollajen liflerinin 5. ve 6. aylarda oluşmaya başladığını ve cerrahi sonrası 12. ayda devamlılık gösteren Sharpey liflerinin oluştuğunu belirtmişlerdir (47).

ÖÇB tamiri sonrası tendonun kemiğe kaynamasını inceleyen hayvan çalışmaları da yapılmıştır. Ancak bu çalışmaların sonuçları hayvanların diz

kinematiklerinin insanlardan farklı olmasından dolayı tartışmalıdır. Hayvanlarda yapılan kemik tendon iyileşmesi çalışmalarının birçoğu metodolojik açıdan da tartışmalıdır. Bu çalışmaların birçoğu eklem dışı tendonlarda yapılmıştır ancak eklem içi tendonların maruz kaldığı sinovial sıvının içerdiği metalloproteinazlar ve kollajenazlar sonuçları olumsuz etkileyebilir (42).

Kemik ve tendon arasındaki iyileşmeyi hızlandırmak klinik sonuçları iyileştirecek ve fonksiyonel aktivite düzeyine daha çabuk ulaşılmasını sağlayacaktır. Kemik tendon bileşkesinin iyileşme süresini kısaltmak ve iyileşme gücüne katkıda bulunmak amacıyla bugüne kadar bir kaç hayvan çalışması yapılmıştır (10,11,13,15,25,48,49,50). Mevcut çalışmalarda yüzdürücü sonuçlara ulaşılmış ise de bu çalışmalar halen deneysel aşamadadır.

Kemik tendon arası bağlantıya enthezis denmektedir. Literatürde fibrokartilaj bölgenin bulunma durumuna göre 2 tip enthezis tanımlanmıştır (51).

Tendon tamirinde tendonun asıl yerine sabitlenmesi kadar kemik tendon arası geçişin normal morfolojiye uygun şekilde sağlanması da önemlidir. Hayvan deneylerinde yumuşak dokunun kemiğe tutunmasının nonspesifik hiperselüler bir yapı ve hipervasküler granülasyon dokusu ile olduğu gösterilmiştir. Bu granülasyon dokusu organize olmamış kısa kollajen liflerinden oluşmaktadır (52,53).

Liu ve arkadaşları tavşanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 6. haftada oluşan bu kollajenin tip III kollajen olduğunu ortaya koymuşlardır (54). Zaman içinde iki doku arasında ilerleyici bir integrasyon ortaya çıkmakta ve kemik ve tendon arasında kollajen köprüleri oluşmaktadır (53,55). Bu geçiş dokusunun kemiğe bağlanması ekstraselüler matriksin osifikasyonu ile oluşmaktadır. Normal kemik tendon arası doku özelliklerini 12-26 hafta civarında almaktadır (53,56).

Rodeo ve arkadaşları yaptıkları çalışmada tendonun kemik tünel içindeki gerinim dayanım kuvvetinin oluşan kollajen liflerinin devamlılığına bağlı

olduğunu göstermişlerdir. Aynı zamanda cerrahi sonrası tendonun en az 8 hafta korunması gerektiğini ve yeterli güce 12 haftada ulaştığını vurgulamışlardır (53).

Oluşan bu dokunun normal entezis olduğunu savunan makaleler mevcuttur (57). Diğer taraftan kemik ve tendon arasında oluşan kollajen bağlantının orijinal enteziste bulunan mineralize fibrokatilaj olmadığını savunan makaleler de mevcuttur (52,56).

Kemik tendon arası bağlantının doğru morfolojide ve hızlı bir şekilde eski gücüne ulaşarak iyileşmesi fonksiyonel sonuçlar açısından çok önemlidir. Bu amaçla kemik tendon bileşkesinin iyileşme gücünü ve kalitesini değerlendirmek amacıyla birçok çalışma yapılmıştır.

Chen CH ve arkadaşları kemik tünel içinde tendon iyileşmesini değerlendirmek için tendon greftinin etrafını periost ile sarmışlardır. Tavşanların tibialarına 2mm çapında standart tüneller açmışlardır. Açtıkları tünellere periost ile kaplı EDL tendonunu yerleştirmiş ve tendonu tünelde bir düğme yardımıyla sabitlemişlerdir. Çalışmalarını 36 adet tavşan üzerinde yapmışlar ve tavşanları 4, 8 ve 12. haftalarda sakrifiye ederek kemik tendon bağlantısını histolojik ve biyomekanik olarak incelemişlerdir. Histolojik incelemeleri H&E ve Masson'un trikrom boyası ile yapmışlardır. Bu çalışmalarında periost ile kaplanan tendonlarda önce bir fibrotik doku oluştuğunu daha sonra bu fibrotik doku içerisine ilerleyici olarak kemik büyümesi olduğunu ve tendon ve kemik arasında organize uzanan kollajen lifleri geliştiğini göstermişlerdir. Biyomekanik olarak tendonları 5mm/saniye hızında olacak şekilde gerim testine tabi tutmuşlar ve periost ile kaplanan grubun daha başarılı germe sonuçları olduğunu vurgulamışlardır (58).

Tsukada H. ve arkadaşları 60 tavşan üzerinde yaptıkları çalışmada tendona yerleştirilen ve tünel içinde kalan dikiş materyallerinin iyileşmeye etkisini histolojik ve biyomekanik olarak incelemişlerdir. Bu amaçla tavşanların

tibialarında 2,5 mm çapında tüneller açarak sütür materyali yerleştirdikleri EDL tendonunu bu tünellerden geçirmiş ve bir düğme yardımı ile sabitlemişlerdir. kontrol grubundaki tavşanlara sütür materyali yerleştirmemişlerdir. Tavşanları 4, 6, 8 ve 12. haftalarda sakrifiye etmiş ve tendonları biyomekanik ve histolojik olarak incelemişlerdir. Histolojik olarak H&E ve Masson trikrom boyama kullanmışlardır. Tendonları 100mm/dk olacak şekilde gerim testine tabi tutmuşlar ve sonuçta 4 ve 6. haftalarda her iki grup arasında benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Ancak 8 ve 12. hafta örneklerinde dikiş materyali yerleştirilen gruptaki tendonlar tünellerden sıyrılırken kontrol grubundaki tendonlar tendon gövdelerinden kopmuşlardır. Bu alışma ile tünel içinde bırakılan dikiş materyallerinin iyileşmeyi olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmıştır (59).

Kyung HS ve arkadaşları kemik tünel içinde tendon iyileşmesine periost arayüzünün etkisini araştırmışlardır. alışmalarında 20 adet tavşan kullanmışlar ve tavşanların her iki ayaklarını ameliyat etmişlerdir. Ameliyat edilen bir ayakta EDL tendonunu tibia anteriorundan alınan periost ile kaplamış diğer ayakta ise tendonu kaplamamışlardır. Tüm tavşanları 3 ve 6. haftalarda sakrifiye etmişler ve sonuçları biyomekanik ve histolojik olarak karşılaştırmışlardır. Histolojik olarak H&E ve Masson'un trikrom boyası kullanılmıştır. Tendonlar 50mm/dk hızında gerim testine tabi tutulmuşlardır. Sonuçta tüm zaman periyotlarında periost ile kaplı tendonun kemiğe bağlantı noktasında daha güçlü bir bağlantı oluşumu ve kemik tendon arasında daha yakın bir ilişki saptanmıştır. Periost ile kaplı grupta 6. haftada sharpey liflerine benzer düzenli kollajen lifleri oluştuğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda yaptıkları biyomekanik çalışmalarda yine tüm zaman periyotlarında periost ile kaplı tendonda daha yüksek tünelden sıyrılma gücü gerektiği bulunmuştur (60).

Ülkemizde Karaoğlu S. ve arkadaşları kemik tünel içinde tendon iyileşmesine kemik iliği ve periostun etkilerini inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Bu amaçla 36 adet tavşan kullanmışlar ve 3 grup oluşturmuşlardır. Bir grubun EDL tendonunun etrafına periost sarılmış, bir grubun tendonuna tünele

yerleştirildikten sonra aspire edilmiş kemik iliği enjekte edilmiş ve diğer grup ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Tavşanlar 6. ve 12. haftalarda sakrifiye edilmiş ve örnekler histolojik ve biyomekanik olarak değerlendirilmiştir. Histolojik incelemede H&E ve Masson'un trikrom boyası kullanılmıştır. Tendonlar biyomekanik ölçümde 10mm/dk hızında test edilmişlerdir. Sonuçta periost kaplanan grup ve kemik iliği enjekte edilen grupta daha yüksek başarı oranları olduğunu bulmuşlardır. Altıncı ve onikinci haftalarda incelenen örneklerde periost ile kaplı grupta kontrol grubuna göre anlamlı oranda daha fazla kollajen devamlılığı olduğu ve geçiş dokusunun daha iyi şekillendiği bulunmuştur. Bu sonucu hem periostta hem de kemik iliği içerisinde bulunan puliripotent hücrelere ve bu hücrelerin ürettiği kollajene miktarındaki artışa bağlamışlardır (15).

Bu çalışmalar dışında kemik tünel içinde tendon iyileşmesine plateletten zengin plazmanın ve kemik morfojenik proteininin, sinovial sıvının etkilerini inceleyen çalışmalarda mevcuttur (61,62,63).

Glukozamin kondroitin sülfat günümüzde kıkırdak sorunu olan hastalar tarafından semptomları geriletmesi nedeni ile tercih edilen bir moleküler bileşiktir. Semptomların gerilemesi ilacın kıkırdak hücreleri üzerinde kollajen sentezini uyarıcı etkisi ve ilacın antienflamatuvar özellikleri ile sağlanmaktadır (64,65,66). Kıkırdak hücreleri üzerindeki etkisi hücreye özgün olmayıp yumuşak doku içerisindeki bulunan bağ ve tenosit gibi hücreler üzerinde de uyarıcı etkisi vardır (20).

Glukozamin kondroitin sülfat kompleksinin kondrositleri uyarmasının yanında tenositleri de kollajen sentezi yönünde uyardığı hücre kültürü çalışmalarında gösterilmiştir (20). Özer H. ve arkadaşları GlcN-CS kompleksinin tendonların uçuca dikilmeleri sonrası iyileşmeye yaptıkları katkıyı hayvan çalışması ile değerlendirmişlerdir. Bu amaçla 30 adet ratın aşil tendonları cerrahi olarak kesilmiş ve daha sonra dikilmiştir. Ratlar iki gruba ayrılmış ve bir gruba GlcN-CS kompleksi oral yolla verilirken diğer grup kontrol grubunu

oluşturmuştur. Ratlar 4, 8 ve 12. haftalarda kurban edilmif ve 6rnekler biyomekanik ve histolojik olarak karşılaştırılmıştır. Sonuçta GlcN-CS kompleksinin tenositlerde kollajen sentezini arttırdığını ve iyileşme dokusunda oluşan kollajenin kontrol grubuna g6re anlamlı olarak daha organize bir yapıya sahip olduğunu g6stermişlerdir (65).

Çalışmamızda enthezis yaralanması sonrasında uygulanan cerrahi ve ardından oral olarak verilen glukozamin kondroitin s6lfatın iyileşme g6c6ne ve iyileşme dokusuna etkisi hayvan deneyi yapılarak araştırılmıştır. Daha 6nce yapılan çalışmalarda GlcN-CS kompleksinin h6cre k6lt6rlerinde kollajen sentezini kollajen tipinden bağımsız olarak arttırdığı ve anti enflamatuar etkiler g6sterdiği belirtilmiştir (20). Bu alışmalar ışığında başladığımız alışmamızda GlcN-CS kompleksinin kemik t6nel içinde iyileşen tendonun kemiğe tutunmasına etkilerini araştırdık. Çalışmanın y6r6t6lebilmesi için literat6rdeki yayınlar da g6z 6n6ne alınarak çalışmamızı tavşanlar 6zerinde yaptık. Tendonun kemik t6nel için de iyileşmenin en y6ksek olduğu zaman olarak literat6rde belirtilen 12. hafta çalışmanın sonlandırma zamanını oluşturdu. Aynı zamanda tendon tamirleri sonrası kısmi hareket başlanan 6. hafta tendonun erken d6nem iyileşmesini değerlendirmek 6zere belirlendi. Tavşanların g6nl6k aktivitelerine engel olmamak amacıyla sadece sağ alt ekstremitelerine cerrahi uygulandı. Cerrahi literat6rde daha 6nceden bahsedildiği gibi yapıldı (15).

Oluşturduğumuz iki grubun bir tanesine oral yol ile GlcN-CS verdik. Verilecek doz hayvan deneylerinde denenmiş olan minimum toksik doz g6z 6n6ne alınarak ayarlandı (39).

Altıncı ve onikinci haftalarda hem kontrol hem de GlcN-CS grubundan yedişer tavşan kurban edildi. Anlamlı histolojik ve biyomekanik sonuçlar elde etmek amacıyla 7 6rnekten 4 tanesi histolojik 3 tanesi ise biyomekanik değerlendirmeye g6nderildi. Histolojik çalışmada kemik-tendon aray6z6n6 incelemek için 6rnekler uygun sol6syonlar ile hazırlandıktan sonra kesitler alındı

ve hematoksilin eozin, Masson trikrom boyası ve toludin mavisi ile boyandı. Örnekler semikantitatif olarak incelendi. Bu amaçla Yamakado ve ark. tarafından daha önceden tanımlanmış skorlama sistemi kullanıldı. Her örnek bağ dokusu devamlılığı, arayüzde kollajen oluşumu, oluşan fibroblastların matürasyonu, arayüzde hyalin kıkırdak oluşumu ve arayüzdeki kapiller sayıları açısından tek tek skorlandı.

Histolojik örnekler yapılan incelemelerin ardından Yamato ve ark. tarafından tanımlanan skorlama sistemi ile skorlandı. Biyomekanik çalışma literatürde belirtilen şekilde uygulandı. Germe hızı olarak sonuçları daha rahat olarak takip edebildiğimiz 10mm/dk seçildi. Germe cihazı tendon çaplarının kopma kuvvetine etkisini en aza indirmek için her örnekten önce gerim testi uygulanacak tendonun çapı hesaplanarak bu çapa göre kalibre edildi. Germe testinin sonuçları her örnek için ayrı ayrı kaydedildi. Sonuçlar SPSS 15.0 Evolution ile analiz edildi.

Çalışmamızın sonucunda GlcN-CS preparatının literatürde yer alan doku kültürü çalışmasında olduğu gibi tavşanlar üzerinde de kollajen sentezini arttırdığı, histolojik örnekler toplam skorlamalara göre değerlendirildiğinde kemik-tendon arayüzüne olumlu etkileri olabileceği sonucuna varıldı.

## 6. SONUÇ

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları literatür bilgileri ile sentezlediğimizde aşağıdaki çıkarımları elde edebiliriz.

➤ Tendon yaralanmalarında tendonların kemiğe tespiti sonrası fonksiyonel sonuç elde etmek ve bu yapının eski gücüne gelmesi günümüzde bir sorun olarak görülmektedir.

➤ Çalışmalarda kemik-tendon arayüzünde daha kısa sürede daha güçlü bir bağ kurabilmek için farklı materyaller denenmektedir.

➤ Kemik-tendon bileşkesi yaralanmaları veya tendon transferleri sonrası, tendonların kemiğe cerrahi olarak tespiti ardından kemik tendon arayüzünün iyileşmesi bu iyileşmenin beklendiği 12 hafta civarında yeterli düzeyde olamamaktadır.

➤ Kemik tendon arayüzünde oluşan kollajen liflerinin fonksiyonel yeterli güce gelebilmeleri için gereken süre uzun olduğundan bu süreyi kısaltacak cerrahiye ek tedavi seçenekleri çok faydalı olacaktır.

➤ Kemik-tendon arayüzünde biyomekanik fonksiyonel gücün elde edilmesi için kollajen devamlılığı ve matürasyonu ciddi önem taşımaktadır.

➤ Literatürde GlcN-CS ile yapılan çalışmalar yetersiz olmasına rağmen bu bileşiğin sadece kondrositleri değil tenositleride sentez yönünde uyardığı aşıkardır.

➤ Çalışmamızda oral yolla verilen GlcN-CS kompleksinin kemik tendon arayüzünde fibroblast matürasyonunu arttırdığını ve bu fibroblastları kollajen sentezi yönünde uyardığını bulduk.

➤ GlcN-CS kompleksinin literatürde belirtildiği gibi sadece hücre kültüründe değil canlılar üzerinde de tenositlerde kollajen sentezini arttırdığı sonucuna ulaştık.

➤ GlcN-CS kompleksi hem erken iyileşme dönemi olan 6. haftada hem de fonksiyonel iyileşme dönemi kabul edilen 12. haftada kemik-tendon arayüzün iyileşmesine olumlu katkı yapmaktadır. Yamamoto ve ark. tarafından tanımlanan skorlama sistemine göre skorlanan örneklerde bu sonuç açıkça görülmektedir.

| Örnek sayısı | Deney Grubu             | Bağdoku Devamlılığı | İntersellüler Matriks /Kollajen | Fibroblast Maturasyonu | Hyalin Kıkırdak | Kapiller Oluşum | Toplam |
|--------------|-------------------------|---------------------|---------------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|--------|
| 17.          | <b>Kontrol 6 Hafta</b>  | 1                   | 1                               | 1                      | 0               | 1               | 4      |
| 18.          |                         | 1                   | 0                               | 1                      | 0               | 1               | 3      |
| 19.          |                         | 2                   | 1                               | 0                      | 0               | 1               | 4      |
| 20.          |                         | 1                   | 1                               | 1                      | 0               | 1               | 4      |
| 21.          | <b>Kontrol 12 Hafta</b> | 2                   | 2                               | 3                      | 1               | 2               | 9      |
| 22.          |                         | 3                   | 2                               | 2                      | 0               | 2               | 9      |
| 23.          |                         | 2                   | 3                               | 2                      | 2               | 3               | 12     |
| 24.          |                         | 1                   | 1                               | 3                      | 1               | 3               | 9      |
| 25.          | <b>İlaçlı 6 Hafta</b>   | 2                   | 2                               | 1                      | 1               | 2               | 8      |
| 26.          |                         | 2                   | 1                               | 3                      | 2               | 3               | 11     |
| 27.          |                         | 1                   | 2                               | 2                      | 2               | 2               | 9      |
| 28.          |                         | 2                   | 2                               | 2                      | 2               | 3               | 11     |
| 29.          | <b>İlaçlı 12 Hafta</b>  | 2                   | 3                               | 3                      | 3               | 3               | 14     |
| 30.          |                         | 3                   | 3                               | 3                      | 2               | 3               | 14     |
| 31.          |                         | 3                   | 2                               | 3                      | 2               | 3               | 13     |
| 32.          |                         | 3                   | 3                               | 3                      | 3               | 2               | 14     |

➤ GlcN-CS tendon yaralanmaları sonrası cerrahi ardından kullanıldıklarında erken iyileşme dönemi olan ve hastaya kısmi hareket başlanan 6. haftada kemik tendon arası bağlantıya olumlu etkiler göstermektedir. Bu etkiler fonksiyonel iyileşmeye ve günlük aktivite düzeyine erken ulaşmaya katkıda bulunabilirler.

➤ Biyomekanik olarak test edilen kemik tendon bileşkesine GlcN-CS'nin etkisi olumlu yönde olmuştur. GlcN-CS'nin histolojik yönde olduğu kadar biyomekanik sonuçları da olumlu yönde etkilediği bulunmuştur.

➤ Kemik tendon arayüzünün iyileşmesi ile ilgili literatürlerde tenositleri uyarıcı ajanlarla ilgili yeterli çalışma olmadığı görülmüştür.

➤ Klinik çalışmalar glukozaminin güvenli bir ilaç olduğunu göstermiştir. Glukozaminin oral veya intravenöz uygulamalarında insülin rezistansının artmadığı ve endotel disfonksiyonuna yol açmadığı gösterilmiştir (66,67). Ancak bazı araştırmalarda pankreas  $\beta$  hücrelerine zarar verdiği ve bu nedenle diabetes gelişiminde risk faktörü olduğu belirtilmiştir (68). Bunun dışında düşük miktarda mide rahatsızlığı, konstipasyon, diare, baş ağrısı ve döküntülere neden olabilir (20).

➤ Hayvanlarda kullanılan GlcN-CS kompleksinin literatürde kanıtlanmış bir yan etkisi bulunamamış ancak bazı durumları ağırlaştırdığı gösterilmiştir. Bu etki günlük dozdan bağımsız olarak bulunmuştur.

➤ ÖÇB yaralanmaları sonrası tendon greftleri ile tamir yapılmaktadır. Bu tamirin sonuçlarını etkileyen en önemli faktörlerden birisi tendonun kemiğe uygun morfolojide tutunmasıdır. Çalışmamızın sonuçları ÖÇB cerrahisi sonrası kemik tünel içine yerleştirilen tendonların iyileşme sürelerine ve iyileşme kalitelerine GlcN-CS kompleksinin olumlu etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Ancak çalışmamızın metodolojisi gereği kemik tünel içinde iyileşmesi değerlendirilen tendon eklem dışı bir tendon olduğundan benzer bir çalışmanın eklem içi bir tendon ile yapılmasının yararlı bilgiler sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamız, kemik tünel içine tendon tespiti sonrası kemik tendon arayüzüne oral yolla verilen bir ilacın etkisinin denetlenmesi açısından bir ilk olma özelliği taşımaktadır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilerin çalışmaya dahil edilen hayvan sayısı arttırılarak daha da sağlamlaştırılabileceğini düşünmekteyiz. Literatürde yer alan ve daha önce çalışılmış kemik-tendon arayüzünün iyileşmesini hızlandıran diğer ajanların GlcN-CS ile karşılaştırılmaları ilacın etkinliği açısından daha güçlü veriler elde etmek adına faydalı olabilir. Aynı zamanda iyileşme dokusunda bulunan kollajenin tiplendirilmesi iyileşme dokusunun kalitesi açısından bize yararlı bilgiler sunabilecektir.

## 7. ÖZET

**Giriş:** Günümüzde tendon yaralanmaları sık karşılaşılan bir yaralanma haline gelmiştir. Bu yaralanmalar fazla kullanmaya, travmaya veya enflamatuvar sürece bağlı olabilirler. Tendon yaralanmaları kendiliğinden iyileşme sonrası fonksiyonel kayıplara neden olabileceklerinden cerrahi tamire ihtiyaç duyarlar. Cerrahi tedavi sonrası tendonun yeniden kemiğe güçlü bir şekilde bağlanması eklem hareketlerinin fonksiyonel olarak sağlanması açısından önemlidir. Kemik tendon arası bağlantının güçlü bir şekilde kurulabilmesi için çeşitli çalışmalar yapılmış ve bir çok ajan iyileşmeyi arttırmak için denenmiştir. Glukozamin kondroitin sülfat kompleksi (GlcN-CS) hücre kültürlerinde tenosit aktivitesini uyardığı gösterilmiş bir ajandır. Biz çalışmamızda GlcN-CS kompleksinin kemik tünel içinde tendon iyileşmesine katkısını araştırmayı planladık.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada 28 adet Yeni Zellanda tavşanı kullanılmıştır. Tavşanlar 2 gruba ayrılmıştır. Birinci grup kontrol grubu ikinci grup ise glokozamin-kondroitin sülfat preparatı verilecek grup olarak planlanmıştır. 28 tavşanın her birisinin sağ arka bacaklarında bulunan ekstansor digitorum longus (EDL) kaslarının tendonları yapışma yerlerinden cerrahi olarak ayrılmış ve daha sonra tibialarında açılan tüneller içerisine yerleştirilmiştir. Tavşanlar 6. ve 12. haftalarda sakrifiye edilmiş ve tibiaları ve EDL kasları çıkartılmıştır. Her hafta grubunda örneklerden 4 tanesi histolojik 3 tanesi ise biyomekanik çalışmaya ayrılmıştır. Histolojik çalışmaya ayrılan örnekler uygun şekilde hazırlandıktan sonra H&E, Mason Trikróm ve Toluidin mavisi ile boyanmış ve incelenmişlerdir. Sonuçlar semikantitatif olarak skorlanmışlardır. Biyomekanik teste ayrılan örnekler 10mm/dk hızında olacak şekilde gerim testine tabi tutulmuşlardır. Her örnek için sonuçlar tektek kaydedilmiştir.

**Bulgular:** Histolojik örnekler incelendiğinde ve semikantitatif olarak skorlandıklarında toplam skorlar gözönüne alınınca 6. hafta ve 12. hafta gruplarının GlcN-CS alanları anlamlı ölçüde farklı bulunmuşlardır ( $p<0,05$ ).

Biyomekanik test sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamış olsa da ( $p>0,05$ ) GlcN-CS grubunda tendonlar, kontrol grubundan farklı olarak kopma kuvvetlerine ulaştıklarında kemik tünel içinden değil kas tendon birleşkesinden ve ya tendon gövdesinden kopmuşlardır.

**Sonuç:** Histolojik ve biyomekanik sonuçlar gözönüne alındığında GlcN-CS kompleksi tendonların kemiğe cerrahi sabitlenmeleri ardından oral yolla uygulandıklarında erken iyileşme dönemi olan 6. haftada ve 12. haftada kemik tünel-tendon birleşim noktasında iyileşmeye olumlu etkiler göstermektedirler.

**Anahtar Kelimeler:** Kemik tünel-tendon birleşkesi, tendon iyileşmesi, glukozamin kondroitin sülfat.

## ABSTRACT

**Introduction:** Today, tendon injuries have become frequent. These injuries can result from overuse, trauma or inflammatory processes. As tendon injuries can lead to function losses when left to heal on their own, they require surgical repairment. Following surgical treatment, strong reattachment of the tendon to the bone is essential in terms of enabling functional joint movements. There have been numerous studies in order to enable restructuring a robust reattachment of the tendon and the bone and many agents have been tried in order to enhance healing. Glucosamine chondroitin sulfate (GlcN-CS) is an agent that has been shown to stimulate tenocyte activity in cell cultures. This study aims to research the contribution of glucosamine chondroitin sulfate to the healing of tendons within the bone tunnel.

**Equipment and Method:** 28 New Zealand rabbits have been used as subjects in the study. The subjects were divided into two groups. The first was the control group, while the second one was planned to receive a preparation of glucosamine chondroitin sulfate. In each of the 28 rabbits, tendons of the extensor digitorum longus (EDL) muscles, located in their right hind legs, were surgically detached from the points of attachment and then placed in tunnels drilled in their tibias. The subjects were sacrificed on the 6<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> postoperative weeks and their tibias and EDL muscles were removed. In the group for each of the above weeks, 4 of the samples were set aside for histological examinations, and 3 for biomechanical studies. The samples reserved for histological examination were then prepared accordingly, dyed with H&E, Masson Trichrome and toluidine blue and studied. The results were scored semi-quantitatively. The samples reserved for biomechanical testing were subjected to tension tests at the rate of 10 mm/min. The results for each of these samples were recorded separately.

**Findings:** Upon examining and semi-quantitatively scoring the histological samples, a significant difference has been observed in GlcN-CS areas

of the 6<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> week groups, taking the total score into consideration ( $p < 0.05$ ). Although statistically significant differences were not observed in the biomechanical test group ( $p > 0.05$ ), in the GlcN-CS group, as opposed to the control group, when tendons reached the breaking strength, they detached not from inside the bone tunnel but from the muscle- tendon connections or from the tendon body itself.

**Conclusion:** Taking histological and biomechanical results into consideration, when GlcN-CS is orally applied following surgical attachment of tendons to bones, in the early recovery period of 6<sup>th</sup> week and 12<sup>th</sup> week, it has a positive effect on recovery in the bone tunnel- tendon connection point.

**Key words:** Bone tunnel-tendon connection, tendon recovery, glucosamine chondroitin sulfate.

## 9. EKLER

### 9.1. Hayvan Etik Kurul Onayı



T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

08.01/2010

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ 5-448  
KONU:

Sayın

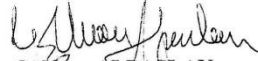
Prof.Dr.Sacit TURANLI  
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı  
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-10.003 kod numaralı ve “*Glukozamin (GlcN) ve Kondroitin Sülfatın (CS) Kemik Tünel İçerisine Yerleştirilmiş Otojen Tendon Greftinin Kemige Tutunmasına Etkisi*” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-10.003 and entitled “*The Effects of Glucosamin (GlcN) and Chondroitin Sulphate (CS) on Tendon-Bone Healing at Otogen Tendon Graft Transplantation*” is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

  
Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN  
Gazi Üniversitesi  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

## **10. KAYNAKLAR**

1. Laurencin CT, Gelberman RH. Overview of disease and treatment related to aging of tendons and ligaments. In: Buckwalter JA, Goldberg VM, Woo SLY (eds). *Musculoskeletal Soft-Tissue Aging: Impact on Mobility*. Rosemont, IL: American Academy Orthopaedic Surgeons Publishers, 1992.
2. Beynnon BD, Johnson RJ, Abate JA, Fleming BC, Nichols CE. Treatment of anterior cruciate ligament injuries. Part I. *Am J Sports Med* 2005;33: 1579–602.
3. Hoher J, Withrow J, Livesay G (1998) Early stress causes graft-tunnel motion in hamstring grafts. *Trans Orthop Res Soc* 23:44
4. Thomopoulos S, Williams GR, Gimbel JA, Favata M, Soslowsky LJ. Variation of biomechanical, structural, and compositional properties along the tendon to bone insertion site. *J Orthop Res*. 2003;21(3):413-9
5. Benjamin M, Evans EJ, Copp L. The histology of tendon attachments to bone in man. *J Anat*. 1986;149:89-100.
6. Scheffler SU, Unterhauser FN, Weiler A. Graft remodeling and ligamentization after cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008;16:834-842.
7. Ekdahl M, Wang JH, Ronga M, Fu FH. Graft healing in anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2008;16:935-947.
8. Ditsios K, Boyer MI, Kusano N, et al. 2003. Bone loss following tendon laceration, repair and passive mobilization. *J Orthop Res* 21:990–996.
9. Thomopoulos S, Williams GR, Soslowsky LJ. 2003. Tendon to bone healing: differences in biomechanical, structural, and compositional properties due to a range of activity levels. *J Biomech Eng* 125:106–113.

10. Silva MJ, Thomopoulos S, Kusano N, et al. 2006. Early healing of flexor tendon insertion site injuries: tunnel repair is mechanically and histologically inferior to surface repair in a canine model. *J Orthop Res* 24:990–1000.
11. Newsham-West R, Nicholson H, Walton M, Milburn P. Long-term morphology of a healing bone–tendon interface: a histological observation in the sheep model. *J Anat.* 2007 March; 210(3): 318–327.
12. Kim HJ. The Healing effect of bone morphogenetic protein with fibrin glue on an injury of the tendon-bone junction [dissertation]. Seoul: Korea University; 2006.
13. Wang CJ, Huang HY, Pai CH. Shock wave-enhanced neovascularization at the tendon-bone junction: an experiment in dogs. *J Foot Ankle Surg.* 2002;41(1):16-22.
14. Tomoyasu A, Higashio K, Kanomata K, et al. Platelet-rich plasma stimulates osteoblastic differentiation in the presence of BMPs. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;361(1):62-7.
15. Karaoglu S, Celik C, Korkusuz P. The effects of bone marrow or periosteum on tendon-to-bone tunnel healing in a rabbit model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2009 Feb;17(2):170-8.
16. Hanson RR, Smalley LR, Huff GK, White S, Hammad TA. Oral treatment with a glucosamine-chondroitin sulfate compound for degenerative joint disease in horses: 25 cases. *Equine Pract* 1997;19:16–20.
17. Lippiello L. Glucosamine and chondroitin sulfate: biological response modifiers of chondrocytes under simulated conditions of joint stress. *Osteoarthr Cartil* 2003;11:335–42.
18. Clegg DO, Reda DJ, Harris CL, Klein MA, O'Dell JR, Hooper MA, et al. Glucosamine, chondroitin sulfate and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *N Engl J Med* 2006;354:795–808.
19. Lippiello L. Collagen Synthesis in tenocytes, ligament cells and chondrocytes exposed to a combination of Glucosamine HCl and

- chondroitin sulfate. *Evid Based Complement Alternat Med* 2007;4:219-24.
20. Woo SLY, An KN, Arnoczky SP, Wayne JS, Fithian DC, Myers BS. Anatomy, biology and biomechanics of tendon, ligament and meniscus. In: Simon SR, editor. *Orthopaedic Basic Science*. 1994. pp. 45–88.
  21. Lin, T. W.; Cardenas, L.; Soslowsky, L. J., (2004). "Biomechanics of tendon injury and repair.". *Journal of Biomechanics* 37 (6): 865–877.
  22. Lieberman JR. (Ed). (2009). *AAOS Comprehensive Orthopaedic Review*.
  23. Jozsa, L., and Kannus, P., *Human Tendons: Anatomy, Physiology, and Pathology*. Human Kinetics: Champaign, IL, 1997.
  24. Scott, J. E. O., C. R.; Hughes, E. W., (1981). "Proteoglycan-collagen arrangements in developing rat tail tendon. An electron microscopical and biochemical investigation". *Biochemical Journal* 195 (3): 573–581.
  25. Young, Michael. "A Review on Postural Realignment and its Muscular and Neural Components".
  26. Mark D. Miller, MD. *Review of Orthopaedics*. 2004.
  27. Hulmes, D. J. S., (2002). "Building Collagen Molecules, Fibrils, and Suprafibrillar Structures". *Journal of Structural Biology* 137 (1–2): 2–10.
  28. Silver, F. H.; Freeman, J. W.; Seehra, G. P., (2003). "Collagen self-assembly and the development of tendon mechanical properties". *Journal of Biomechanics* 36 (10): 1529–1553
  29. Sharma, P.; Maffulli, N., (2005). "Tendon injury and tendinopathy: Healing and repair". *Journal of Bone and Joint Surgery-American* Volume 87A (1): 187–202.
  30. S. Terry Canale, James H. Beaty (Ed). (2007). *Campbell's Operative Orthopaedics*, 11th Edition
  31. Dodge GR, Jimenez SA (June 2003). "Glucosamine sulfate modulates the levels of aggrecan and matrix metalloproteinase-3 synthesized by

- cultured human osteoarthritis articular chondrocytes". *Osteoarthritis and Cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 11 (6): 424–32.
32. Chan PS, Caron JP, Orth MW (November 2005). "Effect of glucosamine and chondroitin sulfate on regulation of gene expression of proteolytic enzymes and their inhibitors in interleukin-1-challenged bovine articular cartilage explants". *American Journal of Veterinary Research* 66 (11): 1870–6.
  33. Baeurle SA, Kiselev MG, Makarova ES, Nogovitsin EA (2009). "Effect of the counterion behavior on the frictional–compressive properties of chondroitin sulfate solutions". *Polymer* 50 (7): 1805–1813.
  34. Reichenbach S, Sterchi R, Scherer M, Trelle S, Bürgi E, Bürgi U et al. (2007). "Meta-analysis: chondroitin for osteoarthritis of the knee or hip.". *Ann Intern Med* 146 (8): 580–90.
  35. Bruyere O, Reginster JY (2007). "Glucosamine and chondroitin sulfate as therapeutic agents for knee and hip osteoarthritis.". *Drugs Aging* 24 (7): 573–80.
  36. Wandel S, Jüni P, Tendam B, Nüesch E, Villiger PM, Welton NJ, Trelle S (2010). Effects of glucosamine, chondroitin, or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: network meta-analysis. *British Medical Journal* Vol. 341 Issue 7775, p711
  37. Anderson JW, Nicolosi RJ, Borzelleca JF. Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy. *Food Chem Toxicol.* 2005 Feb;43(2):187-201. Review.
  38. Yamakado K, Kitaoka K, Yamada H, Hashiba K, Nakamura R, Tomita K. The influence of mechanical stress on graft healing in a bone tunnel. *Arthroscopy.* 2002 Jan;18(1):82-90.
  39. Goradia VK, Rochat MC, Grana WA, Rohrer MD, Prasad HS (2000) Tendon- to-bone healing of a semitendinosus tendon autograft used for ACL reconstruction in a sheep model. *Am J Knee Surg* 13:143–151

40. Grana WA, Egle DM, Mahnken R, Goodhart CW (1994) An analysis of autograft fixation after anterior cruciate ligament reconstruction in a rabbit model. *Am J Sports Med* 22:344–351
41. Griffin LY, Agel J, Albohm MJ Noncontact anterior cruciate ligament injuries: risk factors and prevention strategies. *J Am Acad Orthop Surg*. 2000 May-Jun;8(3):141-50.
42. Prodromos CC. (Ed). *The Anterior Cruciate Ligament Reconstruction and Basic Science*.
43. Pinczewski LA, Clingeleffer AJ, Otto DD, Bonar SF, Corry IS. Integration of hamstring tendon graft with bone in reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Arthroscopy*. 1997 Oct;13(5):641-3.
44. Petersen W, Laprell H. Insertion of autologous tendon grafts to the bone: a histological and immunohistochemical study of hamstring and patellar tendon grafts. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2000;8(1):26-31.
45. Ishibashi Y, Toh S, Okamura Y, Sasaki T, Kusumi T. Graft incorporation within the tibial bone tunnel after anterior cruciate ligament reconstruction with bone-patellar tendon-bone autograft. *Am J Sports Med*. 2001 Jul-Aug;29(4):473-9.
46. Nebelung W, Becker R, Urbach D, Röpke M, Roessner A. Histological findings of tendon-bone healing following anterior cruciate ligament reconstruction with hamstring grafts. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2003 May;123(4):158-63. Epub 2003 Mar 7.
47. Robert H, Es-Sayeh J, Heymann D, Passuti N, Eloit S, Vaneenoge E. Hamstring insertion site healing after anterior cruciate ligament reconstruction in patients with symptomatic hardware or repeat rupture: a histologic study in 12 patients. *Arthroscopy*. 2003 Nov;19(9):948-54.
48. Rodeo SA, Suzuki K, Deng XH, Wozney J, Warren RF (1999) Use of recombinant human bone morphogenic protein-2 to enhance tendon healing in a bone tunnel. *Am J Sports Med* 27: 476–488

49. Benjamin M, Ralphs JR (1997) Tendons and ligaments – an overview. *Histol Histopathol* 12, 1135–1144.
50. St. Pierre P, Olson EJ, Elliott JJ, O'Hairs KC, McKinney LA, Ryan J (1995). Tendon-healing to cortical bone compared with healing to a cancellous trough. A biomechanical and histological evaluation in goats. *J Bone Joint Surg* 77-A, 1858–1866.
51. Rodeo SA, Arnoschky SP, Torzilli PA, Hidaka C, Warren RF (1993) Tendon healing in a bone tunnel. *J Bone Joint Surg* 75-A, 1795–1803.
52. Liu SH, Panossian V, al-Shaikh R, et al. Morphology and matrix composition during early tendon to bone healing. *Clin Orthop Relat Res* 1997;253-260.
53. Uhthoff HK, Sano H, Trudel G, Ishii H (2000) Early reactions after reimplantation of the tendon of supraspinatus into bone. *J Bone Joint Surg* 82-B, 1072–1076.
54. Blickenstaff KR, Grana WA, Egle D (1997) Analysis of a semitendinous autograft in a rabbit model. *Am J Sports Med* 25, 554–559.
55. Jones JR, Smibert JG, McCullough CJ, Price AB, Hutton WC (1987) Tendon implantation into bone: An experimental study. *J Hand Surgery* 12-B, 306–312.
56. Chen CH, Chen WJ, Shih CH, Yang CY, Liu SJ, Lin PY. Enveloping the tendon graft with periosteum to enhance tendon-bone healing in a bone tunnel: A biomechanical and histologic study in rabbits. *Arthroscopy*. 2003 Mar;19(3):290-6
57. Tsukada H, Ishibashi Y, Tsuda E, Kusumi T, Kohno T, Toh S. The actual tendon-bone interface strength in a rabbit model. *Arthroscopy*. 2010 Mar;26(3):366-74.
58. Kyung Hs, Kim Sy, Oh Cw, Kim Sj. Tendon-To-Bone Tunnel Healing in A Rabbit Model: The Effect Of Periosteum Augmentation At The tendon-To-Bone Interface. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2003 Jan;11(1):9-15

59. Kim HJ, Nam HW, Hur CY, Park M, Yang HS, Kim BS, Park JH. The effect of platelet rich plasma from bone marrow aspirate with added bone morphogenetic protein-2 on the Achilles tendon-bone junction in rabbits. *Clin Orthop Surg.* 2011 Dec;3(4):325-31
60. Thomopoulos S, Kim HM, Silva MJ, Ntouveli E, Manning CN, Potter R, Seeherman H, Gelberman RH. Effect of bone morphogenetic protein 2 on tendon to bone healing in a canine flexor tendon model. *J Orthop Res.* 2012 May 22.
61. Sun L, Zhou X, Wu B, Tian M. Inhibitory effect of synovial fluid on tendon-to-bone healing: an experimental study in rabbits. *Arthroscopy.* 2012 May 17
62. Reginster JY, Deroisy R, Rovati LC, Lee RL, Lejeune E, Bruyere O, et al. Long-term effects of glucosamine sulphate on osteoarthritis progression: a randomised, placebocontrolled clinical trial. *Lancet* 2001;357:251-6.
63. O'Grady C, Grande D, Marwin SE. Chondroprotection and gene expression effects of nutritional supplements on articular cartilage. *Osteoarthr Cartil* 2000;8(Suppl B):S34-5.
64. Jang BC, Sung SH, Park JG, Park JW, Bae JH, Shin DH, et al. Glucosamine hydrochloride specifically inhibits COX-2 by preventing COX-2 N-glycosylation and by increasing COX-2 protein turnover in a proteasome-dependent manner. *J Biol Chem* 2007;282:27622-32
65. Ozer H, Taşkesen A, Kul O, Selek HY, Turanlı S, Köse K. Effect of glucosamine chondroitine sulphate on repaired tenotomized rat Achilles tendons. *Eklem Hastalik Cerrahisi.* 2011 Aug;22(2):100-6.
66. Scroggie DA, Albright A, Harris MD. The effect of glucosamine-chondroitin supplementation on glycosylated hemoglobin levels in patients with type 2 diabetes mellitus: a placebo-controlled, double-blinded, randomized clinical trial. *Arch Intern Med.* 2003 Jul 14;163(13):1587-90.

67. Muniyappa R, Karne RJ, Hall G, Crandon SK, Bronstein JA, Ver MR, Hortin GL, Quon MJ. Oral glucosamine for 6 weeks at standard doses does not cause or worsen insulin resistance or endothelial dysfunction in lean or obese subjects. Diabetes. 2006 Nov;55(11):3142-50.
68. Park J, Kwon H, Kang Y, Kim Y. Proteomic analysis of O-GlcNAc modifications derived from streptozotocin and glucosamine induced beta-cell apoptosis. J Biochem Mol Biol. 2007 Nov 30;40(6):1058-68.

### 10.1. ŞEKİL KAYNAKLARI

Şekil 1.

<http://www.art.com/products/p360896634-sa-i4010620/ralph-hutchings-longitudinal-section-of-a-human-tendon-showing-the-parallel-bundles-of-collagen-fibers.htm>

Şekil 2.

[http://www.sudamedica.com/gallery/image\\_page.php?album\\_id=10&image\\_id=265](http://www.sudamedica.com/gallery/image_page.php?album_id=10&image_id=265)

Şekil 3.

Brinker M.R., and Miller, M.D. : Fundamentals of Orthopaedics. Philadelphia, WB Saunders, 1999, p.15

Şekil 4.

<http://www.aidmyachilles.com/achilles-tendonitis-injury/achilles-tendon-anatomy-function.php>

Şekil 5.

<http://en.wikipedia.org/wiki/File:Gray938.png>

Şekil 6.

<http://www.cambridgemedicine.org/news/1322555606>

Şekil 7 ve 8.

Newsham-West R, Nicholson H, Walton M, Milburn P. Long-term morphology of a healing bone–tendon interface: a histological observation in the sheep model. J Anat. 2007 March; 210(3): 318–327.

Şekil 9.

<http://ajpregu.physiology.org/content/286/5/R952/F5.expansion.html>

Şekil 10.

Lieberman JR. (Ed). (2009). AAOS Comprehensive Orthopaedic Review.

Şekil 11.

<http://www.aafp.org/afp/2005/0901/p811.html>

Şekil 12.

<http://cr4.globalspec.com/blogentry/8222/The-Chemistry-of-DNA-Part-3>