

**T.C.**  
**RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**PARSİYEL AŞİL TENDON HASARI OLUŞTURULAN RATLARDA  
AMNİYON ZARI KULLANILARAK YAPILAN TAMİRİN KLİNİK VE  
HİSTOLOJİK İNCELENMESİ**

**DR. NURETTİN MANTI**

**TEZ DANIŞMANI**

**YRD. DOÇ. DR. YILMAZ GÜVERCİN**

**UZMANLIK TEZİ**

**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RİZE – 2017**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan hocalarımdan, başta tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Yılmaz GÜVERCİN, klinik sorumlumuz Yrd. Doç. Dr. Mehmet Sabri BALIK, kısa bir süre de olsa beraber çalışma fırsatı bulduğum Prof. Dr. Davut KESKİN hocalarıma katkılarından ve varlıklarından dolayı teşekkür ederim. Kliniğimizde uzman olarak çalışan Dr. Altuğ YÜCEKUL ve DR. Ahmet Atilla ABDİOĞLU'na ayrıca teşekkür ederim.

İhtisas eğitimim boyunca beraber çalıştığımız asistan arkadaşlara; Dr. Volkan GÜNEŞ, Dr. Davut YILDIZ, Dr. Rıfat ŐAHİN, Dr. Sinan GÖRMEZ, Dr. İsmail Vehbi İMAMOĞLU, Dr. Őemsettin Can ASAR' a teşekkür ederim.

Tezin histolojik inceleme kısmında desteklerini esirgemeyen Histoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Levent TŪMKAYA başta olmak üzere; histolojik incelemeleri yapan Yrd. Doç. Dr. Tolga MERCANTEPE'ye preparatların hazırlanmasında ve muhafazasında yardım eden Dr. Zehra Suzan TOPAL'a teşekkür ederim.

Tezin deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Deney Hayvanları Bakım Merkezinden Serdar DİNÇER'e, yazım aşamasında teknik konularda yardım eden Halil İbrahim ALBAŐ'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Son olarak, desteğini her zaman arkamda hissettiğim aileme; sevgili eşim Arzu 'ya, moral kaynağım oğlum Alperen'e manevi desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

**Dr. Nurettin MANTI**

## TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan ‘‘Parsiyel aşıl tendon hasarı oluşturulan ratlarda amniyon zarı kullanılarak yapılan tamirin klinik ve histolojik incelenmesi’’ başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 17/04/2017

**Nurettin MANTI**

**Uyarı:** *Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.*

## ÖZET

### **Parsiyel aşil tendon hasarı oluşturulan ratlarda amniyon zarı kullanılarak yapılan tamirin klinik ve histolojik incelenmesi**

**Nurettin MANTI**

**Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi**

**Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı - Uzmanlık Tezi**

**Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yılmaz GÜVERCİN**

İnsan vücudunun en güçlü tendonlarından olan aşil tendonu, spor yapan özellikle orta yaş üstü popülasyonda sık bir yaralanır. Tendon onarımları sonrası adezyon gelişimi ortopedik cerrahlar için sorun olmaya devam etmektedir. Diğer yumuşak dokular ve tendonlarla karşılaştırıldığında, aşil tendon iyileşme süreci uzundur, bu durum muhtemelen kanlanmasındaki zayıflığa bağlı sitokin ve büyüme faktörlerinin iyileşme sürecini etkilemesindedir. İdeal tedavi yaklaşımı ve aşil tendon iyileşmesi üzerinde tartışmalar devam etmektedir. Bu çalışmamızda insan kaynaklı amniyotik membranın tendon iyileşmesinde adezyon, anjiogenez ve inflamatuvar süreç üzerine etkileri araştırılmıştır. Amniyon zarının anjiogenez ve inflamasyona etkisi VGF, MMP-2 ve MMP-9 IHC kitleri kullanılarak, adezyon üzerine etkisi ise Tang ve ark. yaptığı sınıflamayla histolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamız, 35 adet rat üzerinde 5 farklı grupta yapıldı ve her ratın sol alt ekstremitesi kullanıldı (n: 7). Kontrol grubuna hiçbir işlem uygulanmadı, diğer gruplara aşil tendonun yarısına parsiyel kesi uygulandıktan sonra sırasıyla primer tamir (grup 1), sutur atılmaksızın amniyon zarı uygulanması (grup 2), primer tamirle beraber amniyon zarı uygulanması (grup 3), ve tamir uygulanmadan sekonder iyileşmeye bırakma (grup 4) uygulandı. 60 gün iyileşme süreci sonunda 35 adet ratın aşil tendonları histolojik değerlendirmeye alındı. Histolojik ve istatistiksel değerlendirme sonucunda; amniyotik membranın tendon iyileşmesinde kullanılmasının adezyon gelişimini azalttığı, kollajen diziliminde pozitif yönde etkili olduğu, antienflematuvar etkilerinin bulunduğu görülmüştür. Ek olarak VGF değerlendirilmesinde, amniyotik membran kullanılarak tamir edilen grupların birbirleri arasında fark çıkmazken, amniyotik membran kullanılarak tamir edilen gruplarla kontrol grubuna kıyasla VGF pozitivitesinde artış görülmüştür. Sonuç olarak; doku üzerinde amniyotik membranın biyolojik davranışını değiştirebileceğini ve yüzeye bağlı anjiyogenezi indükleyebileceği, iskemi inflamasyon gibi durumlarda kullanımında genel kanının aksine anjiogenetik etki gösterebileceğini düşündürmüştür, ancak bu konuda karar verebilmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

**2017, 68 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Amniyon zarı, Tendon iyileşmesi, Anjiogenez, VGF, MMP-2, MMP-9

## **ABSTRACT**

Clinical and histological examination of the repair made by using amniotic membrane at the partial achilles tendon injury in rats

Nurettin MANTI

**Recep Tayyip Erdoğan University Medical Scholl**

**Department of Orthopedics and Traumatology – Master’s Thesis**

**Supervisor: Asst. Prof. Yılmaz GÜVERCİN**

The Achilles tendon, one of the most powerful tendons of the human body, is frequently injured in sports, especially in middle age populations. Adhesion development after tendon repair still continues to be a problem for orthopedic surgeons. When compared to other soft tissues and tendons, the Achilles tendon healing process is prolonged, which probably due to the weakness of the blood supply and the cytokines and growth factors that influence the healing process. Discussions continues about the ideal treatment approach and the recovery of achilles tendon. In this study, we investigated the effects of the human amniotic membrane on adhesion, angiogenesis and inflammatory process in tendon healing. Effects of amniotic membrane on angiogenesis and inflammation were evaluated via MMP-2 and MMP-9 IHC kits and effects on adhesion were estimated histologically by using classification of Tang at all. Our study was performed in 5 different groups on 35 rats and the left lower extremity of each rats was used (n: 7). In the control group ( group 5), there wasn't any intervention. In the other groups after partial achilles cut in the group 1 primary repair applied, in the group 2 amnion membran without suture, in the group 3 amnion membrane application with primary repair was done and in the group 4 without any treathment secondary healing observed. At the end of the 60 day recovery period, 35 rats' Achilles tendons were histologically evaluated. As a result of histological and statistical evaluation; it was seen that amniotic membrane decreases development of adhesion, positivelly effects collagen sequence and has antiinflamatory effects in tendon healing. In addition VGF positivities were increased in the amnioticmembrane repair groups when compared to control group but there wans't any difference among amniotic membrane repair groups. As a result we suggest that the amniotic membrane on the tissue can change the biological behavior, may induce surface-bound angiogenesis and quite the contary induce angiogenetic effects in the ischemia and inflammation but to make a conclusion about this issue we need more researchs on this topic.

**2017, 68 pages**

**Keywords:** Amniotic membrane, Tendon healing, Anjiogenesis, VGF, MMP-2, MMP-9

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ .....	II
ÖZET .....	III
ABSTRACT .....	IV
İÇİNDEKİLER .....	V
RESİMLER DİZİNİ .....	VII
TABLolar DİZİNİ .....	X
KISALTMALAR DİZİNİ .....	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Aşil Tendon .....	3
2.1.1. Aşil Tendon Histolojisi .....	3
2.1.2. Aşil Tendon Anatomisi .....	9
2.1.3. Aşil Tendon Kanlanması .....	17
2.1.4. Tendon Yaralanma Fizyolojisi .....	21
2.1.5. Tendon İyileşmesi .....	24
2.2. Amniyon Zarı .....	30
2.2.1. Amniyon Zarı Özellikleri .....	30
2.2.2. Amniyon Zarı Cerrahide Kullanımı .....	33
2.2.3. Amniyon Zarının Hazırlanması .....	35
3. MATERYAL VE METOD .....	36
3.1. Amniyon Zarının Hazırlanması .....	36
3.2. Denekler – Anestezi ve Cerrahi İşlem .....	37

3.3.	Histopatolojik İnceleme .....	42
3.3.1.	Histolojik Takip Prosedürü .....	42
3.3.2.	Semi – Kantitatif Analiz .....	43
3.3.3.	İmmünohistokimya (IHC) Analiz Prosedürü .....	44
3.4.	İstatistiksel İnceleme .....	44
4.	BULGULAR .....	45
4.1.	Histopatolojik Bulgular .....	46
4.2.	İmmünohistokimyasal (IHC) Bulgular .....	49
4.3.	Adezyon Skoruna Ait İstatistiksel Analiz .....	59
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ .....	60
6.	KAYNAKLAR .....	64

## RESİMLER DİZİNİ

Resim 1:	Kollajen fibriller ve tendon yapısı .....	3
Resim 2:	Düzenli yapıdaki kollajen fibrilleri (ok). Normal yapıdaki tendosit çekirdek yapısı (ok başı). X400 .....	4
Resim 3:	Tendon afferent sinir lifleri .....	9
Resim 4:	M. triceps surae ve aşıl tendonu .....	10
Resim 5:	Aksesuar soleus kasının şematik görünümü .....	11
Resim 6:	M. plantarisin calcaneusta sonlanma yerleri .....	13
Resim 7:	M. gastrocnemius ve m. soleusun aşıl tendonu olarak tuber calcaneide sonlanması .....	14
Resim 8:	Ayak bileğinin vertikal kesiti ve aşıl tendonunun calcaneusta sonlanması ...	15
Resim 9:	Retrocalcaneal bursanın MRG görüntüleri (ok) .....	16
Resim 10:	MRG kesitinde kager yağ yastığı .....	17
Resim 11:	Ekstresek ve intrinsek vasküler yapıyı gösteren şematik çizim .....	18
Resim 12:	Kollajen fibrilden itibaren tendonun oluşmasını ve tendonu çevreleyen zarları gösteren şematik çizim .....	19
Resim 13:	Rete arteriosum calcaneare .....	20
Resim 14:	Aşıl tendon kanlanmasının anjiyografik görüntüsü ve anjiyografide hipovasküler bölge .....	21
Resim 15:	Stres – Strain eğrisi .....	22
Resim 16:	Ekstresek ve intrinsek iyileşme modelleri gösteren şematik çizim .....	26
Resim 17:	Amniyotik membranın tabakalarını gösteren şematik çizim .....	30
Resim 18:	Cerrahi işlemler sırasında kullandığımız taze amniyotik membran .....	36
Resim 19:	Çalışmada kullanılan ratların alıştırma sürecinde kafeslerinde görünümü .....	37
Resim 20:	Cerrahi öncesi traş .....	39
Resim 21:	Cerrahi öncesi insizyon hattının belirlenmesi .....	39
Resim 22:	Cerrahi öncesi antisepsi .....	39
Resim 23:	Cilt insizyonu sonrası tendonun açığa çıkarılması .....	40
Resim 24:	Plantar ve aşıl tendonun ayrılması .....	40
Resim 25:	Primer tendon tamiri yapılmış gruba örnek .....	40
Resim 26:	Amniyon zarıyla tamir yapılmış gruplara örnek .....	41
Resim 27:	Cerrahi sonunda cilt insizyonu .....	41



Resim 28: Dekapitasyon sonrası cildin sıyrılması .....	42
Resim 29: Dekapitasyonu takiben çıkarılmış aşil tendonu .....	42
Resim 30: Kontrol grubuna (grup 5) ait tendon dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü .....	46
Resim 31: Parsiyel kesi + Primer tamir grubuna (grup 1) ait tendon dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü .....	47
Resim 32: Parsiyel kesi + amniyon zarıyla tedavi grubuna (grup 2) ait tendon dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü .....	47
Resim 33: Parsiyel kesi + primer tamir + amniyon zarıyla tedavi grubuna (grup 3) ait tendon dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü .....	48
Resim 34: Parsiyel kesi + sekonder iyileşme (grup 4) grubuna ait tendon dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü .....	49
Resim 35: Parsiyel tendon hasarı ve amniyon zarı uygulamasının histolojik görüntüsü .....	50
Resim 36: Kontrol grubu (grup 5) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (MMP-2) .....	51
Resim 37: Parsiyel kesi + primer tamir grubu (grup 1) yoğun MMP-2 pozitivitesi gösteren tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü .....	51
Resim 38: Parsiyel kesi + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 2) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (MMP-2) .....	51
Resim 39: Parsiyel kesi + primer tamir + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 3) yoğun MMP-2 pozitivitesi gösteren tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü .....	52
Resim 40: Parsiyel kesi + sekonder iyileşme grubu (grup 4) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (MMP-2) .....	52
Resim 41: Kontrol grubu (grup 5) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (MMP-9) .....	54
Resim 42: Parsiyel kesi + primer tamir grubu (grup 1) yoğun MMP-9 pozitivitesi gösteren tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü .....	54
Resim 43: Parsiyel kesi + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 2) orta yoğunlukta MMP-9 aktivasyonu gösteren tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü .....	55

Resim 44: Parsiyel kesi + primer tamir + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 3) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (MMP-9) .....	55
Resim 45: Parsiyel kesi + sekonder iyileşme grubu (grup 4) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (MMP-9) .....	55
Resim 46: Kontrol grubu (grup 5) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (VGF) .....	57
Resim 47: Parsiyel kesi + primer tamir grubu (grup 1) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (VGF) .....	57
Resim 48: Parsiyel kesi + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 2) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (VGF) .....	57
Resim 49: Parsiyel kesi + primer tamir + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 3) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (VGF) .....	58
Resim 50: Parsiyel kesi + sekonder iyileşme grubu (grup 4) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü (VGF) .....	58
Resim 51: Adezyon skoru verilerine ait box-blot grafiği .....	60

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1: Bacağın arka yüzeyel kompartman kasları .....	10
Tablo 2: Tendon iyileşmesini etkileyen ve üzerinde çalışılmış faktörler .....	28
Tablo 3: Aşıl tendon iyileşmesi üzerine intrensek ve ekstrensek faktörler .....	29
Tablo 4: Ortopedi dışı branşlarda amniyon zarı kullanım alanları .....	34
Tablo 5: Denek grupları .....	38
Tablo 6: Adhezyon skorlaması tablosu .....	43,45
Tablo 7: MMP-2 İHC Skorlama Analiz Sonuçları (Median±Standart Sapma) .....	49
Tablo 8: MMP-9 İHC Skorlama Analiz Sonuçları (Median±Standart Sapma) .....	53
Tablo 9: VGF İHC Skorlama Analiz Sonuçları (Median±Standart Sapma) .....	56
Tablo 10: Adhezyon Skorlama Analiz Sonuçları (Median±Standart Sapma) .....	59

## KISALTMALAR DİZİNİ

AT :	Aşıl tendon
AM :	Amniyotik membran / amniyon zarı
ECM :	Ekstrasellüler matriks
m. :	musculus
n. :	nervus
lig. :	ligamentum
MRG:	Manyetik rezonans görüntüleme
cm. :	santimetre
mm. :	milimetre
USG :	ultrason
a.:	arteria
bFGF :	Basic fibroblast growth factor
PRGF:	Plasma rich in growth factors
BMP :	Bone morphogenic protein
NO :	Nitrik oksit
DMAH:	Düşük molekül ağırlıklı heparin
TGF-b :	Transforming growth factor-b
EGF :	Epidermal growth factor
TGF-a :	Transforming growth factor-a
NGF :	Nerve growth factor
BDNF :	Brain-derived neurotrophic factor
AEC :	Amniyotik epitel hücresi
AMSC :	Amniyotik mezenkimal stromal hücresi
TIMP :	Tissue inhibitors of metalloproteinases
HTLV :	Human T-cell lymphotropic virus
DMSO:	Dimetil sülfoksit
H&E :	Hemotoksilen ve eosin
PBS :	Phosphate Buffered Saline

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde tendon yaralanmaları ortopedi günlük pratiğinde sık görülen yaralanmalardır. Kazalar, afetler, savaşlar, kavgalar ve bilinçsiz spor faaliyetleri sonrası sonucu tendonlar yaralanabilir. Ülkemizde her ne kadar istatistiksel değerlendirme tam olarak yapılamasada iş kazaları, spor yaralanmaları, keskin cisimle oluşan yaralanmalar tendon yaralanmalarının sık nedenlerindedir. Yaralanmalar hastaların aktivite düzeylerini azaltmakta, sosyal ve ekonomik yönden ciddi kayıplar ortaya çıkarmaktadır.

Aşil (Grekçe; Achilleus), eski Yunan şairlerinden Homeros'un, Truva Savaşı'nı anlatan İlyada destanında bahsettiği yarı tanrı bir karakterdir ve insan vücudunun en kalın ve sağlam tendonuna isim kaynağı olmuştur. Aşilin yalnızca sol topuğundan vurulursa öleceğine inanılmaktadır. Bu yüzden ayak topuğunda yer alan tendona "Aşil tendonu" adı verilir [1]. Aşil tendon rüptürleri Hipokrattan beri bilinmesine rağmen günümüzde tedavi konusunda tartışmalar hala devam etmektedir. Geçmişte immobilizasyon yöntemleriyle tedavi edilen Aşil tendon yaralanmalarında 1959 yılında Arner ve Lindholm'un katkılarıyla cerrahi tedavi standart tedavi yöntemi olarak kullanılmaya başlanmıştır [2, 3].

Aşil tendon rüptürleri orta yaş ve üstü (25 -40 yaş arası) özellikle spor yapan erkeklerde daha sık görülmektedir [4]. Aşil tendon rüptürü insidansı tüm populasyonda 18/100.000 olarak belirtilmiştir [5]. Erkeklerde daha sık görülmesine rağmen atletler üzerinde yapılan çalışmalarda; bayan atletlerde erkek atletlere oranla cerrahi ihtiyacının ve aşil tendon yaralanmasının daha sık görüldüğü bildirilmiştir [6].

Ayak bileği eklemi posteriorunda bulunan aşil tendonu, insan yürüyüşünün en önemli biyomekanik yapılarından birisidir. İnsan vücudunun en kalın tendonu olsa da, boyutları ve işlevsel gereksinimleri nedeniyle hem akut hem de kronik yaralanmalara yatkındır. Ülkemizde orta yaş ve genç nüfusun yoğun olması yanında bilinçsiz spor faaliyetleri kronik dejenerasyon zemininde tendonun yaralanma riskini artırmaktadır. Tekrarlayan mikrotravmalar ve tendonun belli alanlarındaki hipovaskülaritesi predispozan faktörlerdir. Mikrotravma hipotezi histolojik [7] ve anjiyografik [8] olarak desteklenmiştir.

Konservatif tedavi; hastaya hiçbir tedavi uygulanmamasından, alçı içinde immobilizasyona veya erken hareketin başlandığı fonksiyonel rehabilitasyona kadar uzanan bir yelpazeyi içerir.

Literatürdeki cerrahi tekniklerin çoğu tendonların uç uca dikilerek tamiri esasına dayanır ve birçok farklı konfigürasyonla tanımlanmış ve karşılaştırılmıştır [9-11]. Tedavi konsepti için konservatif ve cerrahi tedavi seçenekleri avantaj ve dezavantajları bir arada düşünülmesi gerekir. Yapılan çalışmalarda; cerrahi tedavi rerüptür riskini belirgin oranda azaltsa da postoperatif komplikasyonları mevcuttur buna karşılık konservatif tedavilerde düşük komplikasyon oranlarına sahiptir ancak rerüptür olasılığı yüksektir [5, 12].

Diğer yumuşak dokular ve tendonlarla karşılaştırıldığında, aşıl tendon iyileşme süreci uzundur, bu durum muhtemelen kanlanmasındaki zayıflığa bağlı sitokin ve büyüme faktörlerinin iyileşme sürecini etkilemesindedir [13]. Doğal doku rejenerasyonunda tendon iyileşme sürecinde skar dokusu oluşumu rerüptürler ve adezyon oluşumu gibi komplikasyonlar mevcuttur.

Mevcut bilgiler ışığında aşıl tendon rüptüründe tedavi için en ideal yöntem hastanın beklentilerine göre ve risklerine göre karar verilerek yapılmalıdır. Her ne kadar konservatif tedavi ve cerrahi tedavi sonuçları benzer olsa da erken aktif mobilizasyona izin vermesi, rehabilitasyona erken başlanabilmesi gibi avantajları nedeniyle cerrahi tedavi genç aktif bireylerde tercih sebebidir.

Amniyotik membran tıbbi pratikte kolay ulaşılması, ucuz olması, immun reaksiyon göstermemesi [14] kolay hazırlanması, dondurularak ve taze olarak kullanım kolaylığı gibi avantajlarıyla kullanım alanı bulmuş ve üzerinde araştırmalar devam eden biyolojik bir örtüdür [15-19]. Amniyotik membran, özellikle travmatik yaraların rekonstrüksiyonu ve cilt naklinde [19] oküler, vestibular, abdominal defekt cerrahisinde, üretral cerrahide uygulama alanı bulmuştur.

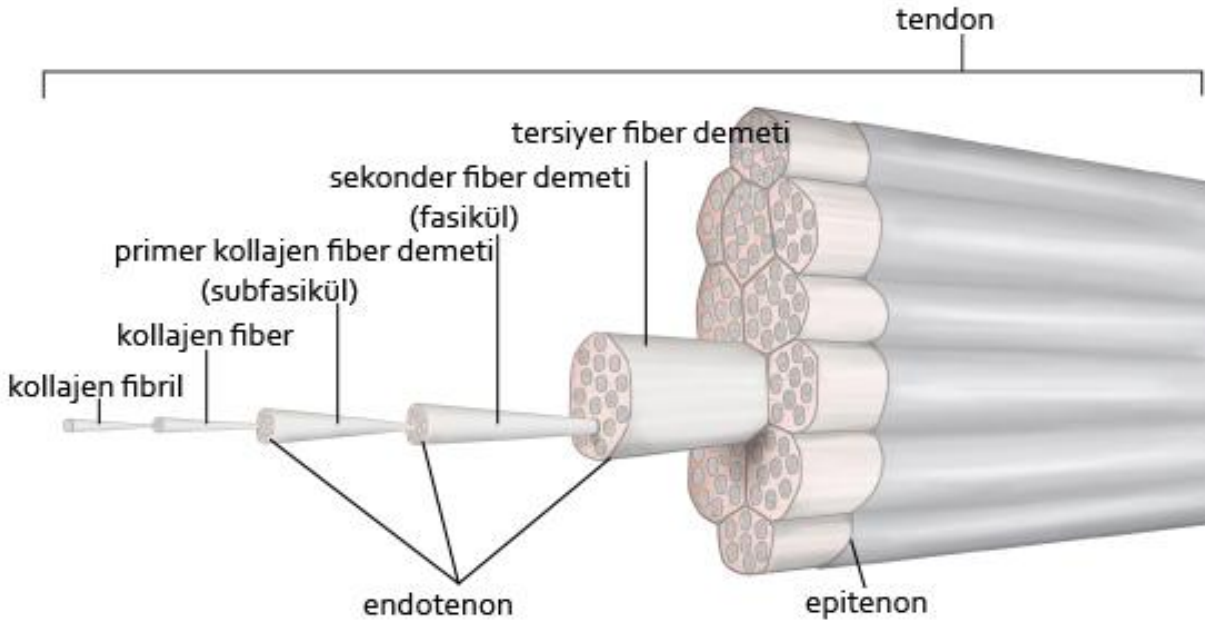
Amniyotik membran üzerinde araştırmalar yapılan biyolojik bir örtüdür. Bu çalışma aşıl tendon rüptürünün en sık görüldüğü avasküler bölge üzerinde amniyotik membranın tendon iyileşmesine etkisinin; histopatolojik olarak tendon iyileşmesi adezyon oluşumu ve vaskülaritesi üzerindeki etkisini araştırmayı amaçlayan deneysel bir tez çalışmasıdır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Aşil Tendon

#### 2.1.1. Aşil Tendon Histolojisi

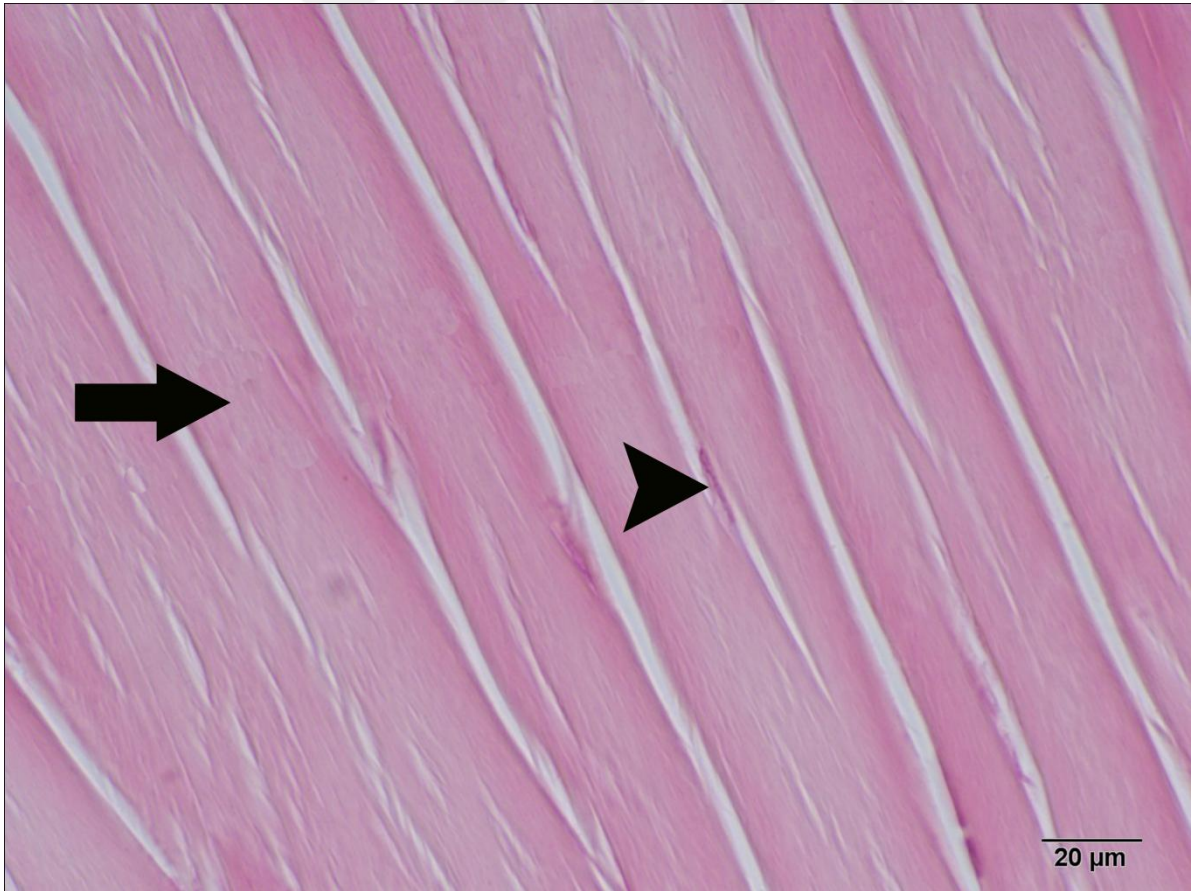
Kas kontraksiyonu sonucu oluşan kuvveti kemiğe aktaran tendon, su ve proteoglikanlar açısından zengin, hücreler açısından ise fakir bir yapı olan ekstrasellüler matriks (ECM) içine gömülmüş paralel kollajen fibrillerden meydana gelen seyrek damarlanmış yapılardır. Tendonun kuru ağırlığının %65 ilâ %80 kadarını kollajen [20, 21], yaklaşık %1-2 kadarını da elastin [20, 21] oluşturur. Tendonun yapısında yer alan kollajenin %95' i Tip I kollajendir [22, 23]. Tip I kollajen sayesinde tendon kendi boyutunun % 4'ü kadar esneyip uzayabilir. Ancak % 8'inden fazla gerilecek olursa bu yükü taşıyamaz ve kopabilir [24]. Elastinin %200' lere varan gerilme kuvvetlerine maruz kalabilme ve bu kuvvetler ortadan kalktığında orjinal haline geri dönebilme yeteneği vardır ancak elastin tendon yapısında yüksek oranda bulunacak olsaydı tendonun kemiğe iletebileceği kuvvetin büyüklüğünü azalacaktı [25].



Resim 1: Kollajen fibriller ve tendon yapısı

Tendon dejenerasyon olduğuça tip III kollajen daha baskın hale gelir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte tip I kollajen doğal olarak azalır ve tendonun çapı ile radyografik yoğunluğu da düşer. Tip I kollajenin azalması, tendonun elastikiyetinin azalması ve rüptüre daha yatkın olması anlamına gelmektedir. Hasar sonrası yeniden sentezlenen kollajen, tip III'dür ve tip I kadar esnek değildir [25].

Sağlıklı aşil tendonu, iyi organize olmuş bir hücresel düzenlemeye sahiptir, aynı organizasyon dejenerasyon tendonda görülmez. Tenoblastlar ve tenositler (ince uzun özelleşmiş fibroblastlar) baskın hücrelerdir. ECM proteinlerini üreten ve transvers kesitlerde satellit hücreler olarak gözlenen tenositler, longitudinal kesitlerde diziler şeklinde düzenlenir ve iğ biçimli hücre gövdeleri kollajen fiber demetleri arasında sıralar halinde düzenlenirler. Bu düzenleme, kollajenin tenosit kolonları çevresinde düzenli sentrifugal sekresyonuna bağlıdır. Tenositler, ECM nin hem fibriller, hem de nonfibriller komponentlerini üretir ve aynı zamanda kollajen liflerini absorbe eder [25].



Resim 2: Düzenli yapıdaki kollajen fibrilleri (ok). Normal yapıdaki tendosit çekirdek yapısı (ok başı). X400.



Fibrositler inaktif hücrelerdir. Fibroblastlar, fibrositlerin aktif şeklidir. Fibroblast bir kollajen öncüsü olan prokollajeni salgılar, prokollajen de hücre dışında tip I kollajen oluşumunda rol alır. Fibroblastlar bu özellikleri ile tamirci hücreler olarak görev yaparlar. Yara bölgesinde toplanarak intraselüler maddeler salgırlar ve skar dokusunu oluştururlar. Kollajen lifleri ve fibrositler arasında kalan dar aralıklar yapışkan özelliği olan şekilsiz bir ara madde (amorf madde) ile doldurulmuştur. Tendonda kollajen yapım ve yıkım hızı (turnover) oldukça yavaştır. Kollajen molekülleri arasındaki çapraz bağlar, dokulara sahip oldukları direnci sağlar. Kollajen liflerinin dizilimi dokunun fonksiyonunu belirler. Tendondaki kollajen liflerinin paralel dizilimi dokuya tek yönlü yüksek gerilme kuvvetlerine dayanabilme yeteneği sağlar [26].

Normal tendonun yapısı seyrek iğ şeklinde tendon hücreleri ve arada oldukça organize olan ECM'den oluşur. Tendon hücreleri ECM nin tüm bileşiklerini sentezler. Matrikste tendona kendi gücünü kazandıran uzun iplikler halinde sıkı tip I kollajen demetleri vardır. Kollajen arasında küçük proteoglikan ve glikozaminoglikan zincirlerinden oluşan ara madde mevcuttur. Normal tendonda ışık mikroskobunda fark edilmeyen çok az ara madde vardır [26, 27].

Tendonlar aracılığıyla kas ile kemik arasında mekanik güç naklediciliğinin yanında kas kontraksiyonu da düzenlenmektedir. Tendonlar aynı zamanda elastik enerji deposudurlar ve beklenmedik ani hareketlerde gücü absorbe ederek azaltırlar. Kasın devamlılığını sağlayan tendon, kemik veya kırıkta sonlanır. Güç dağılımı için tendonlar kemiğe, dört farklı geçiş doku bağlantı tipini kullanarak yapışmaktadırlar [28, 29];

- 1-** Tendon
- 2-** Fibrokartilaj (kollajen lifler fibrokartilaj yapıya dönüşerek)
- 3-** Kemik (mineralize kırıkta dokusu kortikal kemikle birleşerek)
- 4-** Sharpey Lifleri

Kemiğe yapışma yerinde tendonun santral fibrilleri korteksi delerek kemik içinde kaybolurlar. Periferik fibriller ise, periost fibrilleri ile birbirine karışırlar. Kıkırdak yapışma yerinde ise tendon fibrilleri perikondriuma girerek yaygın olarak dağılırlar [30].

Kollajen gerilme güçlerine karşı oldukça dirençli oldukları halde esneme yetenekleri yok denecek kadar azdır. Oldukça sıkı aralıklarla ve birbirine paralel seyreden kollajen lifleri yer yer kalın demetler oluştururlar. Bu yapısal özellik, tendonun gerilme ve çekme güçlerine karşı direnebilmesini sağlar [31].

Kollajen insan vücudunda en fazla miktarda bulunan proteindir. Yapısında bulunan her üç aminoasitten biri glisindir. Prolin, hidroksiprolin ve hidroksilizin kollajenin yapısında bulunan diğer önemli aminoasitlerdir. Uzunluğu 280 nm ve genişliği 1,5 nm olan tropokollajen adı verilen ince uzun protein birimi, kollajen fibrillerini meydana getirmek üzere polimerize olur. Tropokollajenin üçlü helikal yapısı, her biri yaklaşık olarak 1000 aminoasitten oluşmuş üç adet polipeptid zincirinden kaynaklanır. Bu polipeptid zincirlerinin kimyasal yapısındaki farklılıklar, kollajenin farklı tiplerinin oluşmasından sorumludur. Tropokollajenin üçlü helikal yapısını meydana getiren üç polipeptid zincirinden iki tanesi  $\alpha 1$  yapısındadır üçüncüsü  $\alpha 2$  yapısındadır ve tropokollajen tendon yapısında en fazla bulunan tip I kollajeni oluşturur [32].

Tropokollajen adı verilen ince uzun protein birimleri, mikrofibril alt üniteleri halinde kümelenerek fibrilleri meydana getirmek üzere paketlenirler. Bu protein birimlerinin kümelenmelerinde ve paketlenmelerinde hidrojen bağları ve hidrofobik ilişkiler rol alır. Bir sonraki adımda bu yapı, lysyl oxidase enziminin aktivitesiyle katalize edilen kovalent çapraz bağların oluşmasıyla güçlendirilir. Meydana gelen kollajen fibrillerinin, elektron mikroskobu altında görülen, 64 nm'lik karakteristik aralıklarla aydınlık ve karanlık bantlarının oluşturduğu enine çizgilenmeleri vardır. Bu çizgilenmeler uzunluğu 280 nm olan tropokollajen protein birimlerinin basamak şeklinde birbiri üzerinde tabakalanmış düzeni ile açıklanmaktadır. Bu düzen birbiri ardına gelen boşluk ve üst üste gelen bölgelerin meydana gelmesine sebep olarak, kollajen fibrillerinin tipik görünümü olan enine çizgilenmeyi oluşturur. Aşil tendonunun yapısında yer alan kollajen fibrillerinin çapı 60 nm ilâ 150 nm arasında değişir [32, 33].

Primer demetlerdeki kollajen lifleri, seyirleri esnasında dallanarak anastomozlar yaparlar. Kollajen lif demetleri arasına paralel yerleşmiş az sayıdaki fibrositler, enine kesitlerde demetler arasına sokulan ışınal sitoplazmik uzantılara sahiptirler ve buldukları yerin şeklini alırlar. Tendon fibrositleri "tendon hücresi" veya sitoplazmik uzantılarının, lifler arasında kanat gibi uzanması nedeniyle "kanatlı tendon hücresi" olarak da adlandırılırlar [34].

Tip I kollajende bu fibriller birleşerek tendonun temel birimi olan fiberleri oluştururlar. Her bir kollajen fiberinin etrafı endotenon adı verilen hem fiber demetlerinin kaymasını hemde birbirlerine bağlanmasını sağlayan aynı zamanda tendonun derin kısımları için, kan damarlarının, sinirlerin ve lenfatiklerin erişimine olanak sağlayan kanalları da temin eden ince bir kılıf ile çevrenir [21]. Endotenon ince gevşek bir bağ dokusudur. Primer lif demetlerinin etrafında kollajen demetlerine paralel olarak yer alır ve tendon fasiküllerini ayırarak sarar [35].

Fiberler de demetleri oluşturacak şekilde bir araya gelirler. Birincil fiber demetinin diğer adı subfasiküldür. Subfasiküller birleşerek ikincil fiber demetini yani fasikülleri oluşturur. İkincil fiber demetleri de bir araya gelerek üçüncül fiber demetlerini oluştururlar. Üçüncü fiber demetleri bir araya gelerek tendonu oluştururlar.

İki tip tendon vardır [29].

- Paratenon ile çevrili olanlar.
- Kılıflı tendonlar

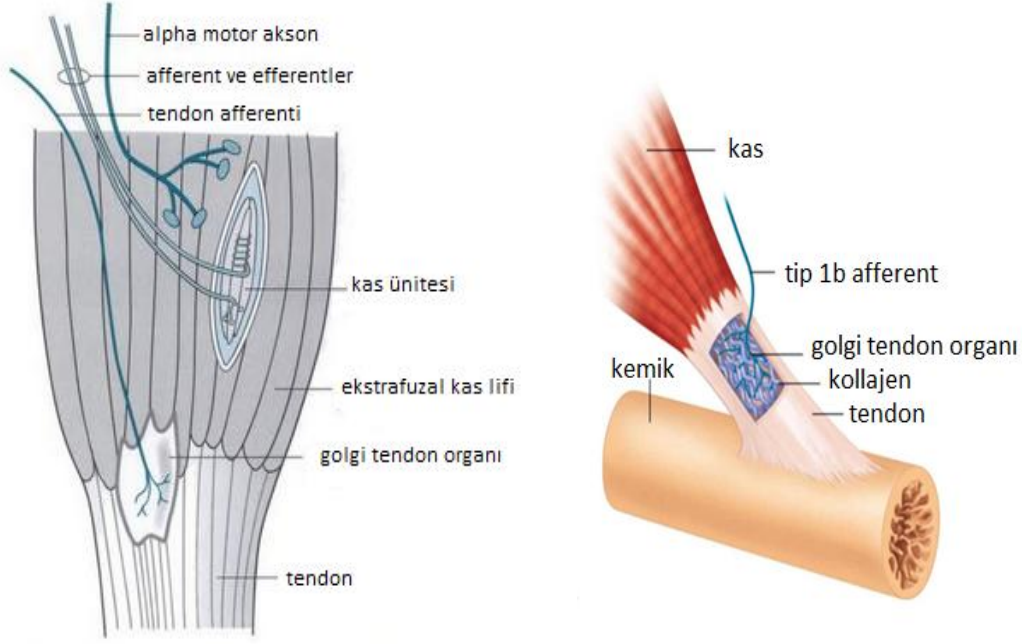
Tendonlar epitenon adı verilen ince bir kılıf ile çevrenir. Böylece tendonun kaba yapısı ortaya çıkar. Bu yapı paratenon adı verilen en dışta bulunan bir kılıf ile çevrenir. Paratenon sürtünmeyi azaltarak tendon hareketlerine izin veren ince bir sıvı tabakası ile epitenondan ayrılır [21]. Endotenon ile demetler birbirlerine bağlanırlar. Bu şekilde oluşan sekonder demetler epitenonla çevrenmiştir. Epitenon iki tabaka halindedir. İçteki tabaka endotenon üzerinde seyrederek ve sinirler için koruyucu işlev görür. Dıştaki tabaka ise çevre bağ dokusu ile devam eder. Epitenon hücreleri, tendon onarımında çok önemli bir rol oynar [34]. Paratenonun dış yüzeyi düzdür ve çevre dokuyla çok sayıda bağlantı içermektedir. Böylece tendon hareketleri kısıtlanmamış olur. Sürtünmelere yol açabilecek kemik ve

benzeri sert dokular üzerindeki tendonlar sinovya (vagina tendineum veya tendon kılıfı) adı verilen bir bağ dokusu kılıfı içinde uzanırlar. Bu kılıf mezenkimal kökenli yassı hücrelerden oluşan iki tabakadan meydana gelmiştir. İç tabaka paratenona sıkı şekilde tutunurken dış tabaka çevre dokulara yapışiktır. İki tabaka arasında bir boşluk mevcuttur ve tabakaların boşluğa bakan yüzleri devamlılığı olmayan mezotel hücreleri ile döşenmiştir. Bu boşlukta sinovya benzeri protein, glikozaminoglikan, glikoprotein ve iyonlar içeren bir sıvı bulunur. Bu sayede tendon, en dış kılıf içinde kayarak hareket edebilme özelliğini kazanır [35].

Epitenon ve paratenon içinde elastik lifler de bulunur ve kan damarlarından oldukça zengindirler. Oysa endotenonda çok az sayıda damarsal yapı mevcuttur. Primer demetler içinde ise damar yoktur ve bu nedenle metabolizma oldukça yavaştır [26, 28].

Aşil tendonun paratenonu el ve bilek tendonlarında olan sinovya tabakasına sahip değildir. Fakat bu tabaka aşil tendonunun posteriorunda mukopolisakkaritlerle kayganlaşmış birkaç ince kayan membrana dönüşür [36].

Tendonlar afferent sinirlerden zengindirler. Sinir liflerinin bir kısmı, tendonların kasa yakın bölgelerinde, tendon mekiği adı verilen yapıları oluştururlar. Tendon mekiği, sinir liflerinin bağ dokusu tarafından sarmalanmış kollajen lifleri etrafında dolanmasıyla oluşur. Diğer bölgelerde serbest sonlanmalarda görülür. Afferent sinir lifleri, tendonları aşırı uzamalara karşı korurlar [34].



Resim 3: Tendon afferent sinir lifleri [37]

### 2.1.2. Aşil Tendon Anatomisi

Gastrocnemius ve Soleusun kaslarının tendinöz kısımlarının birleşmesiyle oluşan Aşil tendonu (AT) insan vücudunun en kalın ve en dayanıklı tendonudur ve alt ekstremitenin biyomekaniğinde çok önemli bir role sahiptir. Bacağın arka yüzeyel kompartmanı içinde bulunur. M. gastrocnemius ve m. soleus'un ikisine birden m. triceps surae denilir [38]. Arka yüzeyel kompartmanda triceps surae kas kompleksi ve plantaris kası bulunur. Yüzeyel posterior kompartman, nervus (n.) tibialis tarafından inerve edilir ve beslenmesi arteria (a.) tibialis posterior ile olur.



Resim 4: M. triceps surae ve aşıl tendonu

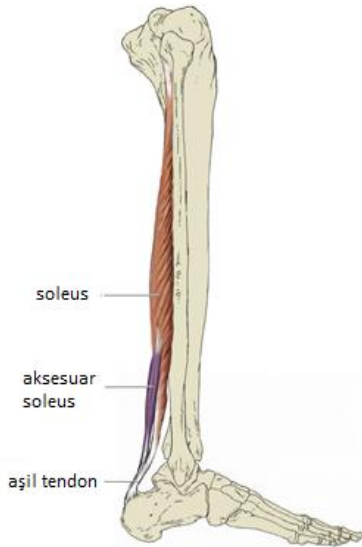
Tablo 1: Bacağın arka yüzeyel kompartman kasları

	Bacağın arka yüzeyel kompartman kasları		
	m.gastrocnemius	m. soleus	m. plantaris
<b>başlangıç</b>	Caput laterale femurun epicondylis lateralesinden, caput mediale femurun epicondylis medialesinden başlar. Bir kısım lifleri de femur kondillerinin hemen üzerinde, diz eklemi kapsülünden başlar.	Tendinöz bir yapı ile fibula başının posterior yüzünden, fibula gövdesinin proksimal 1/3' ünden, tibia posterior yüzündeki linea musculi solei' den ve fibula ile tibia arasında gerilen arcus tendineus musculi solei' den başlar.	Labium laterale linea aspera'nın en alt kısmından ve lig. popliteum obliquum'dan başlar.
<b>bitiş</b>	Tendo calcaneus (tendo musculi gastrocnemii olarak) [38]	Tendo calcaneus (kas lifleri kasin posterior yüzünde bulunan aponeurozda sonlanırlar.	tendo calcaneus'un medial kenarı boyunca uzanır ve bu tendon ile birlikte os calcaneus'da sonlanır [38]
<b>fonksiyon</b>	Diz fleksiyonu, ayak bileği plantar fleksiyonu, subtalar eklemin inversiyonu	Ayak bileği plantar fleksiyonu, subtalar eklemin inversiyonu	M.gastrocnemius'a yardım eder.
<b>inervasyonu</b>	n.tibialis	n.tibialis	n.tibialis

M. Gastrocnemius bacak arka kısmındaki kabartıyı yapan çift başlı bir kastır, kasın lateral ve medial başından kaynaklanan sağ ve sol yarısı her zaman aynı mesafeden başlamayabilir, dolayısıyla bu yarılar nadiren simetriktir [24]. Daha büyük olan medial başı, lateral başı ile dar bir açı oluşturacak şekilde birleşir ve fossa popliteayı her iki alt yandan sınırlar. Diz, ayak bileği ve subtalar eklemlerin üzerinden geçtiğinden dizin ekstansiyonu ve ayak bileğinin dorsifleksiyonu ve topuk inversiyondayken maksimum gerginliğe ulaşır.

M. Soleus postural bir kastır. Diz seviyesi altındaki en güçlü kas olan soleus kasıldığı zaman ağırlık merkezi diz ekleminin önünden geçer. Vücudun dik durmasına yardımcı olur aynı zamandan yürüme sırasında vücudun öne düşmesine engel olur.

Aksesuar soleus kası varlığı manyetik rezonans görüntüleme (MRG) nin klinik pratikte sık kullanılmaya başlamasıyla tanı almıştır. Brodie JT ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada görülme sıklığı %0,7 ile %5,5 arasında bulunmuştur. Origosu aynı olmasına rağmen, insersiyosu farklıdır. Aynı bir tendinöz yapı ile AT anteromedialine tutunur.



Resim 5: aksesuar soleus kasının şematik görünümü

M. plantaris iğ şeklinde küçük bir kas olup, bazen çift olarak bulunur. Toplumun % 7-10'unda ise bulunmaz. M. plantaris, tendo calcaneus'un yapısına katılmaz ama her iki tendon da os calcaneus üzerinde ortak bir noktada sonlanırlar.

M. plantaris'in tendonu os calcaneus üzerinde 4 farklı şekilde sonlanabilir;[39]

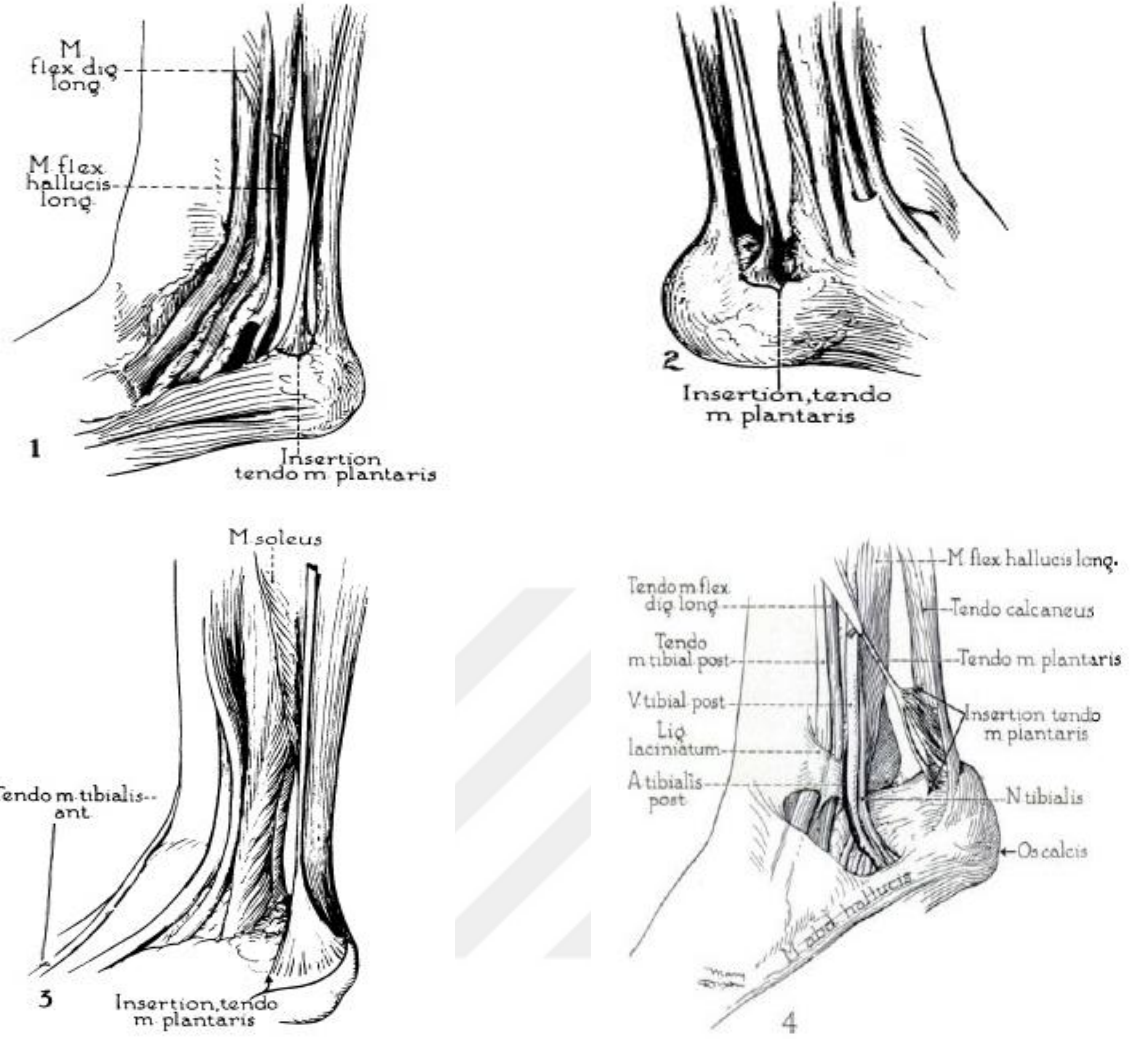
-**Tip I:** % 47 ile en sık görülen tip olup, yelpaze şeklinde AT tutunduğu yerin medialinde sonlanır.

-**Tip II:** % 36,5 oranında görülür. AT nin medial kenarının 0,5-2,5 cm. anteriorunda sonlanır.

-**Tip III:** % 12,5 oranında görülür. AT nin dorsal ve medial yüzeyi boyunca geniş bir alanda sonlanır.

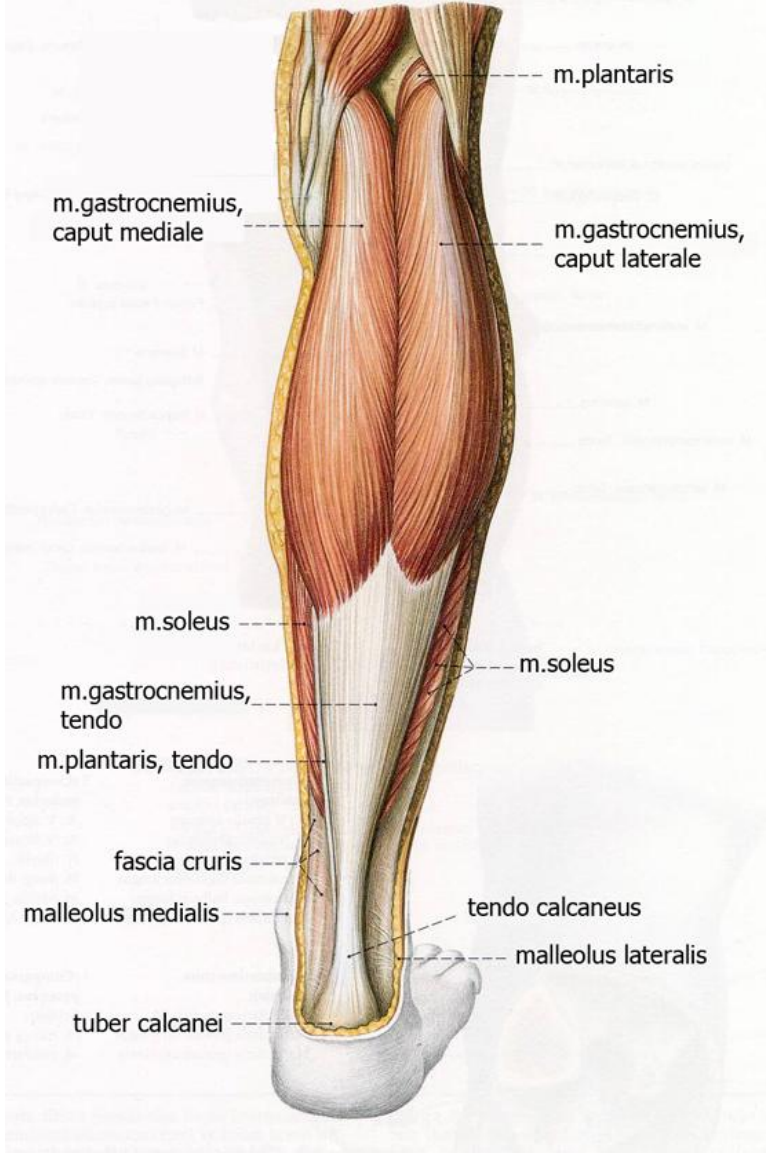
-**Tip IV:** % 4 oranında görülür. AT nin medial kenarı boyunca 1-16 cm arası herhangi bir seviyede AT ile birleşerek ortak bir kirişle os calcaneus'ta sonlanır.





Resim 6: M. plantarisin calcaneusta sonlanma yerleri [40]

Kalkaneusun yaklaşık olarak 5-6 cm proksimalinde m.gastrocnemius ve m.soleus kaslarının tendinöz kısımları birleşir ve tek bir tendon haline gelerek Aşil tendonunu (AT) oluşturur. Tendonun başlangıç yeri geniş ve yassıdır, gastrocnemius ve soleus bileşenlerinin katkısı değişkendir.



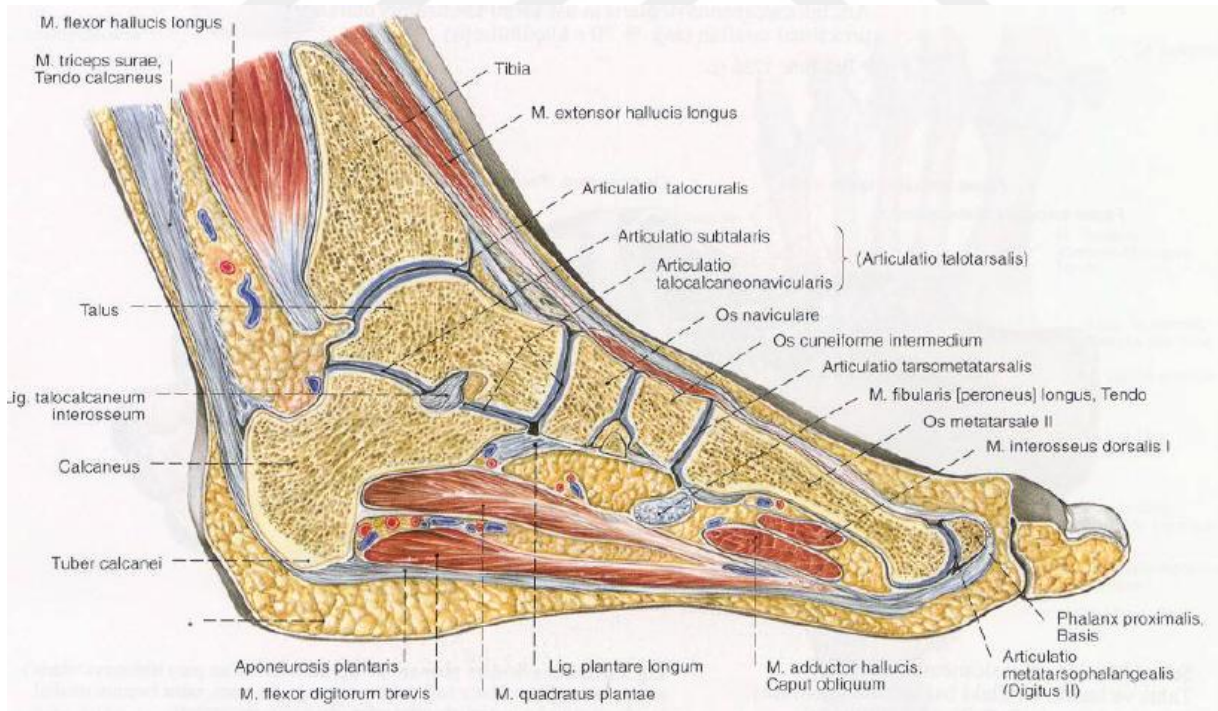
Resim 7: M. gastrocnemius ve m. soleusun aşil tendonu olarak tuber calcaneide sonlanması[41]

AT ortalama uzunluğu 15 cm'dir ve 11-26 cm arasında değişir. Uzunluğu kişinin boyu ile orantılıdır. AT nin kalınlığı tüm uzunluğu boyunca farklıdır. Kalınlığı, başlangıç hizasında ortalama 6.8 cm (dağılım 4.5-8.6 cm) iken, orta mesafelerinde giderek azalır ve burada ortalama 1.8 cm'ye (dağılım 1.2-2.6 cm) kadar düşer. Orta mesafesine kadar yassı olan tendon alt ucuna doğru giderek yuvarlaklaşır ve kalkaneusda insersiyon yerine 4 cm mesafe kala tamamen yuvarlak bir tendon şeklini alır [42] ve tendonun en dar olduğu yer bu bölgedir. Daha sonra tekrar bir miktar genişleyerek ve yassılaşıp bir delta şeklinde kalkaneusun posteroinferior kısmında tuber calcanei de sonlanır. AT nin calcaneus' ta

sonlandığı bölge, ortalama uzunluğu 19,8 mm, ortalama genişliği proksimalde 24 mm ve distalde 31 mm olarak ölçülen bir alana dağılmıştır [43].

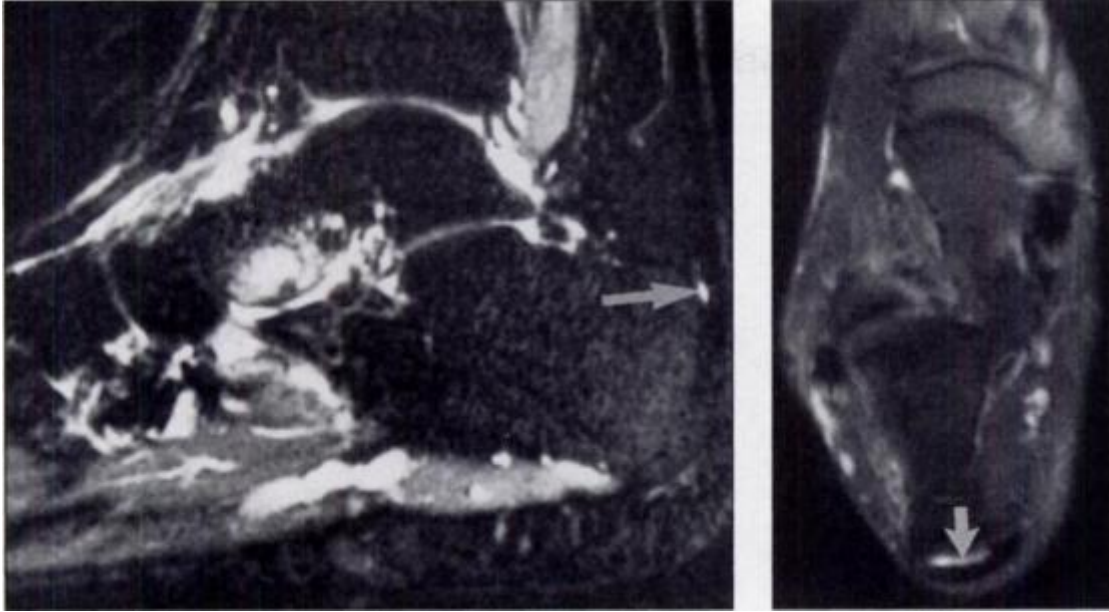
Yapılan bir çalışmada MRG ve USG kullanılarak tendon kalınlığı, 18 – 70 yaş aralığında  $6,5\pm 8$  mm, 1–9 yaş aralığında  $4,6\pm 0,8$  mm, 10 ile 17 yaşları arasında  $6,1\pm 0,8$  mm olarak ölçülmüştür [44].

Kalkaneusun arka yüzü tipik olarak konvektir. AT nin insersiyonunu gösteren çoğu anatomi kitabı ve atlasında AT nin sadece posteriordan, medialden veya lateralden görünüşüne yer verilmiştir. Bu şekillerden tendonu'nun şeklinin insersiyon boyunca değişmediği yorumu yapılabilir. Ancak, transvers kesitlerde AT nin insersiyonunun hilal şeklinde olduğu ve olguların çoğunda tendon liflerinin uzantılarının kalkaneusun medialinde laterale göre daha belirgin olduğu bildirilmiştir [45, 46]. AT nin tutunma yerinin bir “enthesis” organı olarak önemine dikkat çeken çalışmalar bulunmaktadır. AT ile kalkaneus arasında bulunan sesamoid ve periosteal fibrokıkırdak, retrokalkaneal bursa ve Kager'in yağ dokusu, kemik ve yumuşak doku arasındaki stresi azaltır bu nedenle “enthesis organının” birer bileşeni olarak sayılır [47].



Resim 8: Ayak bileğinin vertikal kesiti ve aşil tendonunun calcaneusta sonlanması [41]

AT ile calcaneus'un düz olan posterior kısmı arasında bursa tendinis calcanei (retrocalcaneal bursa) bulunur. Retrocalcaneal bursa, dorsifleksiyon ve plantarfleksiyon hareketleri esnasında şeklinin değişmesine izin vererek, AT ve calcaneus arasında hareketin serbest olmasını destekleyen, sinovyal çıkıntılara sahiptir. Retrocalcaneal bursa superior ve posterior duvarları tamamen sinoviyal membran ile kaplı bir yapıya sahiptir. Retrocalcaneal bursanın posterior duvarı, tendonun basınçlı yüklere karşı direnmesine olanak sağlayan, sesamoid fibröz kıkırdaktan oluşmuştur [48]. Ön duvarı calcaneal tuberositin superior fasetini temsil eder, arka duvarı AT insertiyosu anterior yüzüne denk gelir.



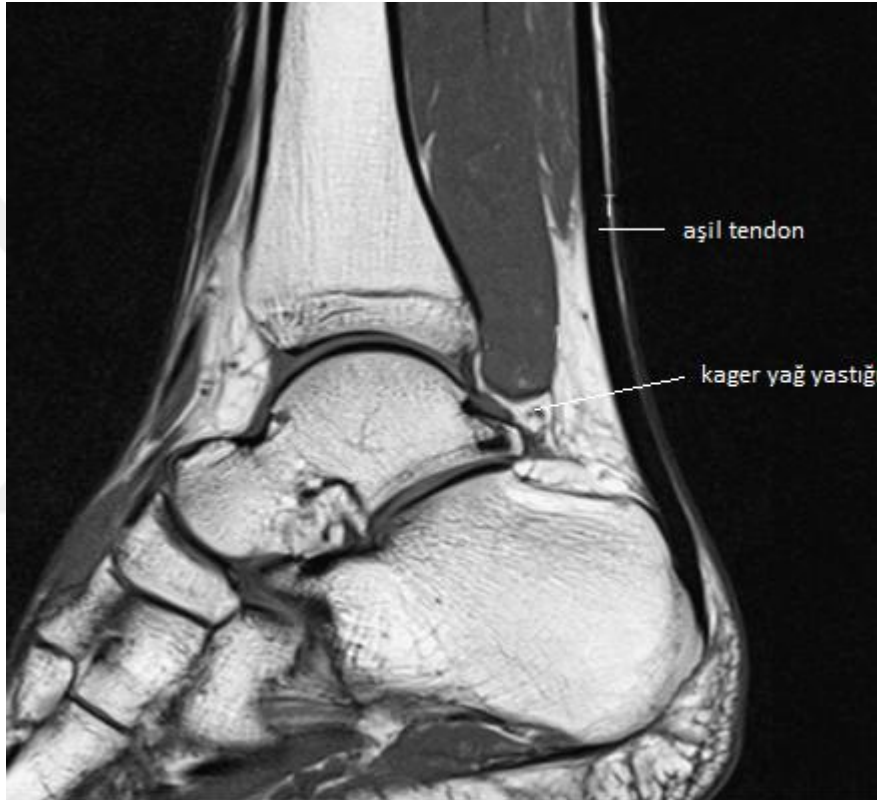
Resim 9: Retrocalcaneal bursanın MRG görüntüleri (ok) [49]

AT ile tibiyanın posterior sınırı arasındaki boşluk kager üçgeni olarak bilinir. Retrocalcaneal bursanın üst duvarı kager üçgeninin apidoz dokusu tarafından oluşturulur [50].



Kager yağ yastığı;

- Tendon ile kemik arasındaki sürtünmeyi azaltmak,
- Yük altında iken tendona destek olup bükülmesini engellemek,
- Boşluğu doldurduğu için hareket esnasında oluşacak olası negatif basıncın etkilerinden korumak,
- Tendonu besleyen kan damarlarını korumak ve
- İçerdiği birçok duysal sinir ucu nedeniyle propriyosepsiyonda görev almak gibi önemli fonksiyonlara sahiptir [51].



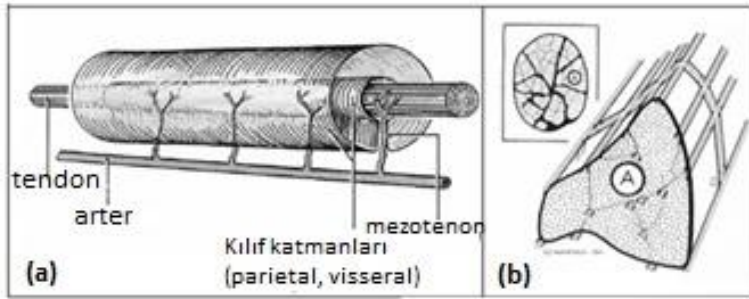
Resim 10: MRG kesitinde kager yağ yastığı [52]

### 2.1.3. Aşil Tendon Kanlanması

Tendon beslenmesi vasküler perfüzyonla ya da sinovyal difüzyon yoluyla gerçekleşir. Green ve ark. yaptığı çalışmada, difüzyonun perfüzyondan daha etkili olduğu sonucuna varmışlar ve difüzyonun vasküler yapıdan arındırılmış tendonun beslenmesi için yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Rothman ve ark. yaptıkları çalışmada tendonların damarlanmasını incelemişler ve tendonların damarlanmasının; kasa ait damarların dallarından, tendonun kas ve periosta insersiyon yerinden giren damarlardan, tendonu çevreleyen paratenon, mezotenon ve vinkula denen konnektif dokulardan giren damarlardan olmak üzere üç kaynaktan damarlandığını göstermişlerdir.

Tendonların beslenmesi etraftaki dokuya ve bulunduğu bölgeye göre özellikler göstermektedir. Sinovyal kılıf içinde tendonun vasküler yapısı intrinsek ve ekstrinsek vasküler sistem olarak iki ana başlık altında toplanır. Ekstrinsek vasküler yapı, mezotenon içindeki damarların kılıf içine doğru sinovyal refleks uzantı, vinkulumlar, osseoz insersiyon noktalarıdır. İntrensek vasküler yapı ise endotenon içinde seyreden vasküler yapılardır [53]

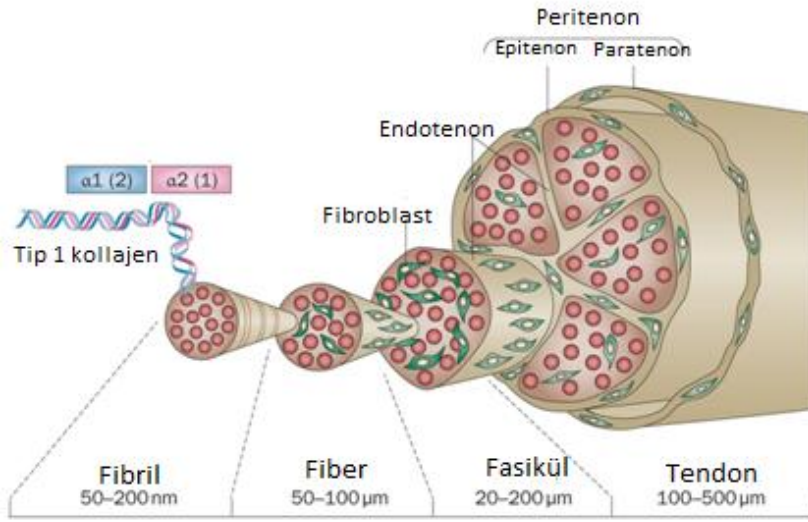


A: Besleyici arteri, çeşitli yerlerde kılıfı (mezotenon) geçerek tendon içine dallar oluşturur.

B: Kan damarları, epitenonda çapraz-anastomozlar ile uzunlamasına şekilde düzenlenir ve fasikülleri çevreleyen endotenondan geçer.

Resim 11: Ekstrinsek ve intrinsek vasküler yapıyı gösteren şematik çizim [35]

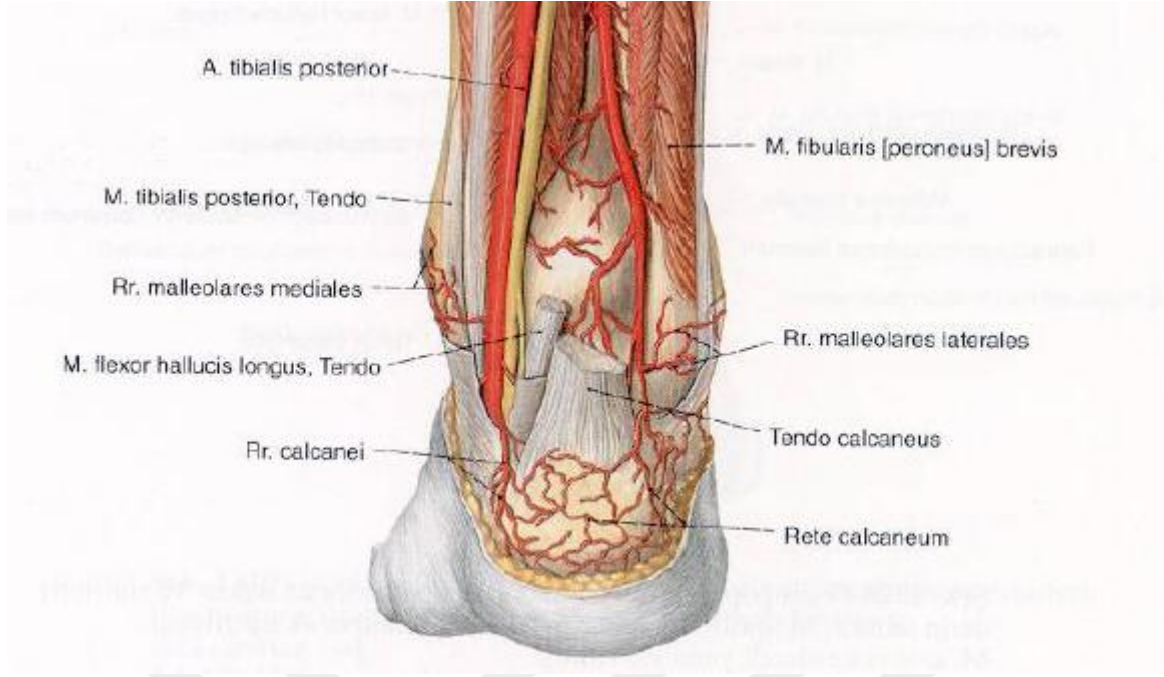
Paratenon ile çevrili olan tendonların zengin kapiller ağı ve bunu besleyen birçok damarları vardır. Kılıflı tendonda mezotenon (vinkula) sadece bir tendon segmentini besleyen bir damarı taşır. Avasküler bölümler vaskülerize segmentlerden diffüzyon yoluyla beslenirler [54]. Sinovyal kılıfın olmadığı AT gibi tendonlarda paratenon kanlanmaya yardımcı olur. Paratenondan ayrılan arteriyel damarlar epitenona girerek endotenon içinde intratendinöz vasküler ağ oluştururlar. Bu nedenle paratenon tendon iyileşmesinde çok önemli bir rol oynar [34, 55].



Resim 12: Kollajen fibrilden itibaren tendonun oluşmasını ve tendonu çevreleyen zarları gösteren şematik çizim

AT nin kanlanması, muskületendinöz bileşkeden, osteotendinöz bileşkeden ve paratenondan olmak üzere üç önemli kaynaktan sağlanır. Muskületendinöz bileşkede kan damarları endotenona nüfuz ederek, tendonun proksimal 1/3' ünün kanlanmasına katkı sağlar [56].

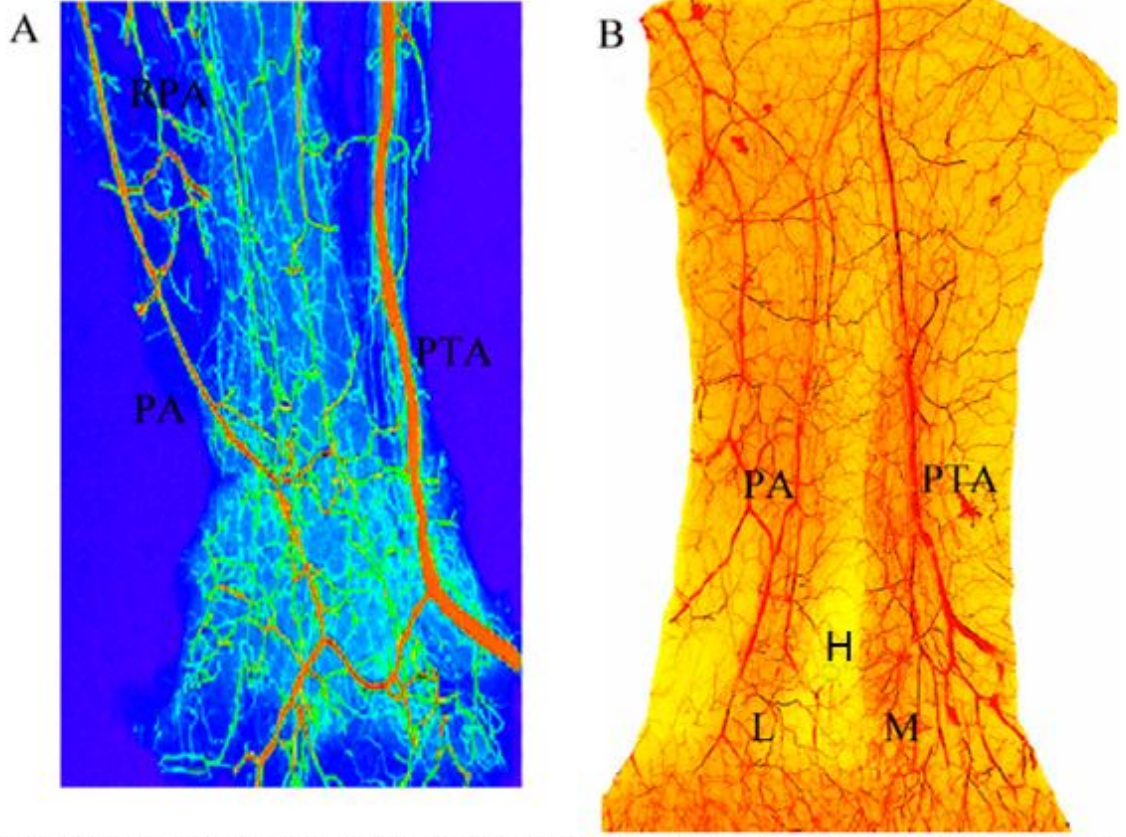
AT nin bir çoğunluğunun kanlanması ise tendonun anterior yüzünde, uzunluğu boyunca paratenon içinde yer alan a. tibialis posterior'a ait dallar tarafından sağlanır. Tendonun proksimal parçası a. tibialis posterior'a ait dallar tarafından beslenir. Tendonun distal parçası a. tibialis posterior, a. peronealis ve a. plantaris lateralisin dalları tarafından oluşturulan rete arteriosum calcaneare adı verilen ağ tarafından beslenir [55, 57, 58].



Resim 13: Rete arteriosum calcaneare [41]

AT uzunluğu boyunca tüm segmentlerde aynı oranda kanlanmaz, kanlanması homojen değildir [57, 59]. Damarlar uzun tendonlara kas-tendon bileşkesinden veya periosteal yapışma yerinden girerler. Bu nedenle merkezdeki 1/3'lük bölgenin kanlanması uçlara göre daha zayıftır [60]. AT nin bu bölümü, sonlanma yerinin 2 cm ilâ 6 cm proksimaline denk gelir ve tendonun kanlanmasının en zayıf olduğu bölge bu bölgedir. AT nin kanlanmasının en zayıf olduğu bu bölge, aynı zamanda sürtünmenin, torsiyon ve kompresyon kuvvetlerinin yoğun olduğu bölgedir ve yırtıklarda en sık bu bölgede görülür. Yapılan çalışmalarda tendonun bu bölümünün avasküler olduğu yapılan anjiyografik olarak gösterilmiştir [8]. Kanlanmasının zayıf olmasının, doğrudan tendonun gerilme gücünü azalttığına ve dolaylı olarak dejenerasyona sebep olup tendonu güçsüz bıraktığına inanılır.





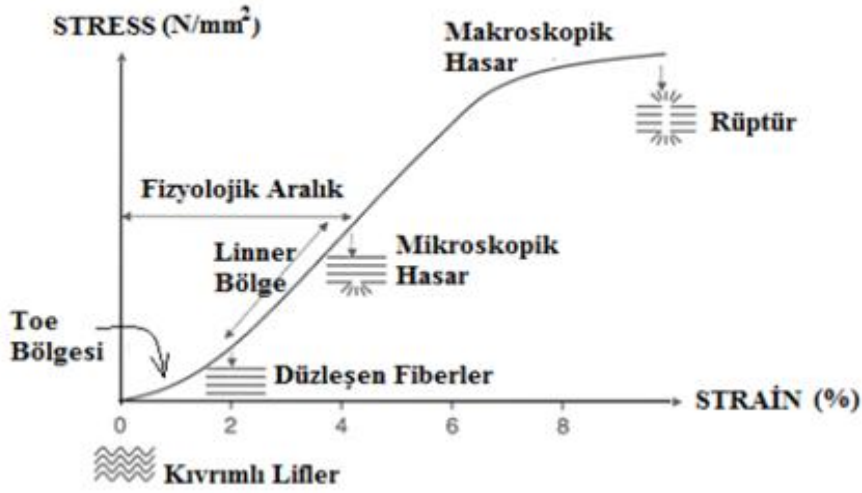
A: Medial ve lateral anastomik ağı gösteren renkli anjiyogram. PTA: posterior tibial arter PA: peroneal arter RPA: rekürren peroneal arter B: Aşil tendon trasesine karşılık gelen renkli anjiyogram H: hipovasküler bölge M: medial posterior vasküler bölge L: lateral posterior vasküler bölge

Resim 14: Aşil tendon kanlanması ve anjiyografide hipovasküler bölge [61]

#### 2.1.4. Tendon Yaralanma Fizyolojisi

Tendonlar kuvveti kasta kemiğe aktarırlar. Kollajenin mekanik davranışı, moleküler yapısındaki bağların sayısı ve biçimiyle değişiklik gösterir. Gerilme eğrisi tendonun yük altındaki davranışını açıklamada yardımcı olur. İstirahat halindeki tendonlar, kollajen fibrillerinin kıvrılmasına bağlı olarak, dalgalı bir konfigürasyona sahiptirler. Eğriliğin ilk kısmında görülen konkav bölge tendonun boyunun %2 si kadar gerildiği döneme aittir ve kıvrımlı kollajen yapısı bu dönemde düzleşir, tendonun tensil kuvvetlere karşı ilk cevabı liflerin düzleşmesidir. Bu durum temel olarak kollajenin elastik özelliklerine bağlıdır ve "stres-gerginlik (stress-strain)" eğrisinin başlangıcını oluşturur. Bu noktanın ötesinde tendonlar kollajen üçlü helikslerinin molekülleri arasındaki bağların kırılmasına bağlı olarak çizgisel bir şekilde deforme olurlar ve kollajen fibrilleri paralel hale gelir [25].

Eğrinin ikinci kısmında, kollajen lifleri deforme olur ve yüke doğrusal olarak cevap verirler; eğer tendondaki gerilme %4'den fazla değilse lifler orijinal konfigürasyonlarına geri dönerler. %4 ile %8 arasındaki gerilmelerde ise kollajen lifleri birbirleri üzerinde kayar ve çapraz bağlantılar arasında kopmalar başlar. Gerilme seviyesi %8'den fazla olduğunda ise, lifler tensil kuvvetlere karşı koyamadığından makroskopik kopmalar görülür [25, 34].



Resim 15: Stres – strain eğrisi

Sağlıklı tendon şiddetli gerilme kuvvetlerine maruz kaldığında yırtılabileceği gibi [62, 63] aşırı yüklenme sonucunda muskültendinöz bileşkede aşırı gerilmeyi önleyen refleks inhibitör mekanizmanın yetersizliği de tendon yırtıklarından sorumlu mekanizmalardandır [64]. Günlük aktiviteler sırasında tendon taşıyabileceğinden daha yüksek kuvvetlere maruz kalabilir. Bu kuvvetler bir tendonun karşılayabileceği kuvvetten yüksek olduğu için yükün uygulanma hızının da tendonun taşıyabileceği maksimum yük miktarı üzerinde etkili olabileceği bildirilmiştir [65]. Tendona uygulanan gerim ne kadar hızlı ve oblik planda olur ise tendonun kopma riski o kadar yüksek olacaktır [65, 66] .

Bir kollajen fibrilinin mekanik gücü, üçlü heliks yapısında oluşturduğu molekül içi bağlarla birlikte çapıyla da ilişkidir. Öyle ki fibril çapı arttıkça biyomekanik dayanıklılık da artmaktadır [67]. Dejenerasyona uğramış tendonlarda ve tendon iyileşmesi sürecinde yoğunluğu artan Tip III kollajen fibril çapının Tip I'e göre daha küçük olduğu bilinmektedir [68].

Yaralı tendonun doğal iyileşme süreci yavaştır ve genellikle cerrahi müdahale ve rehabilitasyon gerektiren sonuçlarla sonuçlanır ancak, cerrahi tamir yapılsa dahi tendonlar yaralanma önceki biyolojik ve mekanik durumlarını tam olarak kazanamazlar [69-71]. İyileşmiş tendonun bu biyomekanik özellik kaybı dağınık kollajen lifleri ve tendonlarda hücre dışı matriks bileşimi ile skar dokusu gelişimine bağlıdır. Buna ek olarak, tendon remodelizasyon süreci genellikle kabul gören bir işlevselliği elde etmek için 6 haftadan uzun zaman alır [34, 72].

Bu gecikme klinik olarak cerrahi sonrası rehabilitasyon ihtiyacını ve sonuçta tendonda yapışma, eklem kontraktürü gibi riskleri içerir. Daha da önemlisi, yaralanmış tendonun yeniden yaralanma riski yüksektir [34, 69, 70].

Baldır kaslarının kontraksiyonu sonucu oluşan kuvveti calcaneus' a aktaran AT de diğer tüm tendonlar gibi su ve proteoglikanlar açısından zengin, hücreler açısından ise fakir bir yapı olan ECM içine gömülmüş kollajen fibrillerinden meydana gelir. Tip I kollajen sayesinde tendon kendi boyutunun % 4'ü kadar esneyip uzayabilir. Ancak % 8'inden fazla gerilecek olursa bu yükü taşıyamaz ve kopabilir [24]. AT insan vücudundaki en büyük ve en güçlü tendon olsa da, boyutu ve işlevsel gereksinimleri nedeniyle hem akut hem de kronik yaralanmalara yatkındır.

Yapılan birçok çalışmada ambulasyonun çeşitli aşamalarında muscilotendinöz ünitenin gerilimi ve dinamik yapısı incelenmiştir [73]. Normal yürüme esnasında duruş fazının sonunda AT ye yansıyan kas geriliminin vücut ağırlığının %250' si kadar olduğu tahmin ediliyor. AT nin, hızlı koşma esnasında vücut ağırlığının 6 ile 12,5 katına kadar ağırlığı taşıdığı gösterilmiştir [73, 74] , bisiklet sürme ve zıplama esnasında da vücut ağırlığının 6 ilâ 8 katına kadar gerilme kuvvetlerine maruz kalır [75]. Gerilme kuvvetlerine maruz kaldığında deforme olan ve bu kuvvetler ortadan kalktığında orjinal haline geri dönen AT, şok emici özelliğiyle de baldır kaslarının hasar görmesini engeller.

AT nin 90 derece sarmal yapısının tendonun izlenen elastik yeteneklerine katkısı olduğu düşünülmektedir. AT nin distale doğru seyri sırasında, tendon lifleri yaklaşık 90° içe doğru dönerek tendona spiral bir boyut kazandırır. Böylelikle proksimalde anteriorda seyreden gastrocnemius bileşenine ait lifler laterale tutunurken, proksimalde posteriora seyreden soleus bileşenine ait lifler mediale tutunurlar. Tendon liflerinin dönme derecesini, her iki kasın birleştiği seviye belirler. Birleşme ne kadar distalde ise liflerin dönme derecesi o kadar artar. Liflerdeki bu dönme, tendonun uzamasını ve orijinal haline geri dönebilmesini mümkün kılar [25]. Örneğin zıplama sonrası inişte ayak plantar fleksiyondayken vücut dik kalır, iniş sırasında AT geri tepme etkisi yaratır ve gerilme kuvvetini absorbe eder [73]. Aynı zamanda bu spiralleşme tendon gevşek bir pozisyondayken tendonun daha az bükülmesine, gergin durumdayken de daha az deforme olmasına neden olur. Bu yapı, tendonu hem daha sağlam kılar, hem de lifler arasındaki sürtünmenin daha az olmasını sağlar [76].

AT subtalar hareketin sekonder kuvvetlerine de maruz kalabilir, bu kuvvet özellikle hiperpronasyonda ve cavustaki ayakta belirgindir. Hiperpronasyonda veya cavustaki ayakta dizilim bozukluğu ile ilişkili azalmış şok emilimi nedeniyle AT yaralanmasına yol açabileceği düşünülmektedir [73]. Ayağın hiperpronasyonu tendonun lif yapısındaki rotasyon bozulacağı için şok absorbe edici etkisi azalır ve dejenerasyon ve rüptür riski artar [25, 33].

AT liflerindeki dönme, sonlanma yerinin 2-5 cm proksimalinde maksimuma ulaşır ve bu bölgede stres düzeyinin aşırı yükselmesine yol açar. Böyle bir durum, AT yırtıklarının en sık görüldüğü bu bölgedeki zayıf beslenmeyi, dejenerasyon ve yaralanmaya yatkınlığı açıklayabilir.

### **2.1.5. Tendon İyileşmesi**

Herhangi bir nedenle hasar gören tendonda iyileşme süreci başlar. Diğer yumuşak dokularda olduğu gibi tendonlarda da iyileşme; inflamatuvar cevabın başlamasından sonra diferansiyasyon, proliferasyon ve maturasyon gibi değişimlere uğrayarak gerçekleşir. Tendon iyileşme safhalarının bilinmesi tedaviyi şekillendirmede ve tedavi sırasında ve sonrasındaki tedavi yönetiminde önemlidir.

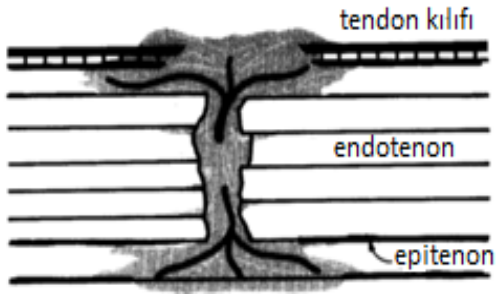
Yaralı tendonun doğal iyileşme süreci yavaştır ve genellikle cerrahi müdahale ve rehabilitasyon gerektiren durumlarla sonuçlanır ancak, cerrahi tamir yapılsa dahi tendonlar yaralanma önceki biyolojik ve mekanik durumlarını tam olarak kazanamazlar [69-71]. İyileşmiş tendonun bu biyomekanik özellik kaybı dağıntık kollajen lifleri ve tendonlarda hücre dışı matriks bileşimi ile skar dokusu gelişimine bağlıdır.

Tendon iyileşmesi; intrinsek ve ekstrinsek olmak üzere iki farklı iyileşme modeli üzerinden açıklanmaya çalışılmıştır. İntrinsek (içsel) iyileşme tendonun kesik olan tendon uçlarından kendi iyileşme potansiyelini tanımlar ve sinovyal sıvı ve tendonun kendi damarlanmasıyla olmaktadır. Ekstrinsek (dışsal) iyileşmede tendon dışı çevre dokulardan hasarlı bölgeyi onarmak amaçlı granülasyon dokusu oluşumu ve hücre göçü söz konusudur.

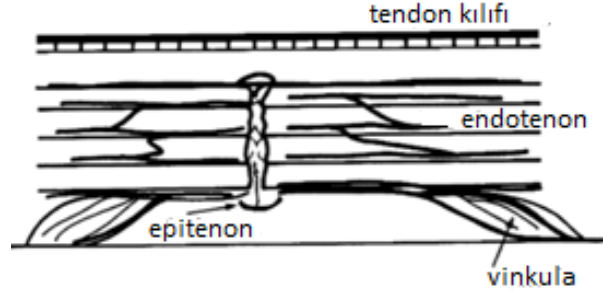
İntrinsek iyileşme tendonun hasarlanan uçlarından kendi iyileşme potansiyelini tanımlar. Bu modelde tendon kılıfı bütünlüğü korunmuş olmalıdır. Tendonun vaskülaritesi ve sinovyal sıvı difüzyonu önemli rol oynar. Endotenon ve epitenondaki tenositlerin aktif tenoblastlara dönüşmesi ve fagositoz ile başlayan tamir işleminin kollajen senteziyle devam ettiği bilinmektedir. İntrinsek iyileşme modelindeki iyileşme tendon kılıfından bağımsız olarak endotenon ve epitenondaki hücrel aktivite ile gerçekleşmektedir [34]. İntrinsek iyileşme modelinde tendon yüzeyel tabakasında yapışıklık olmaksızın fibroplazi oluşur ve yeni kollajen sentezlenir.

Ekstrinsek (dışsal) iyileşme ekstrasnovial tendon iyileşmesinde görülür, tendon ve çevre yumuşak doku arasındaki adezyon formasyonuna bağlıdır. İyileşme için gerekli olan inflamatuvar hücreler tenositler ve kanlanma çevre dokulardan sağlanır [77]. Ekstrinsek iyileşme sürecinde periferik yapışıklık olma olasılığı yüksektir ve tendon iyileşme sürecindeki dış faktörlerde yapışıklık oluşumunu etkileyebilir. Tendonda iskemi, yaralanmanın şiddeti ve çevre yumuşak dokuda oluşan hasar, uzun immobilizasyon süresi, cerrahi travma, tendon kılıfının kaybı gibi faktörler yapışıklık oluşmasında olumsuz anlamda etki ederler.

## Ekstresek iyileşme



## İntrensek iyileşme



Resim 16: Ekstresek ve intrensek iyileşme modelleri gösteren şematik çizim

AT kanlanması hem endotenon hem de paratenon tarafından sağlanır. AT de iyileşme endotenon destekli fibrositler (intrensek model) yanında çevre dokulardan sağlanan tenositler (ekstresek iyileşme) sayesinde hem ekstresek hemde intrensek yolla olur.

Tendon iyileşmesinde morfolojik ve biyokimyasal değişikliklere dayanarak birbirinden kesin sınırlarla ayrılamayan ve kısmen birbirini kapsayan üç fazlı bir iyileşme sürecinden bahsetmek gerekir.

Bu sürecin evreleri;

- İnflamasyon evresi
- Proliferatif (çoğalma – tamir) evresi
- Remodelizasyon (yeniden şekillenme – olgunlaşma) evresi

**İnflamasyon evresi:** Tendon gücünün en az olduğu dönemdir ve yaralanma sonrası 1-5 günlük dönemi kapsar. İnflamatuvar dönemin en belirgin özelliği hücre migrasyonu ve fagosit aktivasyonudur. İnflamatuvar fazda ilk olarak eritrositler ve inflamatuvar hücreler, kısmen nötrofiller yaralanma alanına girerler. İlk 24 saat içinde, monositler ve makrofajlar baskındır ve nekrotik materyalin fagositozu söz konusudur. Damar geçirgenliği artar, kan akımında lokal artış olur ve artan geçirgenlik sayesinde vazoaktif ve kemotaktik föktörler serbestleşir, angiogenezisin artmasıyla tenositlerin proliferasyonu uyarılır ve daha fazla inflamatuvar hücre uyarılır [78]. Nötrofiller yara bölgesine 4-6 saat arasında ulaşır, makrofajlar ise 2 -3 gün sonra yara bölgesine gelirler. Tenositler yara yerine yerleştikçe tip III kollajen sentezi başlar [79].

**Proliferatif evre:** Fibroblast proliferasyonu ve anjiogenez belirgin hale gelir. İnflamasyon döneminin son dönemlerini de içerecek şekilde 5-21 gün arasında sürer. Hücrel çoğalma ve matriks oluşumu ile karakterizedir. Tip III kollajen sentezinin en yoğun olduğu dönemdir ancak tendonun tensil gücü yeterli değildir ve kollajen dizilimi düzensizdir. Su içeriği ve glikozaminoglikan konsantrasyonları bu aşamada yüksek kalır [79]. Tenositler hakim hücrelerdir[34].

**Remodelizasyon evresi:** Kollajen ve glikozaminoglikan (GAG) sentezinin azalması ve hücrel aktivitenin azalmasıyla remodelizasyon evresi başlar. Remodelizasyon evresi kendi içinde konsolidasyon aşaması ve maturasyon aşaması olarak ayrılabilir. Konsolidasyon aşaması on haftaya kadar uzayabilir. Bu dönemde hücrel tamir dokusu fibröz dokuya dönüşür. Tenosit metabolizması bu süreç boyunca yüksek kalır ve tenositler ve kollajen lifleri gerilme yönünde hizalanırlar [80]. Tip I kollajenin büyük çoğunluğu bu evrede sentezlenir. Kollajen fibrillerinin yapısında bulunan kovalent çapraz bağların sayısı ve kalitesi artar [80]. Altıncı haftadan sonra fibröz dokudan skar benzeri tendon dokusuna aşamalı iyileşme bir yılı bulan sürede olur ve maturasyon evresini oluşturur ve bu aşamasının ikinci yarısında tenosit metabolizmasında ve tendon vaskülaritesinde azalma mevcuttur [34].

Tablo 2: Tendon iyileşmesini etkileyen ve üzerinde çalışılmış faktörler

<b>Tendon iyileşmesini etkileyen ve üzerinde çalışılmış faktörler</b>	
<b>Farmakolojik ajanlar</b>	<b>Cerrahiye bağlı faktörler</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Suramin <i>Şener M. ve ark.</i></li> <li>✓ Fibrin <i>Frykman E. ve ark.</i></li> <li>✓ Plazminojen aktivatörleri <i>Xia W. ve ark.</i></li> <li>✓ Kollajen sentez inhibitörleri <i>Khan U.ve ark.</i></li> <li>✓ Nitrik oksit (NO) <i>Murell G.A.C. ve ark.</i></li> <li>✓ Düşük molekül ağırlıklı heparin (<i>DMAH</i>) <i>Şener M. ve ark</i></li> <li>✓ Kortikosteroidler <i>Atal S.</i></li> <li>✓ Fosfotidilkolin <i>Mora – Oka ve ark.</i></li> <li>✓ Plasma rich in growth factors (PRGF) <i>Anitua E. ve ark.</i></li> <li>✓ Cloned bFGF (basic fibroblast growth factor) <i>Tang ve ark.</i></li> <li>✓ Bone morphogenic protein (BMP) <i>Thomopoulos S. ve ark.</i></li> <li>✓ Büyüme faktörleri <i>Hankemeier S. ve ark.</i></li> <li>✓ Lubricin <i>Yagi M. ve ark.</i></li> <li>✓ Hyalüronik asit <i>Oryan A. ve ark.</i></li> <li>✓ Amniyon sıvısı <i>Özgenel G.Y. ve ark.</i></li> <li>✓ N- butil-2- siyanoakrilat (histoakril) <i>Oztona V. ve ark.</i></li> <li>✓ NSAID <i>Szabo RM. Ve ark.</i></li> <li>✓ Aprotinin <i>Zenciroglu A.</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Kılıf tamiri</li> <li>✓ Biyolojik bariyerler</li> <li>✓ Silikon kılıflar <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fasial greftler <i>Min AL. ve ark.</i></li> <li>• Ven greftleri <i>Forgaon M .ve ark.</i></li> <li>• Biyolojik membranlar.</li> </ul> </li> <li>✓ Kök hücre kaynaklı tedaviler <i>Fairbarm N. ve ark.</i></li> <li>✓ Cerrahi dikiş teknikleri (Bunnel, Modifiye Kessler, Korakoff, Tajima, Mason – Allen, Stricland</li> <li>✓ Cerrahi teknik (Lynn, Lindholm, Teuffer, Turco ve Spinella, White ve Kraynick, Bosworth, Abraham ve Pankovich, Wapner)</li> <li>✓ Cerrahi tecrübe</li> </ul>



Tablo 3: Aşil tendon iyileşmesi üzerine intrensek ve ekstrensek faktörler [81]

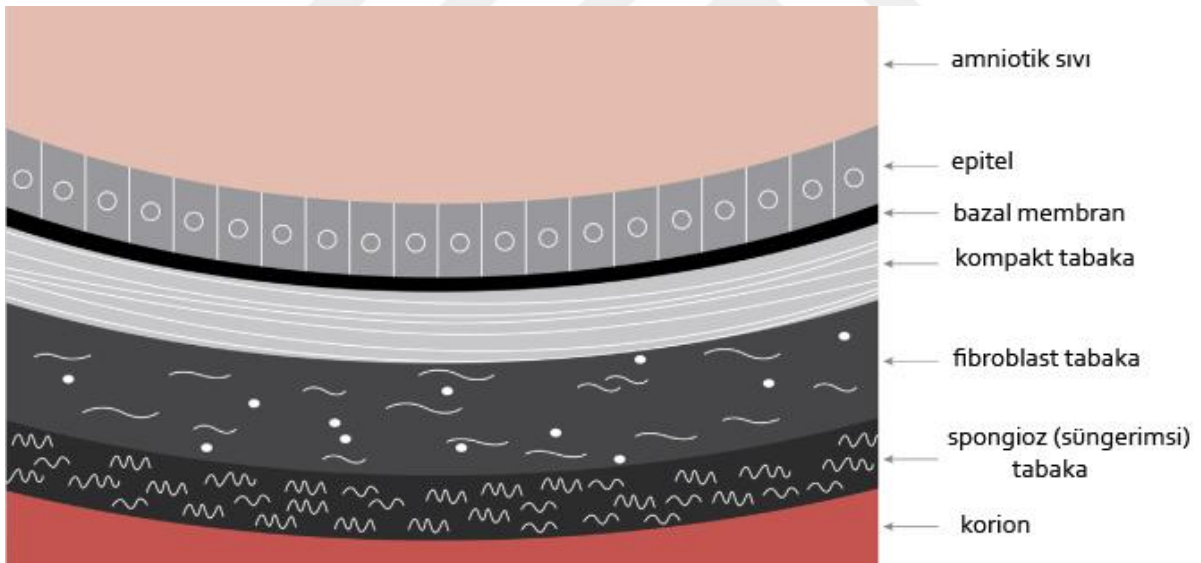
<b>Aşil tendon iyileşmesi üzerine intrensek ve ekstrensek faktörler</b>		
<b>İntrensek faktörler</b>		<b>Ekstrensek faktörler</b>
<b>Genel</b>	<b>Lokal</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Yaş</li> <li>✓ Cinsiyet</li> <li>✓ Ağırlık ve uzunluk</li> <li>✓ A ve 0 kan grubu</li> <li>✓ Metabolik sendromlar</li> <li>✓ Predisbozan hastalıklar</li> <li>✓ Post menopozal dönem</li> <li>✓ Florokinolonlar</li> <li>✓ Azalmış tendon vaskülaritesi</li> <li>✓ Hipertermi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Gastrocnemius-soleus disfonksiyonu</li> <li>✓ Kas güçsüzlüğü ve imbalansı</li> <li>✓ Pes cavus deformitesi</li> <li>✓ Ayak bileği instabilitesi</li> <li>✓ Subtalar hareketin bozulması</li> <li>✓ Ön ayak pronasyonu</li> <li>✓ Varus deformitesi</li> <li>✓ &gt;5 mm ekstremite uzunluk farkı</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Yürüme paterninde değişiklikler</li> <li>✓ Artmış fiziksel aktivite</li> <li>✓ Zayıf cerrahi teknik</li> <li>✓ Ayakkabı tercihi</li> <li>✓ Eğitim düzeyi</li> </ul>

## 2.2. Amniyon Zarı

### 2.2.1. Amniyon Zarının Özellikleri

Amniyon zarı (AM), fertilizasyonu takiben yaklaşık 7 gün sonra morulanın blastokiste geçişi sırasında oluşur. Makroskopik olarak; epitel ve stromal yüzü vardır. Epitel yüzey pürüzsüz, parlak, saydam ve yapışkan değilken stromal yüz mat ve yapışkandır. Mikroskopik olarak bakıldığında amniyon 0.02-0.05 mm kalınlığındadır [82] ve beş farklı tabakadan oluşur:

- (1) epitel (en iç kısım),
- (2) bazal membran,
- (3) kompakt tabaka,
- (4) fibroblast tabaka,
- (5) süngerimsi tabaka.(korion leave ile ilişkilidir ve en dışta bulunur.)



Resim 17: Amniyotik membranın tabakalarını gösteren şematik çizim [83].

En derin epitel, amniyotik sıvı ile doğrudan temas eden tek bir hücre tabakasından oluşur. Bu hücrelerin apikal yüzeyindeki mikrovilliler amniyotik sıvı homeostazında önemli rol oynamaktadır. Bazal membran, retiküler liflerden oluşan ince bir katmandır. Kompakt, fibroblast ve süngerimsi tabakalar amniyotik mezenşim olarak adlandırılır ve blastosistin primer ekstra embriyonik mezoderminden kaynaklanır [83]. Mezenkim, kollajen I-VII ve elastin, laminin, fibronektin ve vitronektin gibi kollajen olmayan proteinleri içerir. Kompakt tabaka yoğun bir fiber ağından oluşur ve neredeyse tamamen hücrelerden arındırılmıştır

[83]. Bu katmanda bol miktarda bulunan I, II ve III kollajen ve elastin amniyona direnç ve elastikiyet kazandırır [83]. Bu özellikler, fetüsün mekanik stres ve kurumadan korunmasına yardımcı olur. Fibroblast tabaka en kalın tabaka olup, bir retikülin matriksi içerisindeki gevşek bir fibroblast ağından oluşur. Süngerimsi tabaka, amniyon ve chorion arasındaki geçiş katmanını temsil eder ve iki tabaka birbirine gevşek yapışıktır [83].

AM, fetüs için su ve çözünebilir materyal nakli, büyüme faktörlerinin sentezi, vazoaktif peptidler ve sitokinler ve amniyotik sıvı pH'sının düzenlenmesi gibi metabolik olarak aktif bir dokudur. Amniyotik epitelyal hücrelerin transforming growth factor-b (TGF-b), bazik fibroblast growth factor (bFGF), epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor-a (TGF-a), keratinosit büyüme faktörü ve hepatosit büyüme faktörüdür, ayrıca, AM'de nerve growth factor (NGF), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), noggin ve aktivin de tespit edilmiştir [84]. Bu biyolojik faktörler epitelde bulunabilir veya mezenşime nakledilebilir ve birikebilirler ve burada amniyonun transplantasyonunu takiben terapötik etkileri olan bir rezervuar görevi görürler [83].

Vasküler, sinir, kas ve lenfatik yapılardan yoksun olmasına rağmen, amniyon metabolik olarak oldukça etkindir [83].

Amniyotik membran (AM) ;

- Epitelizasyonu hızlandıran,
- Yara yüzeyinden protein ve sıvı kaybını önleyen,
- Adhezyon oluşumunu azaltan,
- Antibakteriyel ve non-immünolojik etkiye sahip,
- Fibroblastik aktiviteyi artırarak kollajen sentezine katkıda bulunan,
- Anjiyogenezisi, skar formasyonunu azaltan,
- Ağrı ve enflamasyonu azaltma gibi etkilere sahip,
- Kolay ve çabuk elde edilebilen ve değeri giderek artan bir biyolojik örtüdür [85].

AM'yi kök hücre kaynağı olarak tartışırken, amniyotik epitel hücreleri (AEC'ler) ile amniyotik mezenkimal stromal hücreler (AMSC'ler) arasında ayırım yapmak önemlidir. AEC'ler, sitokeratin gibi epitelyal hücrelerin özelliklerine sahip maternal türevli hücrelerdir. Ayrıca OCT-4, SOX-2, Lefty-A, FGF-4, REX-1, TDGF-1, kripto-1 ve Nanog gibi kök hücre belirteçlerini ifade eder ve her üç germ tabakasına ayrışma kabiliyetine sahiptirler [84]. AMSC ise embriyonik mezodermden türetilir ve hücre olgunlaştığında mezodermi, endoderm ve ektodermden ayırma kabiliyetine sahiptir. AEC'ler tripsin enzimatik sindirimini kullanarak AM'den kolaylıkla çıkarılır [84].

Amniyonla tedavi edilen olgularda tümöral gelişim izlenmemiştir. Lizozomal depo hastalıklarının tedavisinde 50'ye yakın amniyotik kök hücre nakli vakası rapor edilmiş olup, tümör oluşumu bildirilmemiştir. Hayvan modellerinde, AM'den türetilen kök hücrelerle yapılan çalışmalarda, immun suprese edilmiş deneklerde bile malign dönüşüm görülmemiştir [86]. Damarsız yapısı ile immunolojik red cevabına yol açmadığı, epitelinde HLA sınıf I yada II antijen ekspresyonu olmadığından transplantasyon sonrasında immun baskılayıcı sistemik tedavi gerektirmediği görülmüştür [83].

AM hücreleri, bacticidin, b-lizin, transferrin ve 7S immünoglobülin de dahil olmak üzere elafin, lökosit proteinaz inhibitörü, human b3 defensin ve cystatin E gibi antimikrobiyal özelliklere sahip faktörler sekrete ederler [84].

AM'den türetilmiş hücreler, trombospondin-1'in yanısıra metalloproteinaz inhibitörleri TIMP (tissue inhibitors of metalloproteinases) -1, -2, -3 ve -4'ü ifade eder ve hepsi bilinen anti-angiogenik faktörlerdir [86].

Ayrıca; AM greftlerinin öne sürülen avantajlarından birisi de, yara izi olmayan iyileşmeyi destekleme yeteneğidir. TGF- $\beta$ , fibroblastların aktivasyonu yoluyla fibrotik tepkileri indüklediği bilinen solumüle bir faktördür. AM, aynı zamanda, skar oluşumunu azaltarak TGF- $\beta$ 'nin ekspresyonunu inhibe eder. AM'nin mezenkimal kısmındaki hiyalüronik asit TGF- $\beta$ 'nin birincil inhibitörü olduğu düşünülmektedir [87].

### **2.2.2. Amniyon Zarının Cerrahide Kullanımı**

AM yaklaşık 100 yıldır üzerinde çalışılan ve içeriğinde birçok biyoaktif molekül barındıran biyolojik bir örtüdür. AM üzerine ilk çalışmalar 1910 yılında Davis tarafından yapılmıştır ve deri defektlerinin kapatılmasında greft materyali olarak kullanılmıştır.

Ortopedide periferik sinir anastomozlarında, tendon adezyonlarının önlenmesi ve iyileşmeye etkisinin araştırılmasında, artritlik eklemlerde interpozisyon artroplatisinde üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Spor hekimliğinde kıkırdak restorasyonu, ligaman ve tendon iyileşmesi, diz osteoartritinin nonoperatif tedavisi ve plantar fasiit üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır [84].



Tablo 4: Ortopedi dışı branşlarda amniyon zarı kullanım alanları

Ortopedi dışı branşlarda amniyon zarı kullanım alanları			
GÖZ	GENİTO ÜRİNER SİSTEM	KULAK BURUN BOĞAZ	
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Symblepharon tamiri</li> <li>✓ Kimyasal ve termik bulbus oküli yanıkları</li> <li>✓ Korneal yüzey defektleri, perforasyonlar ve ülserler</li> <li>✓ Sympatic Bullous Keratopatı</li> <li>✓ Band Keratopatı</li> <li>✓ Nüks eden Pterygium</li> <li>✓ Oküler skatrisyel Pemphigoid ve Steven-Johnson sendromu</li> <li>✓ Parsiyel Limbal Stem-Cell yetersizliği</li> <li>✓ Glokom cerrahisi ve trabekulektomi sonrası hava kabarcığı filtrasyonlarının önlenmesi</li> <li>✓ Konjunktival skar revizyonu</li> <li>✓ Genis oküler yüzey neoplazilerinin eksizyonları</li> <li>✓ Kronik alerjik kerato-konjunktivitisler</li> <li>✓ Herpetik ve nörotrofik keratitiser</li> <li>✓ Acanthomoeba keratitisi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ İdrar kesesi rekonstrüksiyonunda</li> <li>✓ Üretra rekonstrüksiyonunda</li> <li>✓ Vagina rekonstrüksiyonunda</li> <li>✓ Vulva rekonstrüksiyonunda</li> <li>✓ Ovarium ve uterus adezyonlarının önlenmesi</li> <li>✓ Ovarium ve uterus defektlerinin tamirinde</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Trakeal epitelizasyonun sağlanması</li> <li>✓ Membrana tympani rekonstrüksiyonu</li> <li>✓ Vestibuloplasti operasyonu sonrası yüzeylerin kapatılması</li> <li>✓ Oral kavite rekonstrüksiyonu</li> </ul>	
			<b>NÖROŞİRURJİ</b>
			<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Spinal kord yaralanmaları</li> <li>✓ Meningomyelose l olgularının tamirinde</li> <li>✓ Dura tamirinde</li> </ul>
		<b>ABDOMİNAL CERRAHİ</b>	<b>PLASTİK VE REKONSTRÜKTİF CERRAHİ</b>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Dalak yırtıkları ve karın duvarı defektlerinin tamiri</li> <li>✓ Abdominal adezyonların önlenmesi</li> <li>✓ Safra yolları rekonstrüksiyonu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Doku kayıplı ve enfekte yaraların sağaltımı</li> <li>✓ Yanıkların tedavisi</li> <li>✓ Kronik iyileşmeyen ekstremitte yaralarının tedavisi</li> <li>✓ Mastektomi sonrası yüzeylerin doldurulması</li> </ul>

### 2.2.3. Amniyon Zarının Hazırlanması

Tıbbi geçmişi bilinen, elektif sezaryan cerrahisi geçiren ve serolojik testlerinde HIV 1/2, hepatit B, hepatit C, human T-cell lymphotropic virus (HTLV), sifiliz, bruselloz, CMV ve tüberküloz negatif donörlerden alınan plasentadan künt diseksiyonla sıyrılan AM kullanılır [88]. Deepitelizasyon işlemi, mekanik sıyırma veya kimyasallara maruz bırakma ile gerçekleştirilebilir. Nörotransmitterler, nörotrofik faktörler ve nöropeptitler epitelde yoğunlaşmaktadır ve bu nedenle bozulmamış epitelyumlu amniyon sinir yaralanmasına uygulandığında üstün olabilmektedir [83]. Membran mimarisi ve büyüme faktörü profili, bir numunenin hangi amniyon bölgesinden kaynaklandığına bağlı olarak değişebilir [89].

Taze AM, penisilin ve streptomisin ihtiva eden fosfat tamponlu salin içinde yıkanır ve 4 °C'de saklanır. Yıkama işlemi sırasında amfoterisin B ve HIV bulaşma riskini elimine etmek için %0.025'lik sodyum hipoklorit solüsyonu eklenebilir.

Kriyoprezervasyon ve dondurarak kurutma (liyofilizasyon) da dahil olmak üzere çeşitli koruma teknikleri mevcuttur. Kriyoprezervasyon, AM greftlerin -80°C'de gliserol veya dimetil sülfoksit (DMSO) gibi bir kriyoprotektan ile uzun süreli depolanmasını içerir [84]. Kriyoprezervasyon, özellikle bazı gelişmekte olan ülkelerde bazı kurumlar için kullanılamayacak pahalı ekipman gerektirir [83]. Dondurarak kurutma (liyofilizasyon); dondurulmuş suyun doğrudan katıdan gaz fazına dönüşmesini sağlayacak ortam basıncını düşürerek, AM dokusunun içerdiği suyu bırakmasıyla sağlanır [84].

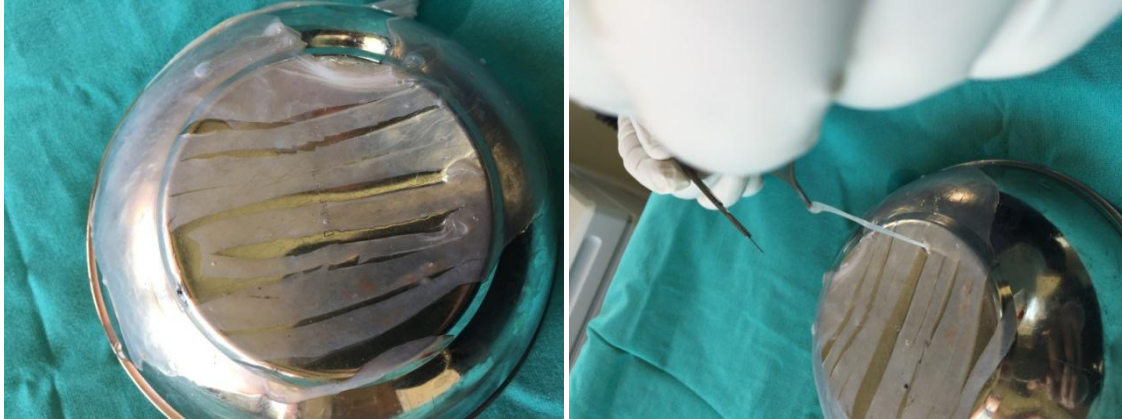
Niknejad ve ark. yaptıkları bir çalışmada, kriyoprezervasyon ve liyofilizasyonun AM greftler üzerindeki etkilerini karşılaştırmışlar. Dondurulmuş ve liyofilize edilmiş AM'in her ikisi de, taze AM'ye göre başarısızlığa ve gerilim ve uzama yönünden dezavantaja sahiptir. Buna ek olarak, liyofilize AM greftler taze ve kriyoprezervasyon AM'den daha incedir ve daha kırılmandır. Bununla birlikte, tüm greft tipleri benzer suture tutma özelliklerine sahiptir. Mikroskopik seviyede, liyofilizasyonla greftin korunması, tip I ve III kollajen, fibronektin ve laminin düzeylerinde azalma ile kompakt tabakanın inceltmesine veya bozulmasına neden olmuştur. Bazal membran kriyoprezervasyon ve liyofilizasyon ile iyi korunmuştur.

Nakamura ve ark. yaptığı çalışmada ise liyofilize, gama ışınlarına maruz bırakılmış ve kriyoprezervasyonlanmış membranlar arasında gerilme özellikleri, doku yapısı veya ECM bileşiminde önemli bir fark olmadığını bildirmiştir.

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Amniyon Zarının Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak olan AM, elektif sezaryen cerrahisi öncesi tıbbi geçmişi bilinen ve serolojik testlerinde HIV 1/2, hepatit B, hepatit C, human T-cell lymphotropic virus (HTLV), sifiliz, bruselloz, CMV ve tüberküloz negatif bireyden steril şartlar altında alınan plasentadan künt diseksiyonla sıyrılarak alındı. Laminar akım altında kan pıhtıları ve doku artıkları temizlendi ve penisilin 50 µg/ml, streptomisin 50 µg/ml, neomisin 100 µg/ml, amfoterisin B 2,5 µg/ml içeren fosfat tamponlu steril fizyolojik tuzlu suya konuldu. AM solüsyon içinde +4 C' de 24 saat bekledikten sonra taze AM hazırlama prensiplerine uygun olarak kullanıldı.



Resim 18: Cerrahi işlemler sırasında kullandığımız taze amniyotik membran



### 3.2. Denekler – Anestezi ve Cerrahi İşlem

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığından 2015/61 karar numarası ile 30/11/2015 tarihinde alınan etik kurul onayı ve RTEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TTU-2016-667 BAP proje koduyla proje desteği alındıktan sonra Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ) Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Deney Hayvanları Uygulama Ünitesi'nden temin edilen, aynı merkezde bakım ve cerrahi işlemleri yapılan 35 adet erkek 300 – 325 gr ağırlığında 7-8 aylık erkek ratlar çalışmaya dahil edildi.



Resim 19: Çalışmada kullanılan ratların alışma sürecinde kafeslerinde görünümü

Hayvanlarda korku ve stres ortamı oluşturulmaması amacıyla tüm hayvanlara 3 günlük alışma süreci sonunda işleme başlandı. Preop ve postop dönemde yem olarak pelet tam sığan yemi (Bayramoğlu Yem ve Un Sanayi / ERZURUM) kullanıldı ve suları daima serbest bırakılmış (ad libitum) olarak verildi ve günlük olarak değiştirildi. Tüm hayvanlar steril, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık deney hayvanları ünitesi ortamında, % 55-60 nem oranı ve  $22\pm 3$  C° oda sıcaklığında bakım ve beslenmeye tabii tutuldu.

Hayvanlar randomize şekilde 7 şerli 5 gruba ayrıldı. Tüm hayvanların sol alt ekstremiteleri kullanıldı.

Tablo 5: Denek grupları

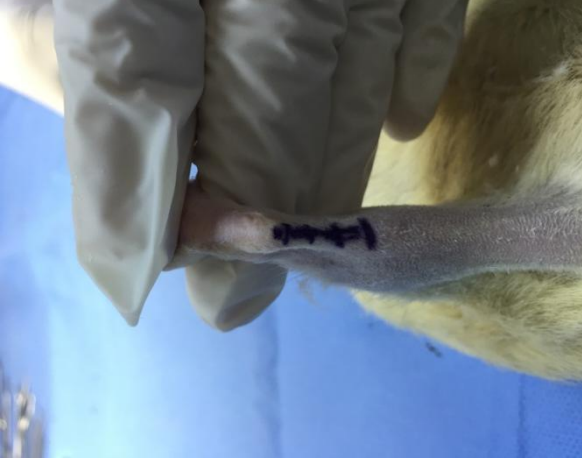
Grup Adı	Cerrahi işlem	Denek Sayısı
<b>Grup 1</b> Parsiyel kesi + primer tamir	Parsiyel kesi uygulanıp modifiye kessler suturla primer tamir yapıldı	7
<b>Grup 2</b> Parsiyel kesi +AM ile tedavi	Parsiyel kesi uygulanıp tendon tamiri yapılmadan tendon etrafına AM sarıldı ve sarılan zar tespit amaçlı tendon proksimaline suture edildi	7
<b>Grup 3</b> Parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi	Parsiyel kesi sonrası modifiye kessler suturla primer tamir yapıldı ek olarak tendon etrafına AM sarıldı ve tendon proksimaline suture edildi	7
<b>Grup 4</b> Parsiyel kesi + sekonder iyileşme	Parsiyel kesi sonrası tendon tamiri yapılmaksızın sekonder iyileşmeye bırakıldı	7
<b>Grup 5</b> Kontrol	Hiçbir işlem uygulanmadı, tendon iyileşme süreci sonunda kontrol grubu olarak kullanılması planlandı	7

Cerrahi anestezi olarak, 50mg/kg ketamin HCl (Ketasol %10, Richter Pharma AG, Wels-Austria), 5 mg/kg Xylazine HCl (Rompun %2, Bayer İlaç Sanayi, İstanbul) aynı enjektör içinde kombine olarak intraperitoneal yol ile uygulandı, tüm denekler aynı cerrah tarafından opere edildi.

Cerrahi öncesi sterilizasyonu sağlamak amacıyla AT kesisi yapılacak ratların sol alt ekstremiteleri tamamen betadin (%10 Povidone iodine) solüsyonu ile temizlenilip çift kat yeşil ile örtüldü. AT medialinden yaklaşık 2 cm lik kalkaneusa uzanan posteromedial longitudinal insizyon yapıldı. İnsizyon tendon kılıfına kadar keskin olarak devam ettirildi ve subkutan diseksiyon yapmadan tendon kılıfı ciltaltı doku ile birlikte kaldırıldı. Lateral ve mediale iğne ekartörler yerleştirilerek cerrahi çalışma sahası açıldı, moskito yardımı ile tendon açığa çıkarıldı. Parsiyel kesi yapıp tamir edilmesi planlanan tendon uçları 5.0 emilmeyen dikiş materyali kullanılarak Modifiye Kessler metodu ile suture edildi. AM ile tamir planlanan grup 6.0 vicryl ile suture edildi. Cilt 5.0 atravmatik ipek ile suture edildi. Pansuman yapılarak operasyona son verildi ve flaster tespiti yapıldı.



Resim 20: Cerrahi öncesi traş



Resim 21: Cerrahi öncesi insizyon hattının belirlenmesi



Resim 22: Cerrahi öncesi antisepti



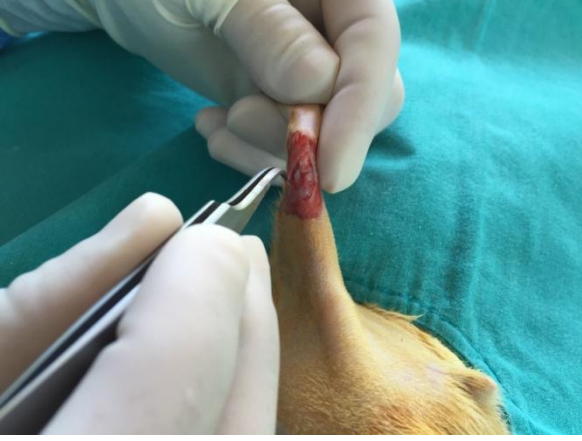
Resim 23: Cilt insizyonu sonrası tendonun açığa çıkarılması



Resim 24: Plantar ve aşil tendonun ayrılması



Resim 25: Primer tendon tamiri yapılmış gruba örnek



Resim 26: Amniyon zarıyla tamir yapılmış gruplara örnek



Resim 27: Cerrahi sonunda cilt insizyonu

Cerrahi sonunda tek doz intraperitoneal 40mg/kg sefazolin sodyum uygulandı, ek olarak herhangi bir ilaç uygulanmadı. Postoperatif dönemde ratlara immobilizasyon yöntemi uygulanmadı. Denekler cerrahi işlem sonrası 60 gün kafes içinde aktif mobilizasyona izin verilerek takip edildi, takip süresi sonunda anestezi altında dekapitasyonla sakrifiye edilerek AT leri çıkartıldı ve histolojik inceleme sürecine geçildi.





Resim 28: Dekapitasyon sonrası cildin sıyrılması



Resim 29: Dekapitasyonu takiben çıkarılmış aşil tendonu

### 3.3. Histopatolojik İnceleme

#### 3.3.1. Histopatolojik Takip Prosedürü

Sıçanlardan alınan tendon dokusuna %10 formalin solüsyonunda 48 saat boyunca fiksasyon işlemi uygulandı. Fiksasyon aşamasından sonra dokular sırası ile artan etil alkol serisi ile su çekme işlemi, ksilol ile şeffaflaştırma işlemleri uygulandı ve son olarak parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 4-5µm kalınlığındaki kesitler mikrotom (Leica RM2125-Almanya) ile alındıktan sonra Harris'in hemotoksilen ve eosin G (H&E) boyası ile boyandı. Boyanan preparatlar ışık mikroskobu altında (Leica DM6200-Germany) incelendi ve Olympus DP20 kamerası ile fotoğrafları çekildi.

### 3.3.2 Semi-Kantitatif Analiz

Çalışmamızda tendon hasarı Tang ve arkadaşlarının adhezyon skorlaması metodu uygulanarak değerlendirildi. Hematoksilen ve eozin (H&E) boyanmış preparatların ölçüm sınırları bağımsız olarak 2 farklı histopatolog tarafından belirlendi ve kamera (Olympus DP20, Olympus Corporation, Tokyo, Japonya) yerleştirilmiş bir ışık mikroskobu (Leica DM6200, DM6200, Mannheim, Almanya) ve Olympus DP2-BSW yazılımlı bir bilgisayardan oluşan ölçüm sistemiyle değerlendirildi.

Tablo 6: Adhezyon skorlaması tablosu [90]

Skor	Adezyonun Özelliği
	<b>Dağılık Kollajen Fibrillerin Miktarı</b>
0	Adezyon gözlenmedi
1	Az
2	Orta
3	Çok
	<b>Kollajen Fibrillerin Düzeni</b>
0	Adezyon gözlenmedi
1	Düzenli, ince uzun, ince, ipliksi
2	Düzensiz, karışık, kısa, ipliksi
3	Yoğun, ipliksi olmayan
	<b>Adezyonun Seviyesi</b> <b>(Tang ve ark. 1996)</b>
<b>Skor Toplamı</b>	
0	<b>Yok</b>
2	<b>Hafif</b>
3-4	<b>Orta</b>
5-6	<b>Şiddetli</b>

### 3.3.3 İmmunohistokimya (İHC) Analiz Prosedürü

Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2125RT, Almanya) ile kesilen 3 µm'lik kesitler (poly-L-lisine, Isolab, Almanya) lamlar üzerine alındı. Bu kesitler tendon dokusu hücrelerindeki MMP-2 (Rabbit polyclonal, Abcam, Birleşik Krallık), MMP-9 (Rabbit polyclonal, Abcam, Birleşik Krallık) ve VGF (Rabbit polyclonal to VGF, Abcam, Birleşik Krallık) ekspresyonlarını belirlemek amacıyla İHC yöntemiyle boyandı. Görüntüleme kiti olarak DAB detection kiti (RP/DAB (ABC) Detection IHC Kit, Abcam, Birleşik Krallık) kullanıldı.

Çalışmamızda preparatlar deparafinizasyon işlemine alındı. Bu amaçla oda ısısında üç kere 5 dakikalık ksilolde bekletildi. Daha sonra preparatlar birer kere de 5'er dakikalık sırasıyla % 80, % 90 ve absölu alkolde (etanol) inkübasyonları yapıldı. Distile su içerisinde 5 dakika yıkanmasını takiben sitrat tampon solüsyonu (pH=6) ile mikro dalga fırında 5x3 (15 dk) antijen retrieval işlemine tabi tutuldu. On beş dakika oda ısısında beklendi. Beş dakika fosfat tampon solüsyonu (Phosphate Buffered Saline – PBS, pH=7.4)da yıkandı. On dakika boyunca % 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile inkübe edildi. Beş dakika PBS de yıkandı. PBS tamponunda yıkamanın ardından MMP-2, MMP-9 ve VGF primer antibodylerinde 60 dakika bekletildi. PBS de tekrar 5 dakika yıkandı. DAP-KROMOJEN de 9 dakika bekletildi. Distile suda iyice yıkandı. Zıt boyama için Mayer'in hematoksileni ile 3 dakika boyanan lamlar akarsuda yıkanarak su bazlı kapatma ortamı ve lamel ile kapatıldıktan sonra Olympus DP20 (Olympus Corporation, Tokyo, Japonya) marka dijital kamera ataçmanlı ışık mikroskop (Leica DM6200, Mannheim, Almanya) altında incelenerek fotoğraflandı.

MMP-2, MMP-9 ve VGF pozivite değerlendirmesi iki histolog tarafından 0-4 arası kör derecelendirme yapılarak değerlendirildi. Değerlendirmede 0: normal, 1: hafif, 2: orta, 3: orta-ileri, 4: ileri derece dejenerasyon olarak belirlendi.

### 3.4. İstatistiksel İnceleme

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvar'ında semi-kantitatif analiz sonucu elde edilen veriler SPSS 20.00 (IBM, New York, A.B.D.) programı kullanılarak hesaplandı. Veriler ortalama, standart sapma (SD), median, minimum ve maksimum değerler olarak kaydedildi. Grup içerisindeki karşılaştırmalar ve gruplar arası karşılaştırmalarda gruplar arasında karşılaştırılması, Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U non-parametrik testler kullanılarak yapıldı. Tüm ölçümlerde p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.



#### 4. BULGULAR

Deneysel çalışmamızda planlanan 5 grup için toplam 35 adet ratın sol AT değerlendirilmeye alındı. Çalışmamızda tendon hasarı Tang ve arkadaşlarının adhezyon skorlaması metodu uygulanarak değerlendirildi. Hematoksilen ve eozin (H&E) boyanmış preparatların ölçüm sınırları bağımsız olarak iki farklı histopatolog tarafından belirlendi ve kamera (Olympus DP20, Olympus Corporation, Tokyo, Japonya) yerleştirilmiş bir ışık mikroskobu (Leica DM6200, DM6200, Mannheim, Almanya) ve Olympus DP2-BSW yazılımlı bir bilgisayardan oluşan ölçüm sistemiyle değerlendirildi.

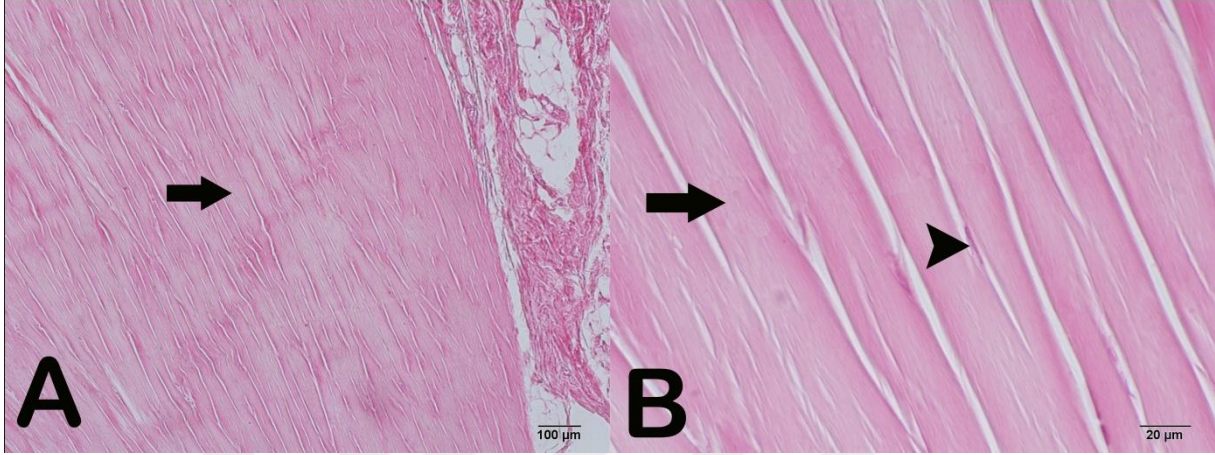
Tablo 6: Adhezyon skorlaması tablosu [90]

Skor	Adezyonun Özelliği
	<b>Dağınık Kollajen Fibrillein Miktarı</b>
0	Adezyon gözlenmedi
1	Az
2	Orta
3	Çok

	<b>Kollajen Fibrillerin Düzeni</b>
0	Adezyon gözlenmedi
1	Düzenli, ince uzun, ince, ipliksi
2	Düzensiz, karışık, kısa, ipliksi
3	Yoğun, ipliksi olmayan
Skor Toplamı	<b>Adezyonun Seviyesi</b> (Tang ve ark. 1996)*
0	Yok
2	Hafif
3-4	Orta
5-6	Şiddetli

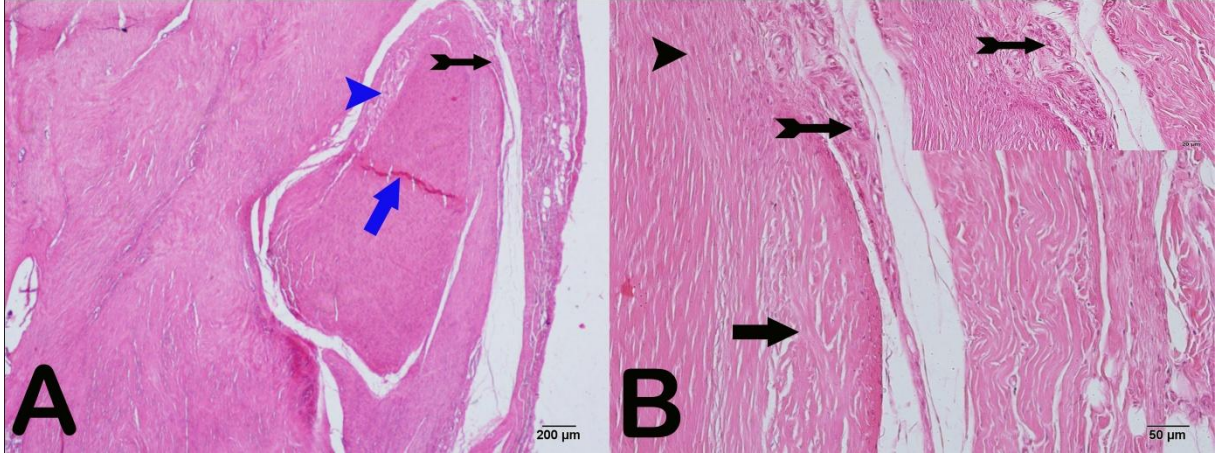
#### 4.1. Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubunun (grup 5) histopatolojik yönden ışık mikroskopik incelenmesinde, dokunun histolojik yapısının normal görünümde olduğu ve kollajen fibrillerin düzenli yapıda olduğu izlendi.



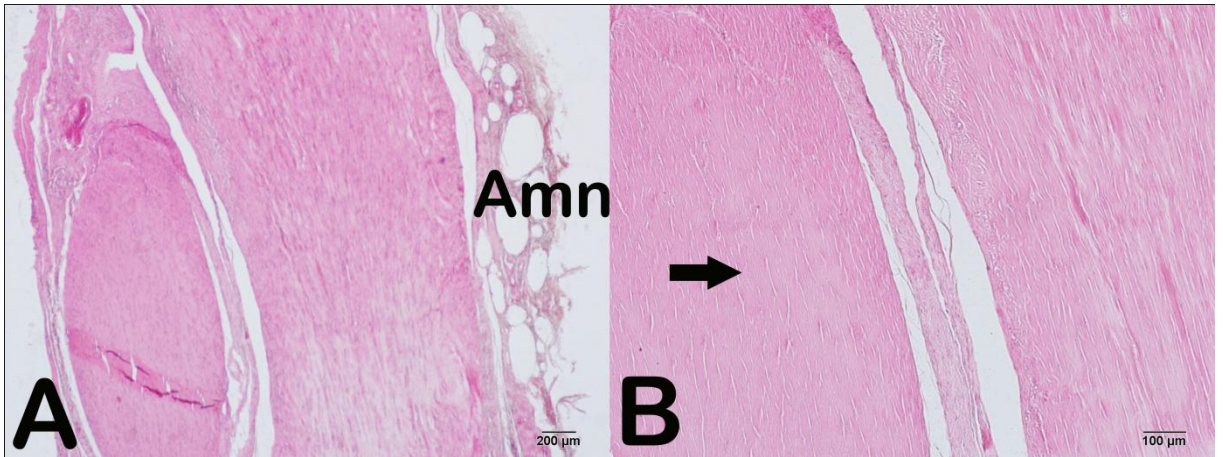
Resim 30: Kontrol grubuna (grup 5) ait tendon dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. A. Normal yapıdaki kollajen fibriller (ok ) x200 B. Düzenli yapıdaki kollajen fibrilleri (ok). Normal yapıdaki tendosit çekirdek yapısı (ok başı).

Parsiyel kesi + primer tamir grubunun (grup 1) ışık mikroskopik değerlendirmesinde kontrol grubundan (grup 5) farklı olarak; tendonda adhezyon gözlenmekle beraber, ödem ve lökosit infiltrasyon alanlarının görüldüğü tespit edildi. Kollajen liflerinin organizasyonlarının bozularak düzensiz ve dağınık yapıda olduğu izlendi. Fibroblastların çekirdek yapılarının yuvarlak olduğu gözlemlendi.



Resim 31: Parsiyel kesi + Primer tamir grubuna (grup 1) ait tendon dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. A. Adezyon (mavi ok). Ödem alanları (mavi ok başı). Lökosit infiltrasyonu (kuyruklu ok). x40 B. Lökosit infiltrasyonu (kuyruklu ok). Düzensiz ve dağınık yapıdaki kollagen fibrilleri (ok). Yuvarlak şekilli fibroblast çekirdek yapıları (ok başı). x200. H&E.

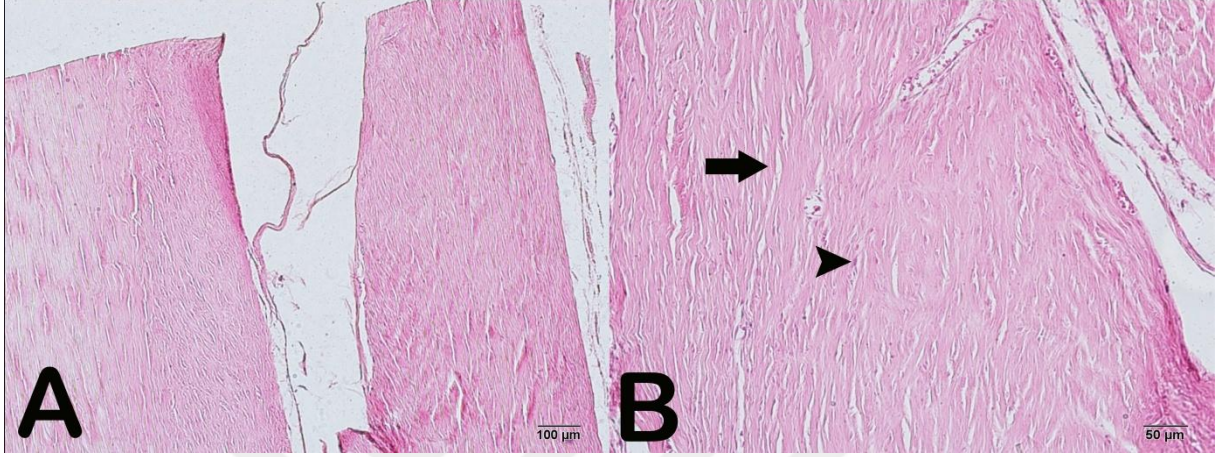
Parsiyel kesi + AM ile tedavi grubunun (grup 2) ışık mikroskopik değerlendirmesinde, tendon dokusunun genel yapısının parsiyel kesiden etkilendiği ve morfolojik olarak bozulduğu gözlemlendi. Kontrol grubuyla (grup 5) kıyaslandığında hücrelerde dejenerasyonların hafif derecede gözlenmesine karşın, parsiyel kesi + primer tamir (grup 1) grubundan daha az olduğu belirlendi. Fibroblastların sayısı ve nükleuslarının normal yapıda olduğunu saptandı.



Resim 32: Parsiyel kesi + amniyon zarıyla tedavi grubuna (grup 2) ait tendon dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. A. Amniyon zarı (Amn). x40 B. Düzenli ve normal yapıdaki kollagen fibrilleri (ok).

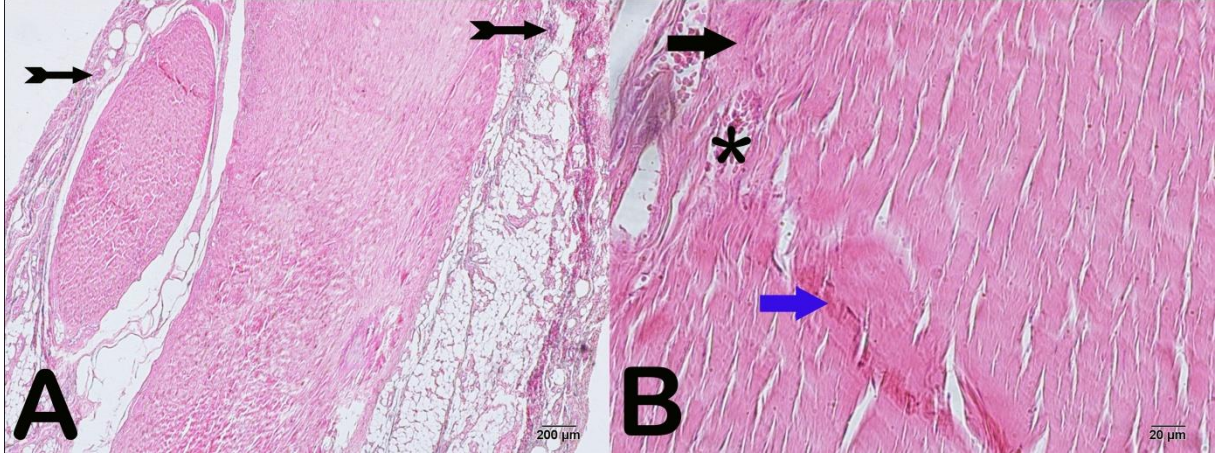


Parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi grubunun (grup 3) ışık mikroskopik değerlendirmesinde; tendon dokusunun genel yapısının parsiyel kesiden etkilenmesine rağmen kollajen fibrillerin organizasyonunda hafif derecede bozulma olmakla beraber düzenli yapısının korunduğunu izlendi. Fibroblastların sayı ve şekillerinin normal yapıda olduğu gözlemlendi.



Resim 33: Parsiyel kesi + primer tamir + amniyon zarıyla tedavi grubuna (grup 3) ait tendon dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. A. x40 B. Düzenli yapıdaki yapıdaki kollajen fibrilleri (ok). Fibroblast çekirdek yapıları (ok başı).

Parsiyel kesi + sekonder iyileşme (grup 4) grubunun ışık mikroskopik değerlendirmesinde kontrol grubundan (grup 5) farklı olarak; tendonda ileri derecede dejenerasyon ve adhezyon gözlenmekle beraber, ödem ve lökosit infiltrasyon alanlarının görüldüğü tespit edildi. Özellikle kollajen liflerinin organizasyonlarının bozularak düzensiz ve karışık yapıda olduğu izlendi. Bağ dokusunda ödematoz alanların yanında vasküler konjesyon gözlemlendi.



Resim 34: Parsiyel kesi + sekonder iyileşme (grup 4) grubuna ait tendon dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. A. Lökosit infiltrasyonu (kuyruklu ok). x40 B. Düzensiz ve karışık yapıdaki kollagen fibrilleri (ok). Vasküler konjesyon (asterisk).

#### 4.2. İmmunohistokimyasal (İHC) Bulgular

Tablo 7: MMP-2 İHC Skorlama Analiz Sonuçları (Median±Standart Sapma)

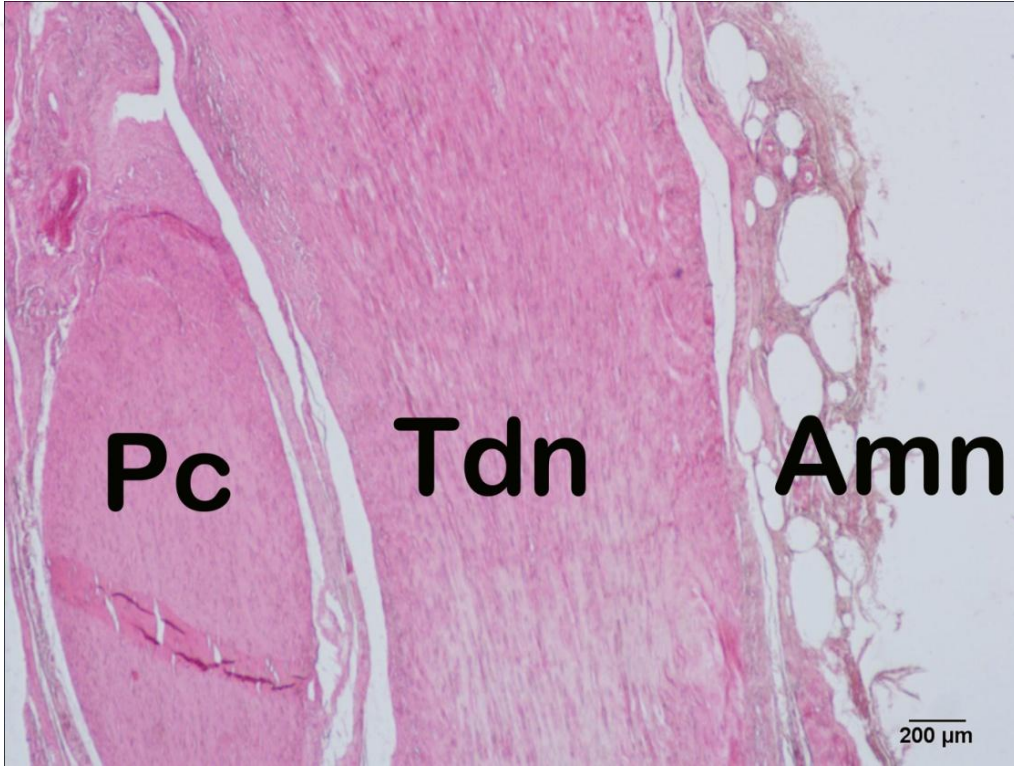
Grup Adı	MMP-2 pozivitesi
<b>Grup 1</b> Parsiyel kesi + Primer tamir	2.00±0.75 <sup>a</sup>
<b>Grup 2</b> Parsiyel kesi + AM	2.00±0.52 <sup>b</sup>
<b>Grup 3</b> Parsiyel kesi + Primer tamir + AM	2.00±0.75 <sup>b</sup>
<b>Grup 4</b> Parsiyel kesi + Sekonder iyileşme	0.5±0.55 <sup>b</sup>
<b>Grup 5</b> Kontrol	0.00±0.41 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Kontrol grubuna kıyasla p<0.05

<sup>b</sup>Kontrol grubuna kıyasla p>0.05

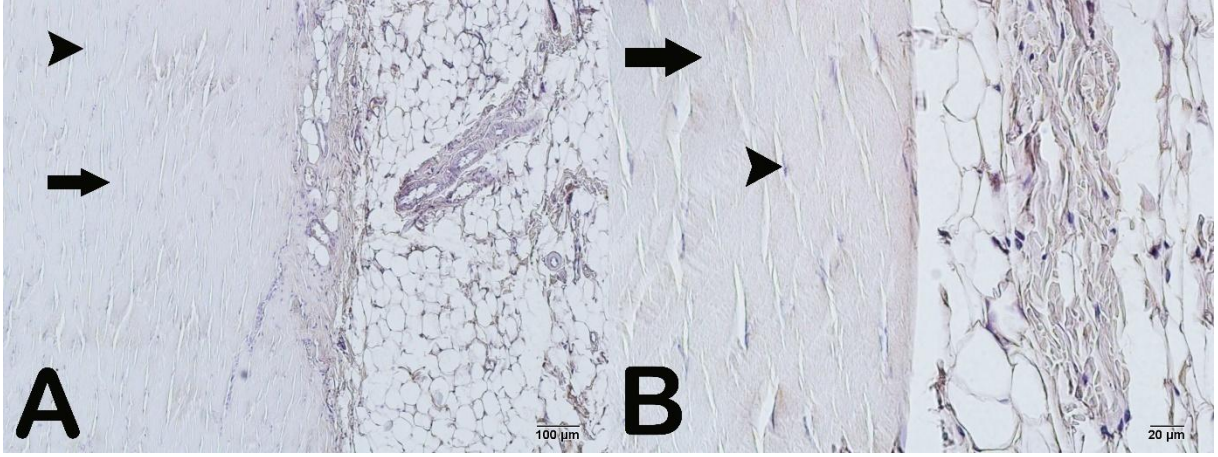
<sup>c</sup>Parsiyel kesi + Primer tamir + AM p>0.05

- MMP-2 pozitifitesi parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi (grup 3) grubunda kontrol grubuna (grup 5) kıyasla artmıştır ( $p<0.05$ ).
- Parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi (grup 3) ile parsiyel kesi + AM ile tedavi (grup 2) arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p>0.05$ ).
- Parsiyel kesi + primer tamir grubunun (grup 1) MMP-2 pozitifitesi kontrol grubuna (grup 5) kıyasla anlamlı olarak artmıştır ( $p<0.05$ ).
- Parsiyel kesi + primer tamir grubu (grup 1) ile parsiyel kesi + sekonder iyileşme (grup 4) grubu arasında anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

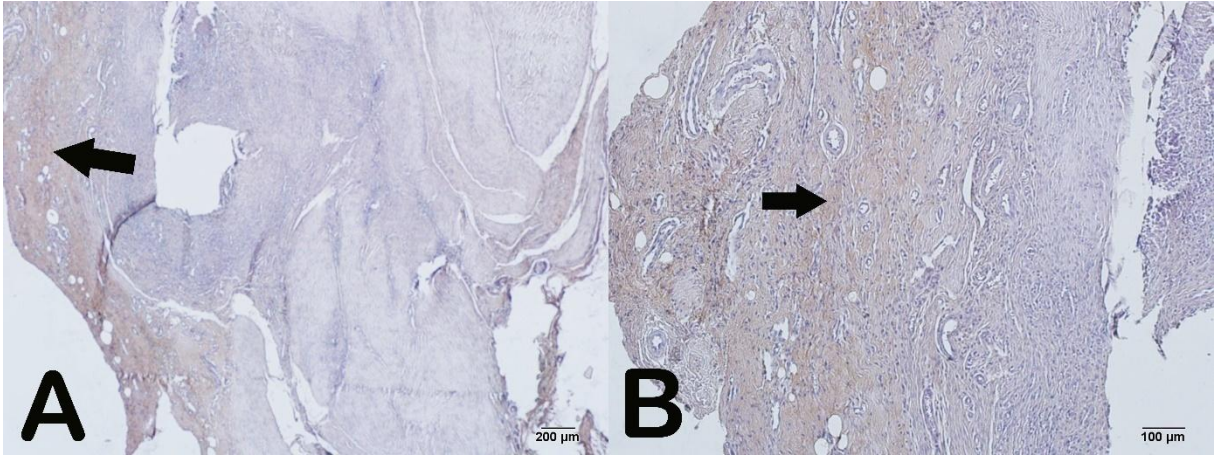


Resim 35: Parsiyel tendon hasarı ve amniyon zarı uygulamasının histolojik görüntüsü. Pc: parsiyel kesi, Tdn: tendon, Amn: amniyotik membran

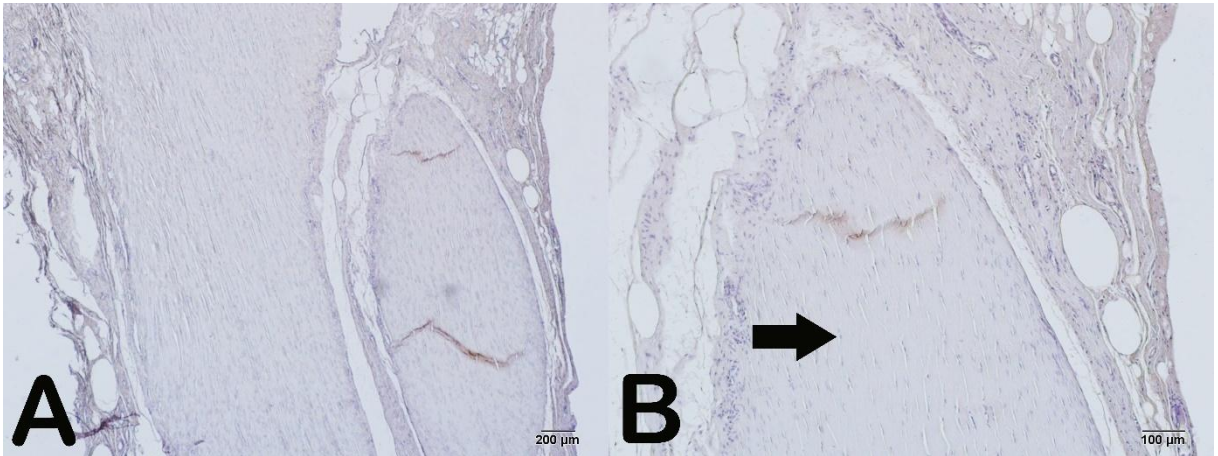




Resim 36: Kontrol grubu (grup 5) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.**X100. **B.** Tendosit çekirdek yapısı (ok başı). Düzenli kollajen fibriller (ok). x400. MMP-2.

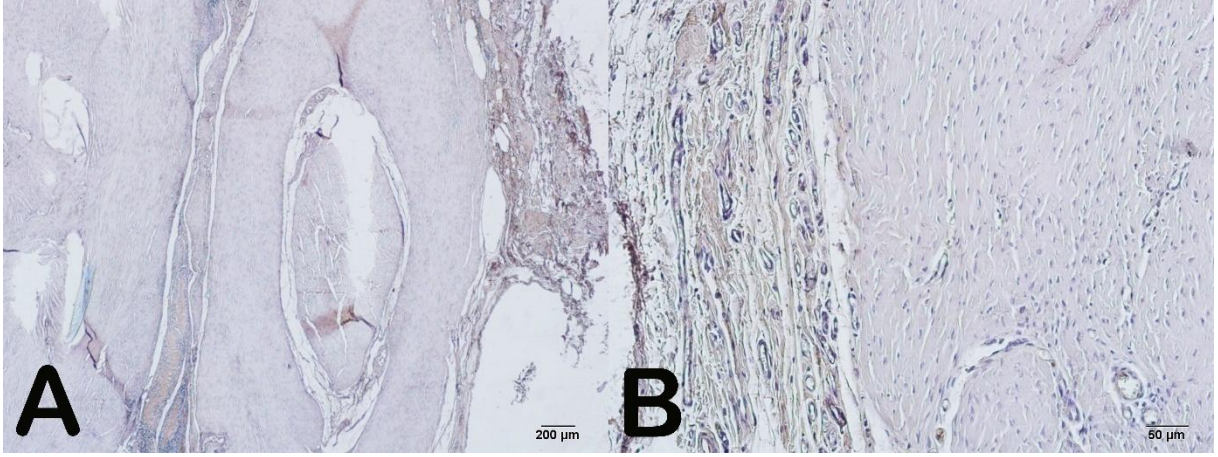


Resim 37: Parsiyel kesi + primer tamir grubu (grup 1) yoğun MMP-2 pozitivitesi gösteren tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** Tendosit çekirdek yapısı (ok) x100. MMP-2.

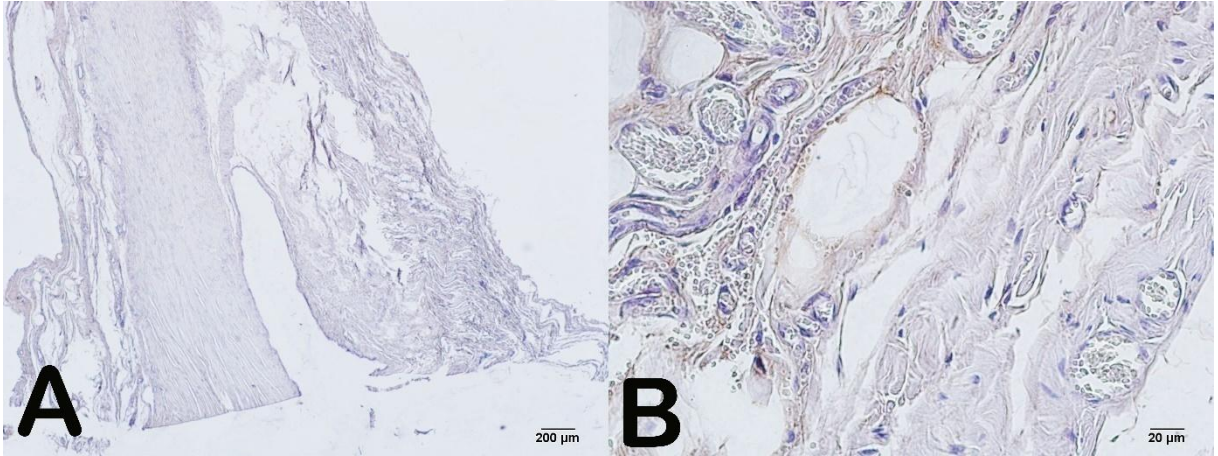


Resim 38: Parsiyel kesi + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 2) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** Tendosit çekirdek yapısı (ok) x100. MMP-2.





Resim 39: Parsiyel kesi + primer tamir + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 3) yoğun MMP-2 pozitivitesi gösteren tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** x200. MMP-2.



Resim 40: Parsiyel kesi + sekonder iyileşme grubu (grup 4) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** x400. MMP-2.



Tablo 8: MMP-9 İHC Skorlama Analiz Sonuçları (Median±Standart Sapma)

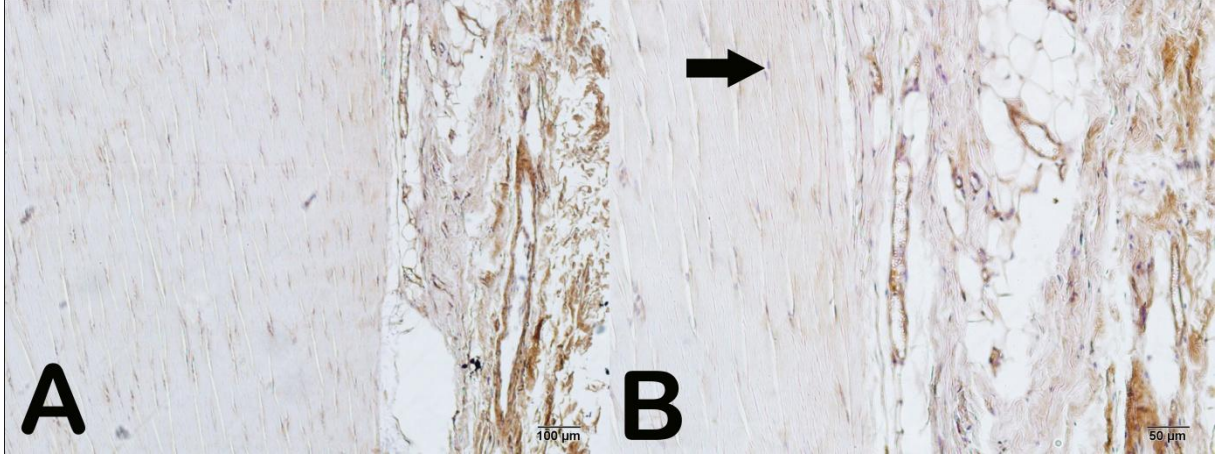
Grup Adı	MMP-9 pozitivitesi
<b>Grup 1</b> Parsiyel kesi + Primer tamir	3.00±0.41 <sup>a</sup>
<b>Grup 2</b> Parsiyel kesi + AM	1.50±0.54 <sup>b,c</sup>
<b>Grup 3</b> Parsiyel kesi + Primer tamir + AM	1.00±0.00 <sup>b</sup>
<b>Grup 4</b> Parsiyel kesi + Sekonder iyileşme	2.00±0.41 <sup>a</sup>
<b>Grup 5</b> Kontrol	1.00±0.63 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>Kontrol grubuna kıyasla p<0.05

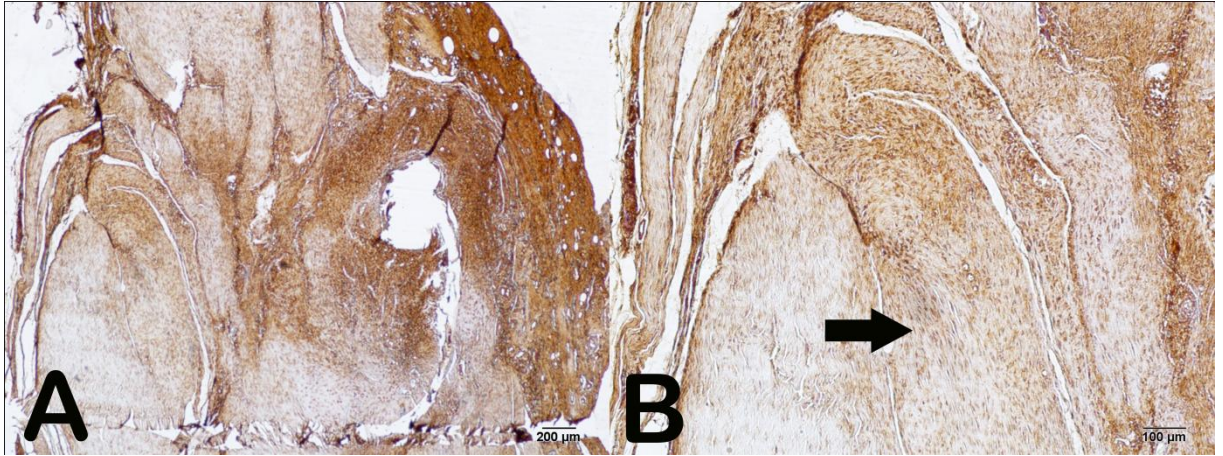
<sup>b</sup>Kontrol grubuna kıyasla p>0.05

<sup>c</sup>Parsiyel kesi+Primer tamir grubuna kıyasla p<0.05

- MMP-9 pozitivitesi parsiyel kesi + primer tamir (grup 1) grubunda kontrol grubuna (grup 5) kıyasla artmıştır (p<0.05).
- Parsiyel kesi + primer tamir grubu (grup 1) ile parsiyel kesi + sekonder iyileşme (grup 4) arasında anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05).
- Parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi (grup 3) grubu ile kontrol grubu (grup 5) kıyaslamasında anlamlı bir fark gözlenmedi (p>0.05).
- Parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi (grup 3) grubu ile parsiyel kesi + AM ile tedavi (grup 2) grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (p>0.05)

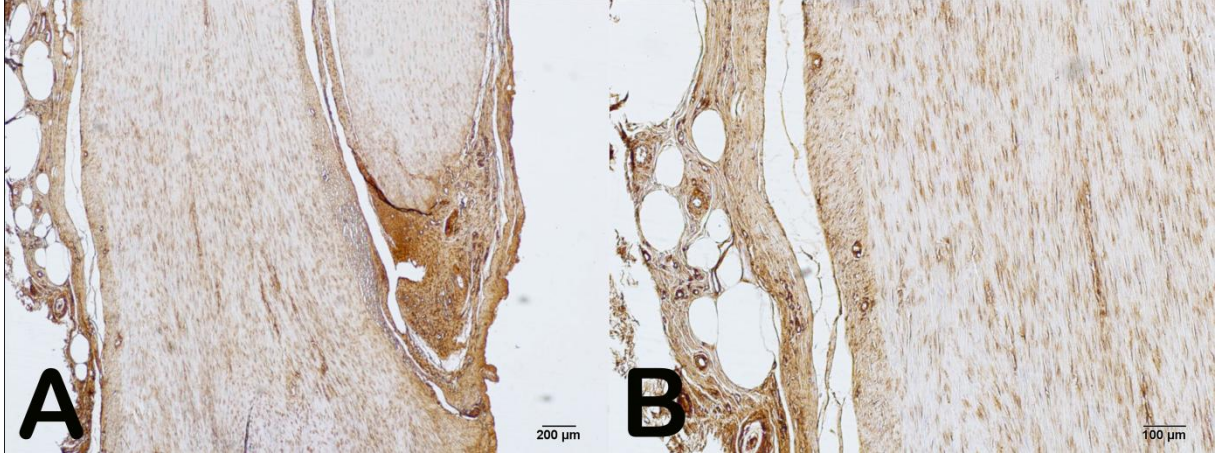


Resim 41: Kontrol grubu (grup 5) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** X100. **B.** MMP-9 negatif tendinosit (ok) x200. MMP-9.

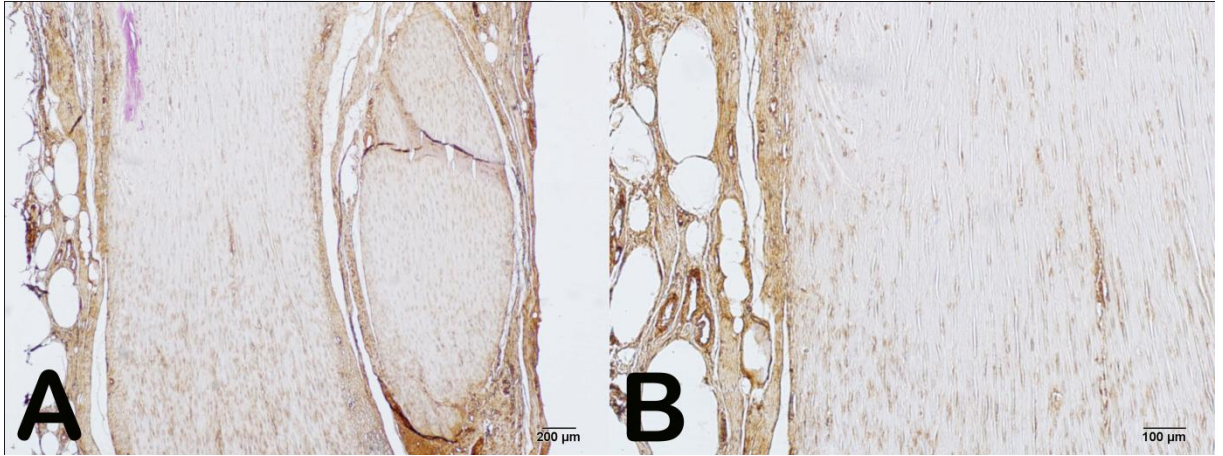


Resim 42: Parsiyel kesi + primer tamir grubu (grup 1) yoğun MMP-9 pozitivitesi gösteren tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** Tendosit çekirdek yapısı (ok) x100. MMP-9.

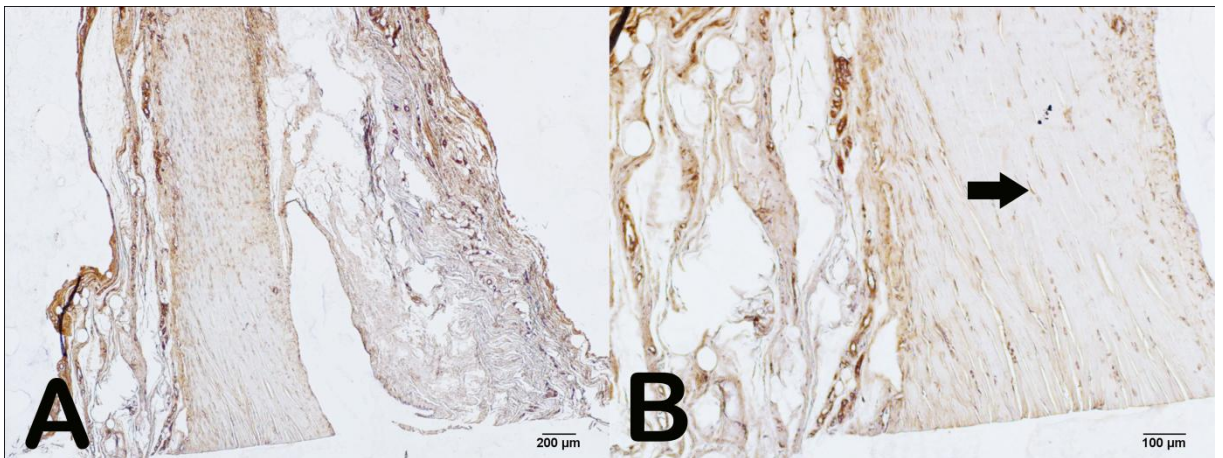




Resim 43: Parsiyel kesi + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 2) orta yoğunlukta MMP-9 aktivasyonu gösteren tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** x100. MMP-9.



Resim 44: Parsiyel kesi + primer tamir + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 3) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** x100. MMP-9.



Resim 45: Parsiyel kesi + sekonder iyileşme grubu (grup 4) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** İmmün pozitif tendinosit (ok). x100. MMP-9.

Tablo 9: VGF İHC Skorlama Analiz Sonuçları (Median±Standart Sapma)

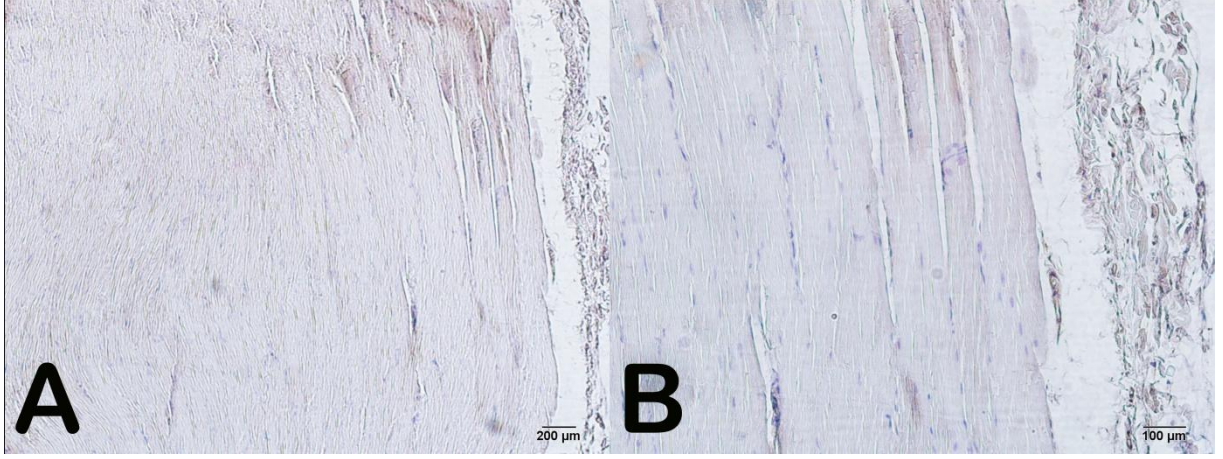
Grup Adı	VGF pozitivitesi
<b>Grup 1</b> Parsiyel kesi + Primer tamir	0.00±0.41
<b>Grup 2</b> Parsiyel kesi + AM	1.00±0.48 <sup>b</sup>
<b>Grup 3</b> Parsiyel kesi + Primer tamir + AM	2.00±0.75 <sup>a</sup>
<b>Grup 4</b> Parsiyel kesi+Sekonder iyileşme	2.00±0.52
<b>Grup5</b> Kontrol	1.00±0.41

<sup>a</sup>Kontrol grubuna kıyasla p<0.05

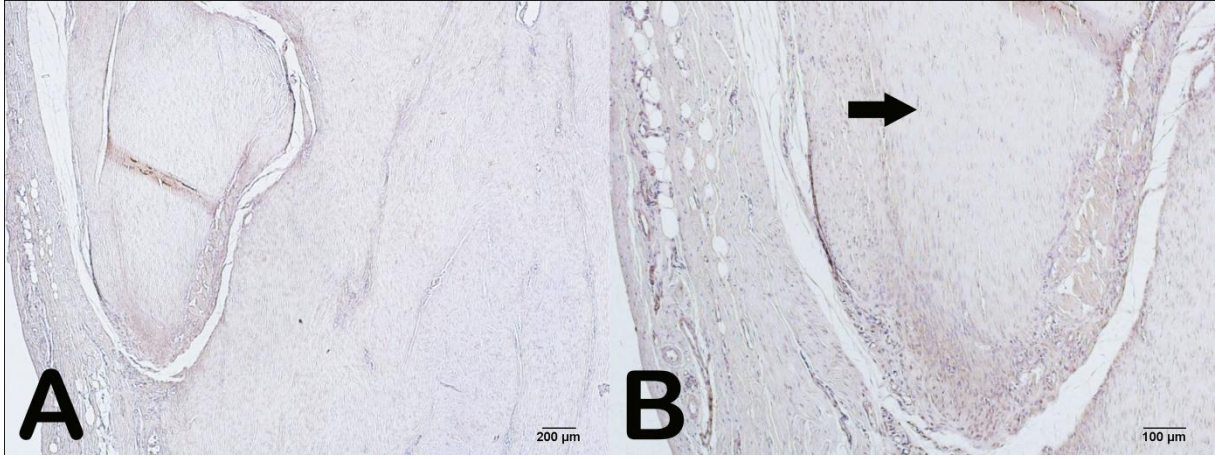
<sup>b</sup>Parsiyel kesi + Primer tamir +AM grubuna kıyasla p>0.05

- VGF pozitivitesi parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi (grup 3) grubunda kontrol grubuna (grup 5) kıyasla artmıştır (p<0.05).
- Parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi (grup 3) grubu ile parsiyel kesi + AM ile tedavi (grup 2) grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (p>0.05).
- Parsiyel kesi + primer tamir grubunun (grup 1) VGF pozitivitesinde kontrol grubuna (grup 5) kıyasla bir fark gözlenmedi (p>0.05).
- Parsiyel kesi + primer tamir grubu (grup 1) ile parsiyel kesi + sekonder iyileşme (grup 4) grubu arasında anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05).

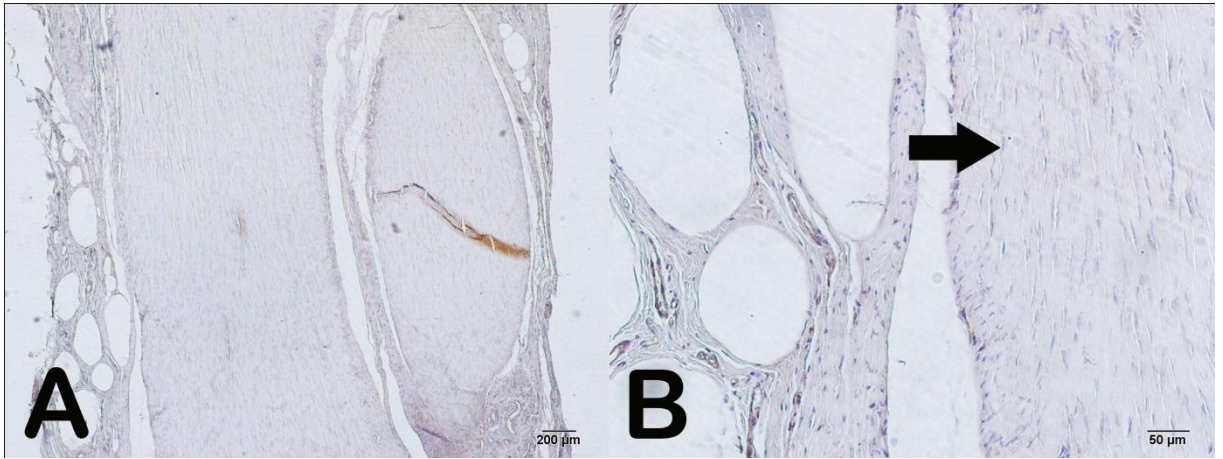




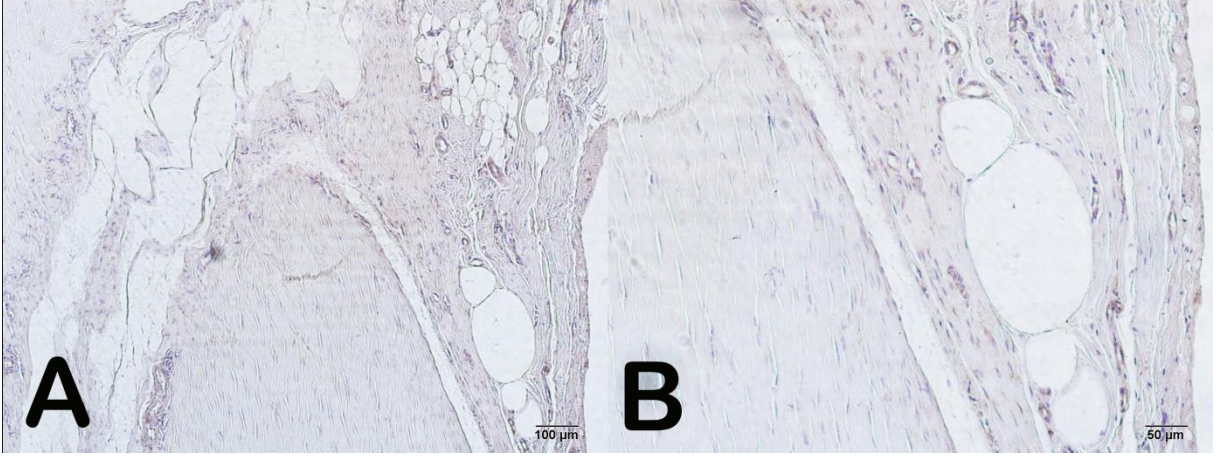
Resim 46: Kontrol grubu (grup 5) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** X40. **B.** Tendosit çekirdek yapısı (ok) x100. VGF



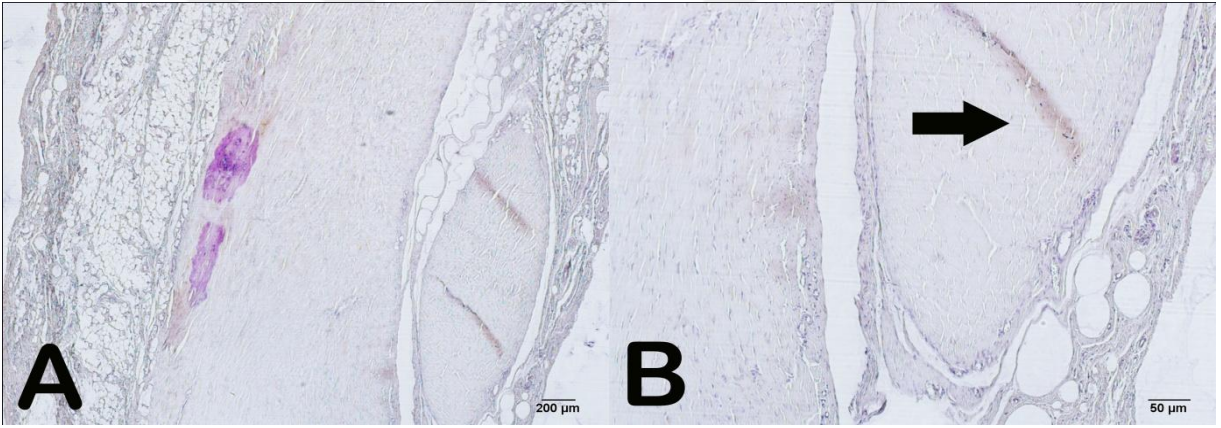
Resim 47: Parsiyel kesi + primer tamir grubu (grup 1) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** Tendosit çekirdek yapısı (ok) x100. VGF.



Resim 48: Parsiyel kesi + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 2) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** Tendosit çekirdek yapısı (ok) x100. VGF.



Resim 49: Parsiyel kesi + primer tamir + amniyon zarıyla tedavi grubu (grup 3) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** Tendosit çekirdek yapısı (ok) x200. VGF.



Resim 50: Parsiyel kesi + sekonder iyileşme grubu (grup 4) tendon dokusuna ait ışık mikroskopik görüntüsü. **A.** x40. **B.** Tendosit çekirdek yapısı (ok) x100. VGF.



### 4.3. Adezyon Skorlarına Ait İstatistiksel Analiz

Tablo 10: Adhezyon Skorlama Analiz Sonuçları (Median±Standart Sapma)

Grup Adı	Aritmetik Ortalama±Standart Sapma	Median±Standart Sapma
<b>Grup 1</b> Parsiyel kesi + Primer tamir	3.67±0.51	4.00±0.64 <sup>a</sup>
<b>Grup 2</b> Parsiyel kesi + AM	1.33±0.52	1.00±0.47 <sup>b,c,d</sup>
<b>Grup 3</b> Parsiyel kesi + Primer tamir + AM	1.17±0.41	1.00±0.88 <sup>b,c,d</sup>
<b>Grup 4</b> Parsiyel kesi + Sekonder iyileşme	4.67±0.52	5.00±0.74 <sup>a,e</sup>
<b>Grup 5</b> Kontrol	0.5±0.54	0.50±0.53

<sup>a</sup>Kontrol grubuna kıyasla p<0.05

<sup>b</sup>Kontrol grubuna kıyasla p>0.05

<sup>c</sup>Parsiyel kesi + Primer tamir grubuna kıyasla p<0.05

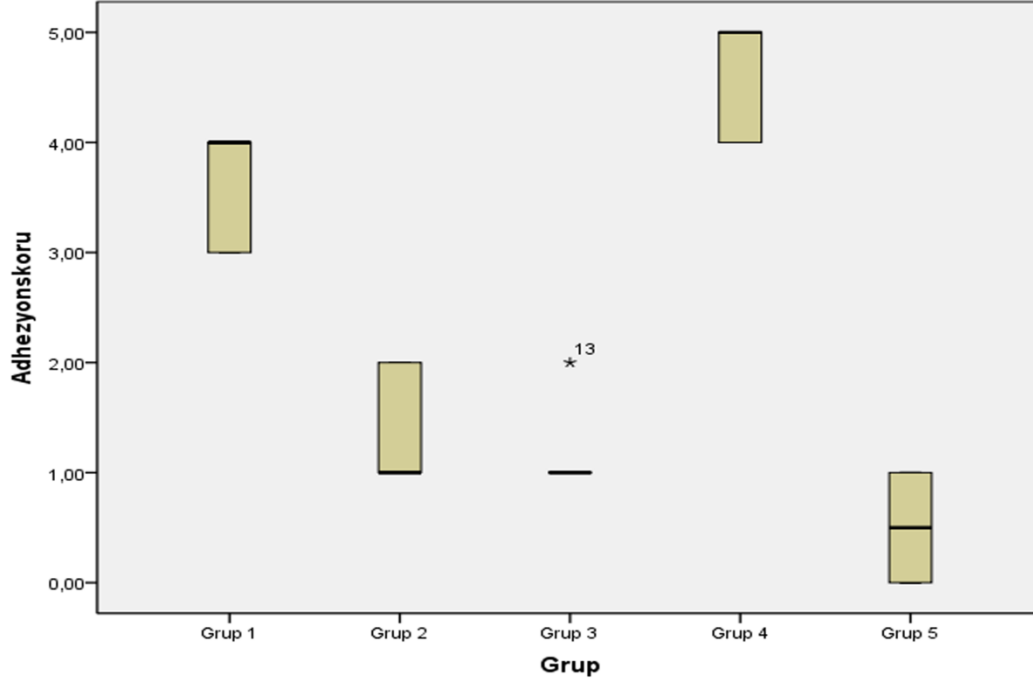
<sup>d</sup>Parsiyel kesi + Sekonder iyileşme grubuna kıyasla p<0.05

<sup>e</sup>Parsiyel kesi + Primer tamir grubuna kıyasla p<0.05

Tang ve arkadaşlarının adhezyon skorlamasına göre elde edilen veriler ışığında;

- Parsiyel kesi + primer tamir grubunun (grup 1) adhezyon skorunun ve parsiyel kesi + sekonder iyileşme (grup 4) grubunun adhezyon skorunun kontrol grubu (grup 5) adhezyon skoruna kıyasla anlamlı bir şekilde arttığı saptandı (p<0.05).
- Parsiyel kesi + primer tamir grubunun (grup 1) adhezyon skorları ile parsiyel kesi + sekonder iyileşme (grup 4) grubunun adhezyon skorları arasında anlamlı bir fark izlenmedi (p>0.05).
- Parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi grubunda (grup 3), parsiyel kesi + primer tamir (grup 1) ve parsiyel kesi + sekonder iyileşme (grup 4) gruplarına kıyasla adhezyon skorunun anlamlı olarak azaldığı saptandı (p<0.05).

- Parsiyel kesi + AM ile tedavi (grup 2) ve parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi (grup 3) grupları arasında anlamlı bir fark yoktu ( $p>0.05$ ).



Resim 51: Adezyon skoru verilerine ait box-blot grafiği.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Herhangi bir nedenle hasar gören dokuda iyileşme süreci başlar. Diğer yumuşak dokularda olduğu gibi tendonlarda da iyileşme; inflamatuvar cevabın başlamasından sonra diferansiasyon, proliferasyon ve maturasyon gibi değişimlere uğrayarak gerçekleşir ve nihayetinde ekstrensek ve intrensek yollarla olan iyileşme hasarlanmış dokunun onarılmasıyla sonuçlanır.

Doğal doku rejenerasyonunda tendon iyileşme sürecinde skar dokusu oluşumu, rerüptürler ve adezyon oluşumu gibi komplikasyonlar mevcuttur. Tendon rüptürleri onarımı sonrası tendon yapışıklığına bağlı eklem kontraktürleri, rerüptürler, immobilizasyona bağlı kas atrofileri, dejeneratif değişiklikler, tendon dokusunda iyileşme sürecinde skar dokusu



gelişimi gibi komplikasyonlarla karşılaşılabilir. Yaralanmış tendonun orjinaline yakın iyileşmesi konusunda yapılan çok sayıda çalışmalar ve geliştirilen birçok cerrahi metotlarla önemli kazanımlar elde edilmiş olmasına karşın öteden beri devam eden zorluklar ve komplikasyonların bir kısmı günümüzde de hala devam etmektedir. Dolayısı ile ideal tendon iyileşmesi için çok sayıda çalışma yapılmış ve yapılmaktadır.

Yaralı tendonun doğal iyileşme süreci yavaştır ve genellikle cerrahi müdahale ve rehabilitasyon gerektiren durumlarla sonuçlanır ancak, cerrahi tamir yapılsa dahi tendonlar yaralanma önceki biyolojik ve mekanik durumlarını tam olarak kazanamazlar [69-71]. İyileşmiş tendonun bu biyomekanik özellik kaybı dağınık kollajen lifleri ve tendonlarda hücre dışı matriks bileşimi ile skar dokusu gelişimine bağlıdır. Buna ek olarak, tendon remodelizasyon süreci genellikle kabul gören bir işlevselliği elde etmek için 6 haftadan uzun zaman alır [34, 72]. Bu gecikme klinik olarak cerrahi sonrası rehabilitasyon ihtiyacını ve sonuçta tendonda yapışma, eklem kontraktürü gibi riskleri içerir. Daha da önemlisi, yaralanmış tendonun yeniden yaralanma riski yüksektir [34, 69, 70].

Diğer yumuşak dokular ve tendonlarla karşılaştırıldığında, AT iyileşme süreci uzundur, bu durum muhtemelen kanlanmasındaki zayıflığa bağlı sitokin ve büyüme faktörlerinin iyileşme sürecini etkilemesindedir [13]. AT nin kanlanması gerek yaralanma öncesinde gerekse yaralanma sonrasında iyileşme sürecinde araştırmacıların dikkatini çekmiştir. AT nin hipovasküler bir bölgeye sahip olduğu konusunda fikir birliği neredeyse sağlanmıştır. Carr A.J. ve Norris S.H.'in taze kadavralar üzerinde anjiyografik olarak yaptıkları çalışmada kalkaneus insertiosunun 2–8 cm proksimalinde hipovasküler bölge olduğunu göstermişler, aynı şekilde Yepes H. ve ark. yaptıkları kadavra çalışmasında renkli anjiyogram kullanarak hipovasküler bölgeyi göstermişlerdir. Theobald P. ve ark. nin yaptıkları derleme çalışması da önceki çalışmalarla uyumludur [57]. Hipovasküler bölgenin varlığı iyileşme sürecinde de sıkıntılar çıkarabilir. Revaskülarizasyon, yaralanma sonrası iyileşme için temel adım taşı olmasına rağmen Wolff K.S. ve ark. yaptıkları çalışmada AT neovaskülarizasyonunun, postoperatif ağrı, hareketliliğin azalması ve ilginç bir şekilde yeniden kopma için ana nedenlerden biri olarak rapor etmişler [91].

Tendon onarımları sonrası adezyon gelişimi ortopedik cerrahlar için sorun olmaya devam etmektedir. Normal iyileşme sürecinde vücudun yanıtı olarak ortaya çıkan adezyon postoperatif dönemde gerek hasta gerekse hekim için yarattığı sıkıntılar nedeniyle üzerinde çalışılan ve çalışılmaya devam edilecek bir konudur. Ozboluk ve ark. 42 tavşan üzerinde

yaptığı çalışmada fleksör tendona taze insan AM'nin uygulanması, tamir kuvvetinden ödün vermeden yapışıklık insidansını ve ciddiyetini azalttığını belirtmişlerdir. Aynı şekilde Ozgenel ve ark. ve Demirkan ve ark. yaptığı farklı çalışmalarda AM ile tamir edilen dokuların biyomekanik özelliklerinden ödün vermeksizin fleksör tendon onarımlarında adezyon oluşumunu azalttığını göstermişler. Coban ve ark. yaptığı rat modelinde amniyon zarıyla yapılan tamirin histolojik iyileşmeyi arttırdığı gösterilmiştir. Nicodemo ve ark. ratlar üzerinde yaptığı deneysel çalışmada insan AM ile tedavi edilen AT nin daha hızlı iyileştiği, inflamatuvar yanıtta azalma olduğu, fibroblastların yoğun proliferasyonu ve kollajen liflerin düzenlenişini göstermiştir [92]. Adezyon skorlamasında Tang ve ark. yaptığı sınıflama tendon onarımları sonrası kabul görmüş bir sınıflamadır [93]. Bizde çalışmamızda bu sınıflamayı kullandık. Adezyon skorlamamızda yalnızca primer tamir yapılan grubun ve sekonder iyileşmeye bırakılan grubun adezyon skorunun kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde arttığını gördük ( $p<0.05$ ), ancak her iki grubun kendi arasında adezyon skorunda anlamlı bir fark izlemedik. AM kullanılarak tamir yapılan her iki grup arasında anlamlı fark izlenmezken, AM kullanılan grupların kullanılmayan gruplara kıyasla adezyon skorunun anlamlı olarak azaldığı gördük ( $p<0.05$ ).

AM tıbbi pratikte kolay ulaşılması, ucuz olması, immün reaksiyon göstermemesi [14] kolay hazırlanması, dondurularak ve taze olarak kullanım kolaylığı gibi avantajlarıyla kullanım alanı bulmuş ve üzerinde araştırmalar devam eden biyolojik bir örtüdür [15-19]. AM'den türetilmiş hücreler, trombospondin-1'in yanı sıra TIMP -1, -2, -3 ve -4'ü ifade eder ve hepsi bilinen anti-anjiyogenik faktörlerdir [86]. Ayrıca; AM greftlerinin öne sürülen avantajlarından birisi de, yara izi olmayan iyileşmeyi destekleme yeteneğidir. TGF- $\beta$ , fibroblastların aktivasyonu yoluyla fibrotik tepkileri indüklediği bilinen soluble bir faktördür. AM, aynı zamanda, skar oluşumunu azaltarak TGF- $\beta$ 'nin ekspresyonunu inhibe eder. AM'nin mezenkimal kısmındaki hiyalüronik asit TGF- $\beta$ 'nin birincil inhibitörü olduğu düşünülmektedir [87].

AT üzerinde yaratılacak defektin AM ile tamirinin sonuçlarının sağlıklı insanlar üzerinde yapılması etik kurallar nedeniyle uygun değildir. Biyolojik olarak canlı ve aktif tendon dokusu üzerinde yapılması gerekir, sonuçların değerlendirilebilmesi için tendon aktif hareketinin ve biyolojik yanıtın oluşması gereklidir. Çalışmada sıçan tercih edilmesinin

nedeni sıçanlarda AT boyutu/vücut ağırlığı oranı, insandakinden çok daha büyük olmasıdır [94].

Çalışmamızda grupların cerrahi sonrası immünohistokimyasal boyamaları VGF, MMP-2 ve MMP-9 İHC kitleri kullanılarak yapıldı. Vaskülarite için VGF ve matriks değerlendirilmesi ve inflamatuvar yanıt için MMP kitleri kullanıldı. AM nin antianjiyogenetik etkileri; biyolojik yapısı ve içerikleri nedeniyle mevcuttur. Bizim çalışmamızda VGF pozitivitesinde AM kullanılarak tamir edilen grupların birbirleri arasında fark çıkmazken, AM kullanılarak tamir edilen gruplarla kontrol grubuna kıyasla VGF pozitivitesinde artış gördük. Bu durum doku üzerinde AM nin biyolojik davranışını değiştirebileceğini düşündürdü. Niknejad N. ve ark. yaptıkları çalışmada; AM nin yüzeye bağlı anjiyogenezi indükleyebileceğini ve bu etkinin iskemik hastalıklarda ve farklı yara tedavilerinde kullanılabileceğini öngörmüşlerdir [95]. Zhu D. ve ark. yaptığı çalışmada hAEC'lerin anjiyogenez üzerine etkisinin inflamasyon ve altta yatan patolojinin varlığı tarafından etkilenebileceği görüşünü destekler niteliktedir [96]. Ancak tendon iyileşmesinde AM nin vaskülarite üzerine etkisini araştıran çalışma bulunmadığından bu konuda bilgilerimiz sınırlıdır.

MMP-2 pozitivitesi parsiyel kesi + primer tamir + AM ile tedavi (grup 3) grubunda ve parsiyel kesi + primer tamir grubunda (grup 1) kontrol grubuna (grup 5) kıyasla artışıdır ( $p < 0.05$ ). AM kullanılan gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ). Parsiyel kesi + primer tamir grubu (grup 1) ile parsiyel kesi + sekonder iyileşme (grup 4) grubu arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). MMP-9 pozitivitesinde gruplar arasında anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Matrix metalloproteazların (MMP'ler), tendinopatilerde bazal membranın yüksek düzeyde parçalanması ve/veya ikincil epidermal tabakalarda bulunan hemidesmozomların kaybıyla ilişkili olduğuna inanılmaktadır [97]. MMP'lerin tendon lezyonlarında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir [98]. MMP ailesinin, MMP-2 ve MMP-9 olmak üzere iki farklı üyesi bulunmaktadır. MMP-2'nin normal dokularda büyük miktarlarda bulunabileceği, ECM bileşenlerinin parçalanmasında ve doku yenilenmesinde rol oynadığı, MMP-9'un proinflamatuvar sitokinler tarafından aktive edildiği ve lökositler tarafından salındığı için inflamatuvar süreçlerle daha ilişkili olduğu bildirilmiştir [98, 99]. Karousou ve arkadaşları çalışmalarında rüptüre tendon alanlarında sağlıklı tendona kıyasla MMP-2'ye bağlı jelatinöz aktivitede artış olduğunu raporlamışlardır.

Çalışmamızın sonucu olarak; AM nin tendon iyileşmesinde kullanılmasının literatürle uyumlu olarak adezyon gelişimini azalttığı, kollajen diziliminde pozitif yönde etkili olduğu, antienflematuar etkilerinin bulunduğu görülmüştür. VGF değerlendirilmesinde AM kullanılarak tamir edilen grupların birbirleri arasında fark çıkmazken, AM kullanılarak tamir edilen gruplarla kontrol grubuna kıyasla VGF pozitivitesinde artış görülmüştür. Bu durum doku üzerinde AM nin biyolojik davranışını değiştirebileceğini ve yüzeye bağlı anjiyogenezi indükleyebileceği, iskemi inflamasyon gibi durumlarda kullanımında genel kanının aksine anjiogenetik etki gösterebileceğini düşündürmüştür.

## 6. KAYNAKLAR

1. Kachlik, D., et al., *Calcaneus, calcaneal tendon and retrocalcaneal bursa. Historical overview and plea for an accurate terminology.* Acta Chir Belg, 2010. **110**(2): p. 255-60.
2. Arner, O. and A. Lindholm, *Subcutaneous rupture of the Achilles tendon; a study of 92 cases.* Acta Chir Scand Suppl, 1959. **116**(Supp 239): p. 1-51.
3. K, A., *Ruptura tendinis Achillis.* Ugeskr Laeger 1923. **85**: p. 279-285.
4. Tasatan, E., et al., *Long-Term Results of Mini-Open Repair Technique in the Treatment of Acute Achilles Tendon Rupture: A Prospective Study.* J Foot Ankle Surg, 2016. **55**(5): p. 971-5.
5. Karaaslan, F., et al., *Surgical versus conservative treatment following acute rupture of the Achilles tendon: is there a pedobarographic difference?* Ther Clin Risk Manag, 2016. **12**: p. 1311-5.
6. Nyssonen, T., P. Luthje, and H. Kroger, *The increasing incidence and difference in sex distribution of Achilles tendon rupture in Finland in 1987-1999.* Scand J Surg, 2008. **97**(3): p. 272-5.
7. Kannus, P. and L. Jozsa, *Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients.* J Bone Joint Surg Am, 1991. **73**(10): p. 1507-25.
8. Carr, A.J. and S.H. Norris, *The blood supply of the calcaneal tendon.* J Bone Joint Surg Br, 1989. **71**(1): p. 100-1.
9. Sarman, H., et al., *Comparison of Semi-Invasive "Internal Splinting" and Open Suturing Techniques in Achilles Tendon Rupture Surgery.* J Foot Ankle Surg, 2016. **55**(5): p. 965-70.
10. Choi, G.W., et al., *Clinical comparison of the two-stranded single and four-stranded double Krackow techniques for acute Achilles tendon ruptures.* Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2016.
11. Makulavicius, A., Mazarevicius, G., Martin X., *Novel crown-type open vs percutaneous Bunnell technique for acute Achilles tendon rupture repair.* Foot & Ankle Surgery. **22S** (2016)(22): p. 14.
12. Lantto, I., et al., *A Prospective Randomized Trial Comparing Surgical and Nonsurgical Treatments of Acute Achilles Tendon Ruptures.* Am J Sports Med, 2016. **44**(9): p. 2406-14.
13. Sanchez, M., et al., *Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices.* Am J Sports Med, 2007. **35**(2): p. 245-51.

14. Werber, B., *Amniotic Tissues for the Treatment of Chronic Plantar Fasciosis and Achilles Tendinosis*. J Sports Med (Hindawi Publ Corp), 2015. **2015**: p. 219896.
15. Taghiabadi, E., et al., *Fabrication and characterization of spongy denuded amniotic membrane based scaffold for tissue engineering*. Cell J, 2015. **16**(4): p. 476-87.
16. Sartoneva, R., et al., *Comparison of a poly-L-lactide-co-epsilon-caprolactone and human amniotic membrane for urothelium tissue engineering applications*. J R Soc Interface, 2011. **8**(58): p. 671-7.
17. Okabe, M., et al., *Hyperdry human amniotic membrane is useful material for tissue engineering: physical, morphological properties, and safety as the new biological material*. J Biomed Mater Res A, 2014. **102**(3): p. 862-70.
18. Hopkinson, A., et al., *Optimization of amniotic membrane (AM) denuding for tissue engineering*. Tissue Eng Part C Methods, 2008. **14**(4): p. 371-81.
19. Niknejad, H., et al., *Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering*. Eur Cell Mater, 2008. **15**: p. 88-99.
20. O'Brien, M., *Functional anatomy and physiology of tendons*. Clin Sports Med, 1992. **11**(3): p. 505-20.
21. Kannus, P., *Structure of the tendon connective tissue*. Scand J Med Sci Sports, 2000. **10**(6): p. 312-20.
22. Maffulli, N., et al., *Changing incidence of Achilles tendon rupture in Scotland: a 15-year study*. Clin J Sport Med, 1999. **9**(3): p. 157-60.
23. Campbell, P. and J.O. Lawton, *Spontaneous rupture of the Achilles tendon: pathology and management*. Br J Hosp Med, 1993. **50**(6): p. 321-5.
24. Apaydin, N., Unlu, S., Bozkurt, M., Doral, MN., *Aşil tendonu'nun fonksiyonel anatomisi ve biyomekanik özellikleri*. TOTBİD Dergisi 2011. **10**(1): p. 61-68.
25. Maffulli, N., *Rupture of the Achilles tendon*. J Bone Joint Surg Am, 1999. **81**(7): p. 1019-36.
26. Junqueira, L.C., Camerio, J., Kelley, R.O., *Basic Histology*. 7th Edition ed, ed. L.C. Junqueira, Camerio, J., Kelley, R.O. 1992: Appleton & Lange.
27. Fredberg, U., et al., *Influence of acute physical activity immediately before ultrasonographic measurement of Achilles tendon thickness*. Scand J Rheumatol, 2007. **36**(6): p. 488-9.
28. *Current Diagnosis & Treatment in Orthopedics*, ed. H.B. Skinner. 2005.
29. Miller, M.D., *Review of Orthopaedics*. 4th ed.: Elsevier.
30. Ege, R., *El Cerrahisi* 1991: Türk Hava Kurumu Basımevi
31. Emerson, C., et al., *Ultrasonographically detected changes in Achilles tendons and self reported symptoms in elite gymnasts compared with controls--an observational study*. Man Ther, 2010. **15**(1): p. 37-42.
32. Koide, T., Nagata, K., *Collagen*. Collagen biosynthesis, ed. T. Koide, Nagata, K. Vol. 247. 2005: Springer. 85-114.
33. Magnusson, S.P., et al., *Collagen fibril size and crimp morphology in ruptured and intact Achilles tendons*. Matrix Biol, 2002. **21**(4): p. 369-77.
34. Sharma, P. and N. Maffulli, *Tendon injury and tendinopathy: healing and repair*. J Bone Joint Surg Am, 2005. **87**(1): p. 187-202.
35. Fenwick, S.A., B.L. Hazleman, and G.P. Riley, *The vasculature and its role in the damaged and healing tendon*. Arthritis Res, 2002. **4**(4): p. 252-60.
36. Cook, J.L., K.M. Khan, and C. Purdam, *Achilles tendinopathy*. Man Ther, 2002. **7**(3): p. 121-30.
37. Kandel, E.R., Schwartz, J.H., *Principles of neural science*. 3rd ed, ed. E.R. Kandel, Schwartz, J.H. 1991: Elsevier.

38. Arıncı, K., Elhan,A., *Anatomi*. Anatomi, ed. K. Arıncı, Elhan,A. 2006, Ankara: Güneş Tıp Kitabevi
39. Kelikian, A.S., Sarrafian,S., *Sarrafian's Anatomy of the Foot and Ankle: Descriptive, Topographic, Functional*, ed. A.S. Kelikian, Sarrafian,S. 2011, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
40. Daseler, E.H., Anson,B.J., *The Plantaris Muscle* The Journal of Bone and Joint Surgery, 1943. **25**(4): p. 822-827.
41. Putz, R., Sobotta,P.R., *İnsan Anatomisi Atlası*. 4. ed, ed. K. Arıncı.
42. Del Buono, A., O. Chan, and N. Maffulli, *Achilles tendon: functional anatomy and novel emerging models of imaging classification*. Int Orthop, 2013. **37**(4): p. 715-21.
43. Asansu, M.A., *Aşil tendon rüptürünün akut ve gecikmiş tamirinde kullanılan dikiş materyallerinin tendon tutma kapasitesinin karşılaştırılması*, in *Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı*. 2015, Marmara Üniversitesi: İstanbul.
44. Koivunen-Niemela, T. and K. Parkkola, *Anatomy of the Achilles tendon (tendo calcaneus) with respect to tendon thickness measurements*. Surg Radiol Anat, 1995. **17**(3): p. 263-8.
45. Lohrer, H., et al., *The Achilles tendon insertion is crescent-shaped: an in vitro anatomic investigation*. Clin Orthop Relat Res, 2008. **466**(9): p. 2230-7.
46. Apaydin, N., et al., *Relationships of the sural nerve with the calcaneal tendon: an anatomical study with surgical and clinical implications*. Surg Radiol Anat, 2009. **31**(10): p. 775-80.
47. Shaw, H.M., et al., *Development of the human Achilles tendon enthesis organ*. J Anat, 2008. **213**(6): p. 718-24.
48. Canoso, J.J., et al., *Physiology of the retrocalcaneal bursa*. Ann Rheum Dis, 1988. **47**(11): p. 910-2.
49. Bottger, B.A., et al., *MR imaging of the normal and abnormal retrocalcaneal bursae*. AJR Am J Roentgenol, 1998. **170**(5): p. 1239-41.
50. Kachlik, D., et al., *[Diagnostics of the retrocalcaneal bursitis: possibilities of the use of new anatomical data]*. Rozhl Chir, 2008. **87**(3): p. 128-34.
51. Theobald, P., et al., *The functional anatomy of Kager's fat pad in relation to retrocalcaneal problems and other hindfoot disorders*. J Anat, 2006. **208**(1): p. 91-7.
52. Gheno, R., et al., *Edematous processes within Kager fat pad: magnetic resonance imaging, gross anatomical, and histological studies in cadavers with clinical correlation*. J Comput Assist Tomogr, 2010. **34**(4): p. 621-5.
53. Lagergren, C. and A. Lindholm, *Vascular distribution in the Achilles tendon; an angiographic and microangiographic study*. Acta Chir Scand, 1959. **116**(5-6): p. 491-5.
54. Flynn, J.E. and J.H. Graham, *Healing of Tendon Wounds*. Am J Surg, 1965. **109**: p. 315-24.
55. Lesic, A. and M. Bumbasirevic, *Disorders of the Achilles tendon*. Current Orthopaedics, 2004. **18**(1): p. 63-75.
56. Ahmed, I.M., et al., *Blood supply of the Achilles tendon*. J Orthop Res, 1998. **16**(5): p. 591-6.
57. Theobald, P., et al., *Review of the vascularisation of the human Achilles tendon*. Injury, 2005. **36**(11): p. 1267-72.
58. Sanz-Hospital, F.J., et al., *Achilleo-calcaneal vascular network*. Foot Ankle Int, 1997. **18**(8): p. 506-9.
59. Astrom, M. and N. Westlin, *Blood flow in the human Achilles tendon assessed by laser Doppler flowmetry*. J Orthop Res, 1994. **12**(2): p. 246-52.

60. Gelberman, R.H., et al., *Angiogenesis in healing autogenous flexor-tendon grafts*. J Bone Joint Surg Am, 1992. **74**(8): p. 1207-16.
61. Yepes, H., et al., *Digital vascular mapping of the integument about the Achilles tendon*. J Bone Joint Surg Am, 2010. **92**(5): p. 1215-20.
62. Barfred, T., *Experimental rupture of the Achilles tendon. Comparison of various types of experimental rupture in rats*. Acta Orthop Scand, 1971. **42**(6): p. 528-43.
63. Postacchini, F. and G. Puddu, *Subcutaneous rupture of the Achilles tendon*. Int Surg, 1976. **61**(1): p. 14-8.
64. Inglis, A.E. and T.P. Sculco, *Surgical repair of ruptures of the tendo Achillis*. Clin Orthop Relat Res, 1981(156): p. 160-9.
65. Komi, P.V., S. Fukashiro, and M. Jarvinen, *Biomechanical loading of Achilles tendon during normal locomotion*. Clin Sports Med, 1992. **11**(3): p. 521-31.
66. Fyfe, I. and W.D. Stanish, *The use of eccentric training and stretching in the treatment and prevention of tendon injuries*. Clin Sports Med, 1992. **11**(3): p. 601-24.
67. Jarvinen, T.A., et al., *Collagen fibres of the spontaneously ruptured human tendons display decreased thickness and crimp angle*. J Orthop Res, 2004. **22**(6): p. 1303-9.
68. Maffulli, N., et al., *Tenocytes from ruptured and tendinopathic achilles tendons produce greater quantities of type III collagen than tenocytes from normal achilles tendons. An in vitro model of human tendon healing*. Am J Sports Med, 2000. **28**(4): p. 499-505.
69. Strickland, J.W., *The scientific basis for advances in flexor tendon surgery*. J Hand Ther, 2005. **18**(2): p. 94-110; quiz 111.
70. Evans, R.B., *Managing the injured tendon: current concepts*. J Hand Ther, 2012. **25**(2): p. 173-89; quiz 190.
71. Azad-Tirgan, M., et al., *Evaluation of tendon healing using fibroblast like synoviocytes in rabbits: A biomechanical study*. Vet Res Forum, 2016. **7**(1): p. 21-6.
72. James, R., et al., *Tendon: biology, biomechanics, repair, growth factors, and evolving treatment options*. J Hand Surg Am, 2008. **33**(1): p. 102-12.
73. Calleja, M. and D.A. Connell, *The Achilles tendon*. Semin Musculoskelet Radiol, 2010. **14**(3): p. 307-22.
74. Paavola, M., et al., *Achilles tendinopathy*. J Bone Joint Surg Am, 2002. **84-A**(11): p. 2062-76.
75. Soma, C.A. and B.R. Mandelbaum, *Achilles tendon disorders*. Clin Sports Med, 1994. **13**(4): p. 811-23.
76. Moller, A., M. Astron, and N. Westlin, *Increasing incidence of Achilles tendon rupture*. Acta Orthop Scand, 1996. **67**(5): p. 479-81.
77. Hyman, J. and S.A. Rodeo, *Injury and repair of tendons and ligaments*. Phys Med Rehabil Clin N Am, 2000. **11**(2): p. 267-88, v.
78. Murphy, P.G., et al., *Influence of exogenous growth factors on the synthesis and secretion of collagen types I and III by explants of normal and healing rabbit ligaments*. Biochem Cell Biol, 1994. **72**(9-10): p. 403-9.
79. Oakes, B.W., *Tissue healing and repair: tendons and ligaments*. Rehabilitation of sports injuries: scientific basis, ed. W.R. Frontera. 2003, Boston: Blackwell Science. 56-98.
80. Hooley, C.J., Cohen, R.A., *A model for the creep behaviour of tendon*. Int J Biol Macromol, 1979. **1**: p. 123-32.
81. Hom, A., McCollum, G., *Achilles tendinopathy - Part 1: Aetiology, diagnosis and non-surgical management*. SA Orthopaedic Journal, 2015. **14**: p. 24-31.

82. Bourne, G.L., *The microscopic anatomy of the human amnion and chorion*. Am J Obstet Gynecol, 1960. **79**: p. 1070-3.
83. Fairbairn, N.G., M.A. Randolph, and R.W. Redmond, *The clinical applications of human amnion in plastic surgery*. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2014. **67**(5): p. 662-75.
84. Riboh, J.C., et al., *Human Amniotic Membrane-Derived Products in Sports Medicine: Basic Science, Early Results, and Potential Clinical Applications*. Am J Sports Med, 2016. **44**(9): p. 2425-34.
85. Ozcel, K., Yavuz, E., *Biyolojik Greft Materyalleri: Amnion Membran Grefti* Veteriner Cerrahi Dergisi, 2006. **12**(1-2-3-4): p. 68-72.
86. Toda, A., et al., *The potential of amniotic membrane/amnion-derived cells for regeneration of various tissues*. J Pharmacol Sci, 2007. **105**(3): p. 215-28.
87. Mamede, A.C., et al., *Amniotic membrane: from structure and functions to clinical applications*. Cell Tissue Res, 2012. **349**(2): p. 447-58.
88. Riau, A.K., et al., *Preservation, sterilization and de-epithelialization of human amniotic membrane for use in ocular surface reconstruction*. Biomaterials, 2010. **31**(2): p. 216-25.
89. Gicquel, J.J., et al., *Epidermal growth factor variations in amniotic membrane used for ex vivo tissue constructs*. Tissue Eng Part A, 2009. **15**(8): p. 1919-1927.
90. Tang, J.B., et al., *Evaluation of four methods of flexor tendon repair for postoperative active mobilization*. Plast Reconstr Surg, 2001. **107**(3): p. 742-9.
91. Wolff, K.S., et al., *The avascular plane of the Achilles tendon: a quantitative anatomic and angiographic approach and a base for a possible new treatment option after rupture*. Eur J Radiol, 2012. **81**(6): p. 1211-5.
92. Nicodemo, M.C., et al., *Amniotic membrane as an option for treatment of acute Achilles tendon injury in rats*. Acta Cir Bras, 2017. **32**(2): p. 125-139.
93. Luo, J., Z. Yang, and X. Li, *[Effect of human acellular amnion membrane on tendon adhesion in rat]*. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi, 2004. **18**(5): p. 431-4.
94. Oktem, H., et al., *[Age-related changes in light microscopy with Sirius red technique in rat Achilles tendon]*. Eklem Hastalik Cerrahisi, 2010. **21**(1): p. 50-5.
95. Niknejad, H., et al., *Side dependent effects of the human amnion on angiogenesis*. Placenta, 2013. **34**(4): p. 340-5.
96. Zhu, D., et al., *Evaluating the Impact of Human Amnion Epithelial Cells on Angiogenesis*. Stem Cells Int, 2016. **2016**: p. 4565612.
97. Fernandez-Garcia, B., et al., *Expression and prognostic significance of fibronectin and matrix metalloproteases in breast cancer metastasis*. Histopathology, 2014. **64**(4): p. 512-22.
98. Gong, F., et al., *Piperine ameliorates collagenase-induced Achilles tendon injury in the rat*. Connect Tissue Res, 2017: p. 1-9.
99. Laskoski, L.M., Valadao, C.A.A., Vasconcelos, R., *Expression of matrix metalloproteases-2 and -9 in horse hoof laminae after intestinal obstruction, with or without hydrocortisone treatment*. Ciênc Rural, 2013. **43**(1): p. 66-72.