T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mert ÖZCAN

RATLARDA OLUŞTURULMUŞ KRONİK SUPRASPİNATUS KAS RÜPTÜRÜ MODELİ VE TAMİRİ SONRASI İYİLEŞMEDE ESWT (EXTRACORPOREAL SHOCK WAVE THERAPY) ETKİSİ İLE CRİMSON DUVET TEKNİĞİ ETKİSİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Utku DEMİRTAŞ

EDİRNE-2020

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca öğretim ve eğitimimde pay sahibi olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam ve tez yöneticim, Sayın Prof. Dr. Mert ÖZCAN'a ve eğitimim süresince tecrübelerinden yararlandığım hocalarım Sayın Prof. Dr. Kenan SARIDOĞAN, Prof. Dr. Cem ÇOPUROĞLU, Doç. Dr. Mert ÇİFTDEMİR, Öğr. Gör. Dr. Murat EREM'e ve tezimi oluştururken yardımlarıyla yanımda olan Prof. Dr. Fulya ÖZ PUYAN'a, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen eşim Dr. Elif DEMİRTAŞ'a ve aileme ayrıca kliniğimizde görevli tüm asistan, hemşire ve personele teşekkür ederim. Çalışmamıza 2020/39 no'lu proje ile destek veren TÜBAP Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **ROTATOR MANŞET ANATOMİSİ 3**
- **ROTATOR MANŞET BİYOMEKANİĞİ 7**
- **ROTATOR MANŞET HİSTOLOJİSİ 10**
- **ROTATOR MANŞET FİZYOPATOLOJİSİ 13**
- **ROTATOR MANŞET YIRTIKLARININ SINIFLAMASI 17**
- **ROTATOR MANŞET YIRTIKLARINDA TEDAVİ SEÇENEKLERİ 22**
- **RATLARDA OMUZ ANATOMİSİ 23**
- **EXTRACORPOREAL SHOCK WAVE THERAPY (ESWT) 24**
- **CRİMSON DUVET TEKNİĞİ 26**

GEREÇ VE YÖNTEMLER 27

BULGULAR 37

TARTIŞMA 56

SONUÇLAR 63

ÖZET 65

SUMMARY 67

KAYNAKLAR 69

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

BMP-2 **:** Bone Morphogenetic Protein-2 (Kemik Morfogenetik Protein-2)

BMP-7 **:** Bone Morphogenetic Protein-7 (Kemik Morfogenetik Protein-7)

CD34 **:** Cluster of Differentiation 34 (Başkalaşım Kümesi 34)

Enos **:** Endothelial Nitric Oxide Synthase (Endotelyal Nitrik Oksitsentaz)

ESWT **:** Extracorporeal Shockwave Therapy **(**Vücut Dışı Şok Dalga Tedavisi)

GAG **:** Glikozaminoglikan

MRI **:** Magnetic Resonance Imaging (Manyetik Rezonans Görüntüleme)

SLAP : Superior Labrum Anterior ve Posterior

TGF- β1 **:** Transforming Growth Factor- β1 (Transforme Edici Büyüme Faktörü- β1)

VEGF **:** Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)

GİRİŞ VE AMAÇ

Rotator manşet omuz kavşağında proksimal humerusa yapışan supraspinatus, infrasupinastus, subscapularis ve teres minör kaslarının tendonlarından oluşmaktadır. Bu kaslar humerus başını stabilize ve deprese ederek normal omuz hareketlerine etkin katılımını sağlar. Subakromiyal alanda en çok supraspinatus ve infrasupinatus kasının tendonlarında sıkışma olur ve parsiyel yırtık oluşması ile başlar ve zamanla tam kat rüptüre dönüşebilir. Uygun şekilde tedavi edilmemiş tam kat yırtıklarda koronal ve transvers planda kuvvet çifti dengesi bozulur ve omuz stabil hareket dayanağını kaybeder. Bunun sonucunda omuz ekleminde rotator manşet artropatisi gelişir. Bundan dolayı tam kat rotator manşet yırtıklarında cerrahi tedavi uygulanmalı ve omuz biyomekaniği eski haline getirilerek omuz fonksiyonu sağlanmalıdır (1). Rotator manşet yırtıkları en çok yaş ile ilişkili olup yaş arttıkça yırtık görülme insidansında artış olmaktadır (2). Bunun haricinde patogenezi çok etkenli olup internal ya da eksternal sebeplerle yırtıkların oluşmasına sebep olabilir. Eksternal sıkışma, rotator manşetin korakoakromiyal ark altında ezilmesi ile rotator manşetin bursal kısmında başlar. İnternal sıkışmada ise rotator manşette dejenerasyon ve mikrotravma ile eklem kısımında yırtık posterior superior glenoidin teması sırasında oluşur (3). Hangi sebeple olursa olsun uygun tetkik ve tedavi yapılmadığında ise zamanla yaşam kalitesinde bozulmalar görülür. İlk zamanlar sadece ağrı olup bu ağrı gece uykudan uyandırmaya kadar gitmektedir. Daha sonra semptomlar ilerleyerek kas güçsüzlüğü ile beraber kolunu omuz seviyesinden daha yukarı kaldıramama, günlük işlerini ve aktivitelerini yapamaz hale getirmektedir. Bu hastalığın 2 türlü tedavisi mevcuttur. Klinik muayene ve tetkikleri doğrultusunda cerrahi olmayan tedavi ile egzersiz, fizik tedavi ve rehabilitasyon tedavisi olmakla birlikte hastanın önemli ölçüde ağrısının olması, tamir edilebilir yırtığı olması gibi sebeplerle cerrahi tedavisi planlanmaktadır. Cerrahi tedavi ile mükemmel sonuçlar yayınlanmasına rağmen yüksek oranda iyileşmeme ve rekürrens de bulunmaktadır. Başarısızlık

büyük oranda tamir edilen kısımda dokuların süturleri çekmesine bağlı oluşmakta yani tendon kemik iyileşmesi gerçekleşmemesine bağlı oluşmaktadır (3). Aynı zamanda kronik yırtıklar da kaslarda atrofi ile birlikte yağlı dejenerasyon oluşmasına sebep olur ve başarısızlık ihtimalini arttırmaktadır.

Yapılan bu çalışma daha etkili bir tamir yapmak için ne gerekir? Sorusuna cevap bulma amacıyla ortaya çıkmıştır. Bu amaçla literatür taraması yapılarak iki etkenin karşılaştırılması planlanmıştır. Bunlar ESWT (extracorporeal shockwave therapy) cihazının oluşturduğu etki ile bir kemik iliği stimülasyon tekniği olan Crimson Duvet tekniği etkisinin karşılaştırılmasıdır.

ESWT ilk olarak 1970'li yıllarda üroloji alanında kullanılmaya başlanmış fakat 1990'lı yıllardan beri kas-iskelet sistemi problemlerinin tedavisinde de kullanılmaya başlanmıştır. Zaman geçtikçe farklı seviyelerde enerji miktarı ve frekansları kullanılarak araştırmalar yapılmış ve tendon-kemik bileşkesinde iyileşmeyi arttırıcı etkisi olduğu ortaya çıkarılmıştır (4-6). ESWT güvenli, etkili ve kullanımı kolay bir modalite olduğundan yapılan çalışmada kullanılması planlanmıştır.

Crimson Duvet tekniği ilk olarak 2009 yılında Synder tarafından kemik iliği stimülasyonunun, footprint sahasında mikro kırık uygulanması ile mezenkimal kök hücrelerin ortaya çıkarılarak iyileşmeyi arttırıcı etki oluşması fikrinden ortaya çıkmıştır. Bu teknikle ilgili birçok çalışma yapılmış olup iyileşmeyi arttırdığı ortaya konulmuştur fakat literatürde tekniğin kullanımıyla ilgili fikir birliği yoktur (7, 8). Bu teknik basit, güvenli ve efektif biyolojik tamir yöntemi olarak öne çıkmaktadır.

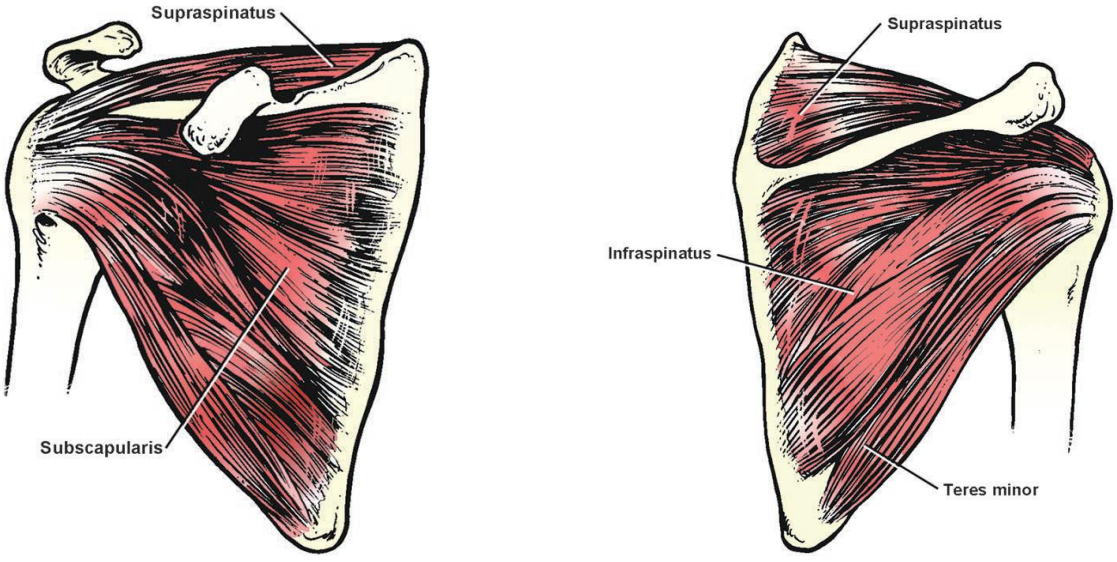
Eğer bu çalışmada pozitif yönde sonuçlar çıkarsa güvenli, etkili, kullanımı kolay iki modalite ile daha iyi tamir sonucu almamızın önü açılacağı beklentisiyle çalışmaya başlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

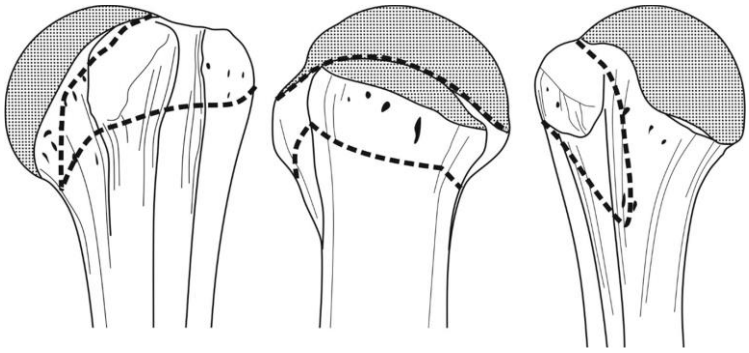
ROTATOR MANŞET ANATOMİSİ

Rotator manşet, kaslarının köken noktası *skapula* olan ve *Tuberculum majus* ve *Tuberculum minusa* yapışan dört kasın tendonlarından oluşan bir komplekstir. Tendinöz kılıf ya da muskulotendinöz manşet olarak da bilinir (Şekil 1).

Rotator manşeti oluşturan tendonlar, humerus tüberküllerindeki yapışma yerlerinde ya da yakınında birleşerek tek bir yapı oluştururlar. Tendonların tüberküllerdeki anatomik yapışma bölgelerine ayak izi denir (Şekil 2). Her tendonun kendine özgü bir ayak izi vardır. Rotator manşet, glenohumeral eklem için dinamik stabilizatördür. Statik stabilizatörler ise; kapsül ve glenohumeral ligamentleri içerecek şekilde labral komplekstir.



Şekil 1. Rotator manşet ve çevresinin önden ve arkadan şematik görünüşü (9)



Şekil 2. Humerus başının anterior, lateral ve posterior görüntüden rotator manşet ayak izinin görünümü (10)

Subscapularis kası, *skapulanın* ön yüzünden başlar ve eklemin önünden geçerek *Tuberculum minusa* yapışır. Subskapular sinir tarafından innerve edilir. Omuza iç rotasyonun yaptırır ve alt lifleriyle humerus başının depresörü olarak fonksiyon görür. Omuz ekleminin anterior subluksasyona engel olur.

Supraspinatus kası, rotator manşetin en önemli ve en çok yaralanmaya maruz kalan kasıdır, *Supraspinöz fossadan* başlar ve *akromiyonun* altından glenohumeral eklemi çaprazlayarak *Tuberculum majusa* yapışır. Supraskapular sinir (C5-C6) tarafından innerve edilir. Kolun abduksiyon (özellikle ilk 15-30 derece ve son 15-30 derece) ve dış rotasyonunu sağlar. Asıl önemli rolü, abduksiyon sırasında humerus başının aşağı doğru kaymasına engel olmaktır. Üstte subakromial bursa ve *akromion*, altta humerus başı ile çevrelendiği için tendonu kompresyon ve zedelenmelere maruz kalır.

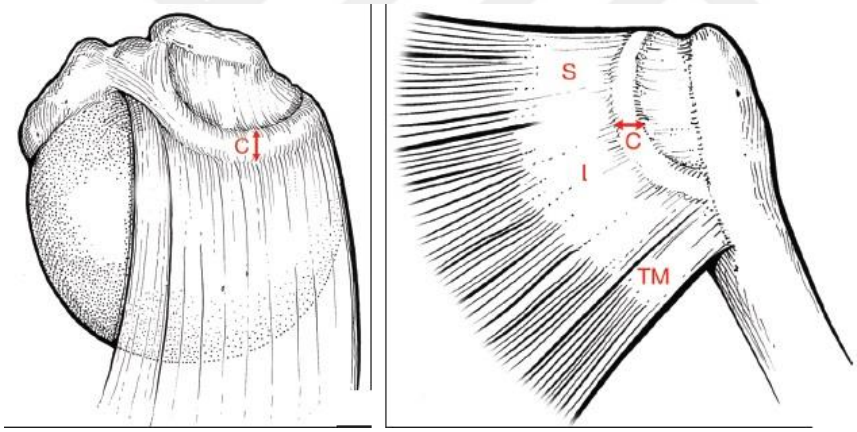
İnfraspinatus kası, omuzun en önemli dış rotatorlarından biri olup omuz dış rotasyonunun %60-90'ı bu kas tarafından sağlanmaktadır. *İnfraspinöz fossadan* başlar ve supraspinatus gibi omuz eklemini çaprazlayarak, hemen onun posteriorunda *Tuberculum majusa* yapışır. Yapışma yerlerinin 15 mm proksimalinde supraspinatus ve infraspinatus tendonları birleşirler. Supraskapular sinir tarafından inerve edilir.

Dördüncü kas olan Teres minör kası ise, *skapulanın* dış kenarından başlar, *Tuberculum majusa* yapışır. Genellikle infraspinatusa yapışıktır. Aksiller sinirin posterior dalı (C5-C6) tarafından inerve edilir. Kolun dış rotasyonu sağlar.

Bu tendonların çepeçevre bir manşet olarak humerus başı çevresine yapışması sayesinde rotator manşeti oluşturan kaslar humerusa rotasyon sağlayacak momentleri oluşturabilirler ve deltoid ve pectoralis majör kas gücünün istenmeyen bileşenlerine karşı durabilirler. Rotator manşetin kendine özgü anatomik yapısı bu bölgenin biyomekanik özellikleri üzerinde de etkilidir. Supraspinatus ve infraspinatus yapışma yerinde rotator manşetin nispeten daha ince,

hilal şeklinde bir yapı oluşturduğu ve bu yapının yaklaşık 1 cm. distalde kalın liflerle çevrelendiği saptanmıştır. Bu kalın liflere rotator kablo (Şekil 3) adı verilmiş ve yapışma yerini aşırı yüklerden koruyarak asma köprüye benzer bir biyomekanik yapı oluşturduğu öne sürülmüştür (11).

Subskapularis ve supraspinatus tendonları, bisipital oluğun üzerinde, bisepsin uzun bası için bir tendon kılıfı oluşturacak şekilde birleşirler. Bu birleşik tendon derinleştikçe, fibrokartilaj bir yapı kazanarak bisipital oluğa yapısır. Bu oluşumun hemen üzerinden geçen transvers humeral bağ ise, kolun hareketleri sırasında biseps tendonunun oluk içinde kalmasını sağlar. Biseps tendonu ise gerildiğinde humerus basını glenoide doğru bastırır yani omuz stabilitesine yardım ederek rotator manşetin fonksiyonuna yardımcı olur. Bu nedenle, biseps tendonunun uzun başı, rotator manşetin bir üyesi olmamakla birlikte, fonksiyonel olarak bu grubun içinde yer alır. Rotator manşet yırtıklarına genellikle biseps uzun başı lezyonları da eşlik eder (12).



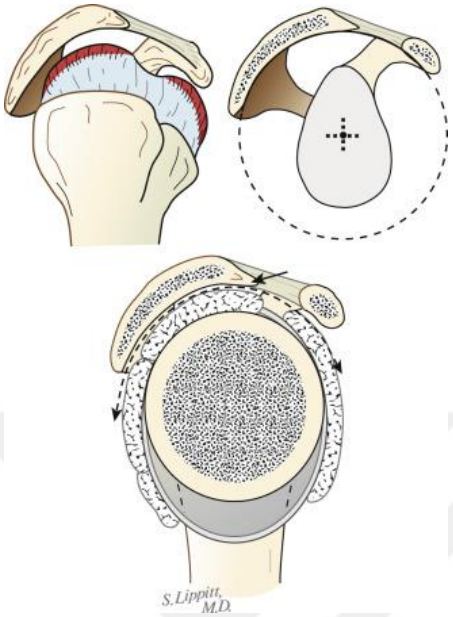
S: Supraspinatus kası, **I:** İnfraspinatus kası, **TM:** Teres minor Kası, **C:** Rotator kablo.

Şekil 3. Rotator kablonun superior ve posterior bölgeden görünümü (13)

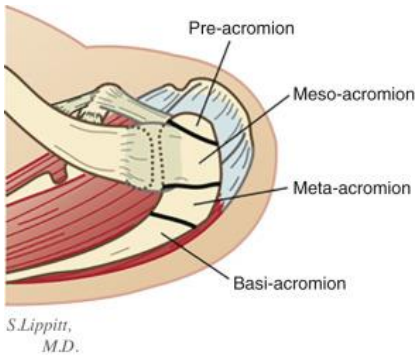
Akromiyon, Korakoakromiyal Bağ ve Korakoakromiyal Ark

Korakoakromiyal ark akromiyonun anterioru, korakoakromiyal ligaman ve korakoid çıkıntının oluşturduğu konkav şekilli düzgün bir yüzeydir. Omuz eklemine güçlü bir çatı oluşturur. Rotator manşet tendonları tüm hareketler sırasında bu yüzeyin altında kayarlar (Şekil 4). Rotator manşet tendonlarının ve proksimal humerusun korakoakromiyal ark altındaki hareketi, birbiriyle temas eden iki serozal yüzeyden oluşan subakromiyal-subdeltoid bursa tarafından kolaylaştırılır. Hareket yüzeyleri bursal yüzeyler ve sinovyal sıvı tarafından kayganlaştırılır.Korakoakromiyal arkın kemik elemanı olan akromiyon, üç kemikleşme çekirdeğinden (preakromiyon, mezoakromiyon, metaakromiyon) oluşur (Şekil 5). Bu üç çekirdek genellikle 22 yaşında

birleşir. Akromiyon, morfolojik olarak üç tipe (düz, kıvrık ve çengel şeklinde) ayrılır. Son dönemde dördüncü tip (dışa doğru kıvrık) akromiyon da tanımlanmıştır.



Şekil 4. Korakoakromiyal ark'ın merkez noktası *glenoid*in merkez noktasında bulunmaktadır. Proksimal humeral konveksite korakoakromiyal ark ile düzgün, yumuşak bir şekilde temas etmektedir (14)



Şekil 5. *Klavikula* ve *skapula*nın superiordan görünümü ve *akromiyon*un ossifikasyon merkezleri (14)

Korakoakromiyal bağ, akromionun alt yüzünden korakoid çıkıntının lateraline uzanır ve klavipektoral fasya ile devamlılık gösterir. Humeroskapular hareket yüzeyinin önemli bir bölümünü oluşturur. Anatomik çalışmalarda bu bağın yapısal varyasyonları gösterilmiştir. Genellikle anterolateral ve posteromedial olmak üzere iki ayrı banttan oluşur. Bunun yanısıra Y şeklinde, V şeklinde, geniş bir bant şeklinde, dörtgen şeklinde ya da çoklu bant şeklinde olabilir.

Korakoakromiyal ark, akromiyoklaviküler eklemin inferioru ve humerus başı arasında kalan alana supraspinatus çıkışı (outlet) adı verilir.

ROTATOR MANŞET BİYOMEKANİĞİ

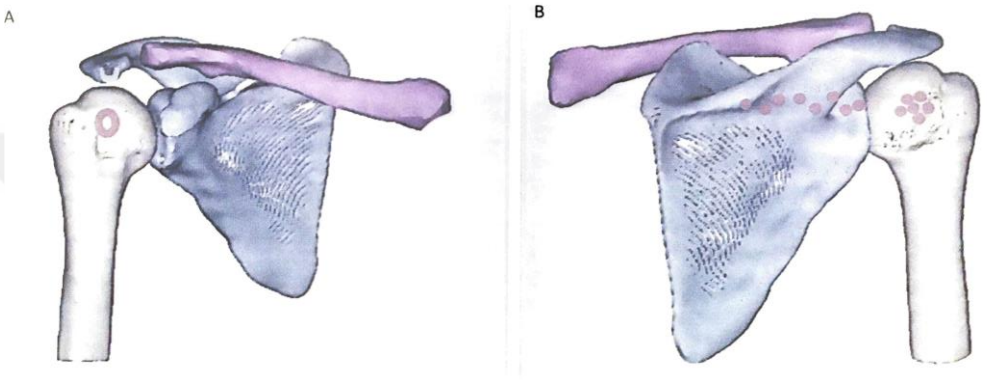
Omuz bölgesi; kolumuzu gövdeye bağlayan asıl görevi elin fonksiyonel pozisyonunu sağlamak olan yumuşak doku dengesi ve stabilitesi ile işlev yapan bir eklem kompleksinden oluşmaktadır. Omuz eklem kompleksi fonksiyonel anatomisinin tanımlanması, diğer eklemlere nazaran fonksiyonel anatomi ve biyomekaniğinin karmaşık olmasından dolayı daha zordur. Omuz eklem kompleksi glenohumeral eklem, akromiyoklavikular eklem, sternoklavikular eklem olmak üzere üç anatomik eklem ve subakromiyal mesafe ile skapulotorasik mesafe olmak üzere iki fonksiyonel eklemden oluşmaktadır. Bu eklem kompleksi vücudun en geniş hareket genişliğine sahip eklemi olmasını; denge ve stabilitesini temel olarak kemik dokuların değil yumuşak dokuların sağlamasıyla oluşan elastitesi sağlamaktadır. Hareket açı sınırlarını ve kısıtlılıklarını büyük oranda kapsül, ligament ve tendon gerginlikleri belirlemektedir. Omuz eklem kompleksine katılan herhangi bir eklemin izole hareketi oldukça nadirdir ve fonksiyonel hareket için birkaç kas grubu ve eklemin uyumlu aktivitesi gerekmektedir.

Omuz biyomekaniği temel olarak glenohumeral eklem rotasyon merkezi etrafında oluşmaktadır. Diğer eklemler glenohumeral eklemin ana hareketlerini destekleyen veya kolaylaştıran katkı ile fonksiyonel bütünlük oluşturmaktadır. Humerus başının geniş yüzeyi ile glenoidin dar yüzeyi arasındaki stabilite temelde yumuşak doku desteği ve dengesi ile sağlanmaktadır. Cerrahi planlamada temel prensip bu kemik ve yumuşak doku dengesini sağlamak olmalıdır. Omuz kompleksi denge ve stabilitesi pasif ve aktif stabilizatörlerin kompleks etkileşimi ile sağlanabilmektedir.

Rotator manşet kaslarının 3 farklı fonksiyonu vardır. Bunlar; humerusa glenoid içerisinde rotasyon hareketi yaptırması, humerus başını glenoid fossaya doğru bastırarak stabilitede rol oynaması ve omuz çevresinde kas dengesini sağlamasıdır.

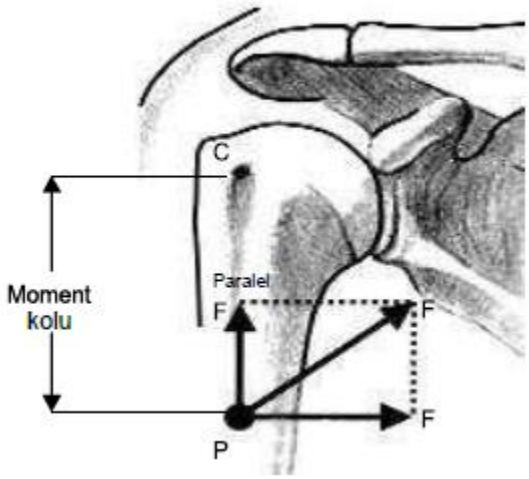
Rotator manşet, glenohumeral eklemin dinamik stabilizatörlerinin en önemlisidir. Birçok eklemin aksine omuz ekleminin sabit bir ekseni yoktur. Belirli bir pozisyonda bir kasın aktivasyonu belirli bir rotasyon momentini oluşturur. Omuz hareketlerini sağlayan kaslar tek tek ele alındıklarında değişik hareketler yaptırırlar, ancak fonksiyonel hareketler hep bu hareketlerin birleşimi şeklindedir; yapılan her hareket bir grup kasın değişik miktarda kasılması ile gerçekleşir. Humerus ile glenoid fossa arasındaki hareket kayma ve yuvarlanma kombinasyonu şeklindedir. Humerus başı rotasyon merkezi hareketin türüne göre değişmektedir. Ortogonal düzlemde hesaplanması sadece anlık olabilmektedir. Yuvarlanma ve

kayma glenohumeral eklemde izole değildir ve birlikte oluşur. Skapula daha kompleks bir hareket ile elevasyonun ilk 60 derecesine kadar merkezi değiştirmeden minimal rotasyon yapmakta ve rotasyon merkezi 120 dereceye kadar ise spina skapula üzerinde, bu derecenin üstünde ise glenoid fossaya doğru yer değiştirmektedir (Şekil 6). Kasların kasılma zamanlamaları ve miktarları, istenmeyen hareketlerin önlenmesi için tam olarak koordine edilmiş olmalıdır. Bu şekilde karşıt kaslar istenmeyen bileşenleri dengeler ve istenen hareketi oluşturacak net tork ortaya çıkar.



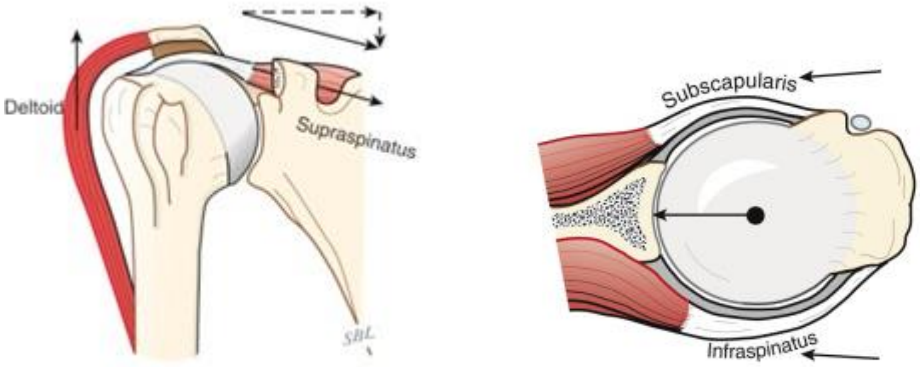
Şekil 6. A) Humerus başı rotasyon merkezi B) Elevasyon ile rotasyon merkezinin değişimi (15)

Kuvvetin cismi eksen etrafında döndürme etkisine moment denilmektedir. Moment vektörü gücü, kuvvetin şiddeti ve döndürme eksenine olan dik mesafe yani moment kolu uzunluğu ile doğru orantılıdır (Şekil 7). Momentler prensibi olarak kabul edilen Varignon Teoremine göre de bir vektörün bir noktaya göre momenti, bileşenlerin bu noktaya göre momentlerinin toplamına eşittir. Omuz eklem kompleksinde kuvvet vektörleri çok yönlüdür. Özellikle artroplasti cerrahi planlamasında ve implant tasarımları dizaynında eklem kuvvet vektörlerine özel planlama gerekmektedir.



Şekil 7. Moment kolu kuvveti (P) uygulama noktası ile hareketin merkezi (C) arasındaki uzaklıktır. Tork ise moment kolu ile kas kuvvetinin, ona dik olan bileşkesidir. Kas kuvvetinin ona paralel olan bileşkesi, konkavite kompresyonu ile ekleme stabilite sağlar (14)

Etki yönleri cismin kütle merkezinden geçmeyen şiddetleri eşit ve yönleri zıt iki kuvvet bir cisme etki ederlerse, bu kuvvetlerin oluşturduğu ikiliye kuvvet çifti denir. Omuz eklemi, sadece koronal ve transvers planda kuvvet çifti dengesi sağlandığında stabil bir hareket dayanağı sağlayabilir (1, 12). Koronal planda manşet deltoide karşı dengelemeyi, transvers planda ise önden subskapularis, arkada infraspinatus ve teres minöre karşı dengelemeyi sağlar (Şekil 8). Masif bir rotator manşet yırtığı ile kuvvet çiftlerinin dengesi bozulduğunda, omuz stabil bir destek noktası üretemez ve aktif hareket kaybolur. Bu nedenle, kuvvet çiftlerinin dengesinin yeniden oluşturulması için rotator manşet yırtığı tamiri yapılmalıdır (1, 12).



Şekil 8. Rotator manşet tarafından oluşturulan net kuvvet ve bileşenleri (14)

Rotator manşeti oluşturan kaslardan birinin oluşturabileceği kuvvetin büyüklüğü, kasın boyutuna, sağlık durumuna ve eklemin pozisyonuna bağlıdır. Supraspinatus ve infraspinatus kası abdüksiyon kuvvetinin %45'ini ve dış rotasyon kuvvetinin %90'ını oluşturur.

Bir kasın omuz kuvvetine olan katkısının saptanması omuzun karmaşık yapısı nedeniyle oldukça zordur. Her kasın tek başına analizini yapmayı zorlaştıran etkenler bulunmaktadır. Bunlar; kasın oluşturduğu kuvvet ve torkun eklemin pozisyonu ile yer değiştirmesi, kasların boylarının en kısa ve en uzun oldukları dönemlerde en az kuvveti üretmesi, kasın oluşturduğu kuvvetin yönünün eklemin pozisyonu ile yön değiştirmesi, rotator manşete ait tendonun humerusa etki noktasının kemiğe temas ettiği ilk nokta olması ve bu nokta her zaman yapışma yeri olmaması nedeniyle eklem hareketi ile sürekli yer değiştirmesi olarak sayılabilmektedir.

ROTATOR MANŞET HİSTOLOJİSİ

Tendon, ligamentler ve kapsülden oluşan rotator manşet-kapsül kompleksi 5 adet katmandan oluşmaktadır (16).

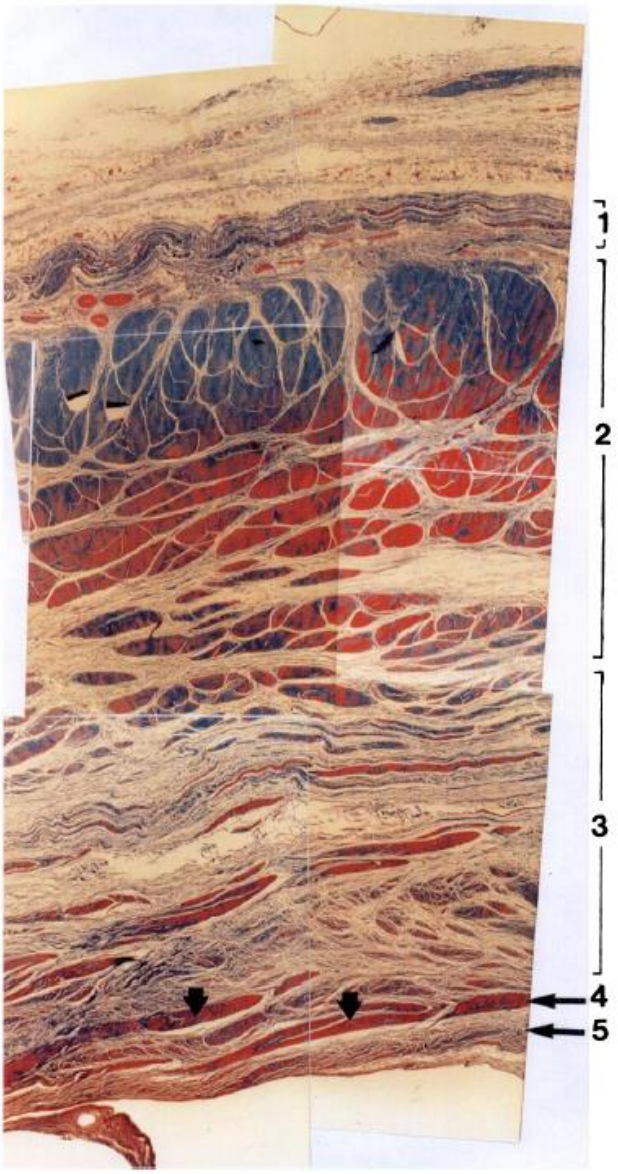
Katman 1: En yüzeyel katman olup 1 mm kalınlığındadır. Kas eksenlerine oblik yerleşimli korakohumeral tendon liflerinden oluşmaktadır. Bu tendonun lifleri supraspinatus tendonu ve subscapularis tendonu arasından *Tuberositas Major'*a uzanır ve periosteumla birleşir. Büyük arterioller genellikle bu katmanda bulunmaktadır.

Katman 2: 3-5 mm kalınlığından oluşur. Kalın demetler halinde gruplanmıştır ve birbirine paralel yerleşimli tendon liflerinden oluşur. Bu gruplar 1-2 mm çapında olup supraspinatus ya da infraspinatus kaslarınından humerusa uzanır. Bu katmanda olan lifler, bir önceki katmanda anlatılan supraspinatus tendonunun uzantısı olarak biceps tendon oluğunun tavanını oluştururlar. İlk katmanda bulunan arteriolller bu tabakada bulunan fasiküller arasından geçer.

Katman 3: 3 mm kalınlığındadır. Birbirini 45º açı ile çaprazlayan, ikinci tabakaya göre daha küçük demetler halindeki tendon liflerinden oluşur. Bu katmanda da kan damarları bulunmaktadır ama katman 1 ve katman 2'de bulunanlardan daha küçük boyuttadır.

Katman 4: Gevşek bağ dokusundan oluşur ve içinde kalın kolajen bantları bulunur. Supraspinatusun anterior kenarında korakohumeral ligaman ile birleşerek supraspinatus tendonunun anterior bölümünü çevreleyen bir bağ yapısı oluşturur. Bu tabakadaki kan damarları, kapsülün dış yüzeyine bitişik kapillerlerdir.

Katman 5: En derinde bulunan katman olup kalınlığı 1.5-2 mm'dir. Bu katman omuz eklemi kapsülü ile medialde glenoid labrumdan, lateraldn humerusa doğru uzanır, fibriller humerusa Sharpey fibrilleri olarak yapışırlar. Rotator manşeti oluşturan tendonların füzyonu, üçüncü tabakadaki tendon liflerinin birbiri ile iç içe geçmesi ile oluşan örgümsü yapı sayesinde gerçekleşir.



Şekil 9. Supraspinatus tendondan kapsüle doğru uzanan vertikal transvers kesit mikroskopik görüntüsü (16)

Rotator manşet-kapsül kompleksinde katmanların olduğu gibi bir yumuşak doku kemiğe yapışırken de dört faklı katman bulunmaktadır. Tendon, ligament ya da eklem kapsülünün kemiğe yapıştığı yere entezis denilmektedir. Entezis katmanları şu şekilde sıralandırılır (17):

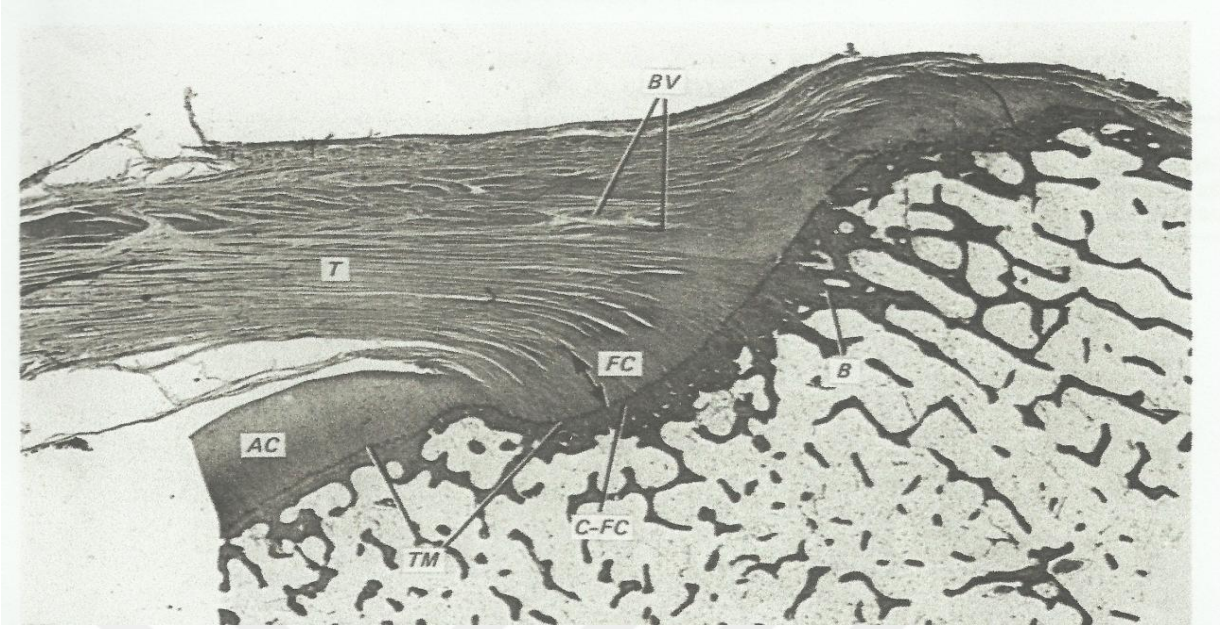
1. Tendon ya da ligament: Paralel dizilimli kolajen lifleri içerir. Baskın olarak tip I kolajen içerir, ancak dejenere ve yırtık rotator manşet tendonlarında tip III kolajen miktarının da arttığı gösterilmiştir.
2. Fibröz kıkırdak: Kolajen lifleri bu zonda devam eder. Koyu çekirdekli kondrositler çiftler ya da sıralar halinde dizilir, yuvarlaklaşır ve kolajen

liflerinin arasında ekstrasellüler matrikste bulunan lakünlerde yerleşirler. Tip I ve tip II kolajen içerir.

3. Mineralize (kalsifiye) fibröz kıkırdak: Bir önceki zondan mavi çizgi (bazofilik tidemark) ile ayrılır. Bu çizgi kalsifikasyonun dış limitini belirler. Keskin bir hat değildir, geçiş yaklaşık 120µm boyunca tedrici olarak olur. Bu zonda da kolajen lifleri devam eder, ancak açılarını değiştirerek mavi çizgiye dik açı ile gelirler. Çoğu hücre önceki katmandaki özellikleri korumakla birlikte küçülür, yuvarlarklaşır, halo ile çevrilir ve mineralize matriks içinde yer alırlar.
4. Kemik

Ekstasellüler matriks yapı ağının esas maddesi kollagen fibrilleri için yapısal destek sağlar ve prokollagenin kollagene dönüşümü olurken ekstrasellüler birleşmeyi düzenler. Proteoglikanlar, gilikozaminoglikanlar (GAG), glikoproteinler ve birçok diğer küçük proteinlerden oluşur (18). Rotator manşette bağ dokusu ara maddelerinin dağılımı diğer tendonlardan farklıdır. Rotator manşet tendonlarında bulunan GAG ve proteoglikan miktarları, tek yönde çalışan tendonlara göre çok yüksektir. Tendonlarda en çok bulunan GAG dermatan sülfattır (19). Tüm GAG içeriğinin yarısını hiyalüronik asit, diğer kısımlarında kondroitin sülfat da bulunur. Aynı zamanda hiyalüronik asit konsantrasyonuda daha fazla bulunmuştur. Diğer tendonlarda ise hiyalüronik asit içeriği %5'in altındadır. Rotator manşet tendonlarında bulunan proteoglikan miktarı tendonun fibrokartilaj seviyesinde bulunan miktarı ile benzerlik göstermektedir. Bu rotator manşet tendonlarının sadece gerilme kuvvetlerine değil aynı zamanda kompresif kuvvetlere de adapte olduğunu düşündürmektedir (20).

Bir tendonun entezisi kas kasılması ile ortaya çıkan kuvvetin kemiğe aktarıldığı son noktadır ve bu yüzden yüksek miktarda mekanik strese maruz kalır. Dört katmanlı yapışma bölgesi yumuşak ve sert dokuların düzenli bir biçimde birleşmesini sağlar ve fizyolojik yüklenme ile eklem hareketini kolaylaştırır. Stres birikimlerini en aza indirir, bu sayede yumuşak doku ve kemik arasındaki kompleks yüklenmelerin efektif transferini sağlar. Fibröz kıkırdak dokusu sayesinde tendon liflerinin kıvrılması ve sert yüzeyle karşı karşıya gelince sıkışması önlenir; yani bükülme ve kompresif strese karşı koruyucudur. Kalsifiye fibröz kıkırdak katmanı da makaslama kuvvetine karşı koruyucudur. Yapışma bölgeleri arasında mineralizasyon arttıkça, katılık ve Young modülü de artar. Farklı mekanik özellikteki katmanlardan oluşan entezis bölgesi, rotator manşeti yorulma ve yırtık oluşumuna karşı korur.



Şekil 10. Supraspinatus tendonunun yapışma yeri 4 zondan oluşmaktadır. Bunlar tendon (T), kalsifiye olmamış fibröz kıkırdak (FC), kalsifiye fibröz kıkırdak (C-FC) ve kemik (B). Şekilde kan damarları (BV) ve eklem kıkırdağı da (AC) görülmekte. Eklem kıkırdağına ait 'tidemark' (TM), entezisin tidemark çizgisi ile devamlılık göstermektedir (21)

Artan yaşla birlikte rotator manşet yırtıklarında asemptomatikte olsa artış görülmektedir (22). Aynı zamanda artan yaşla birlikte birçok histolojik değişiklik gözlemlenmiştir. Yapılan bir çalışmaya göre yaş ile ilişkili degenerasyonla ilişkili 7 farklı karakteristik özellik tanımlamışlardır (23). Bunlar; kollagen liflerinde dezorganizasyon ve incelme, miksoid degenerasyon (bağ dokusu mukus ile yer değiştirir), hyalin degenerasyon, vasküler proliferasyon, yağ infiltrasyonu, kondroid metaplazi ve kalsifikasyondur.

ROTATOR MANŞET FİZYOPATOLOJİSİ

Rotator manşet hastalıkları normal anatomisinin değişmesi sonucu gelişen bulgu ve semptomlardan oluşan bir sendrom olarak tarif edilmekte olup patogenezinde bir çok etken bulunmaktadır (24). Rotator manşet yırtıklarının etyolojisi multifaktöriyeldir. Yaş, değişmiş biyoloji, tendonun damarsal beslenmesi, sigara içimi, mikro yapısal kollagen lif anormallikleri ve materyal özelliklerinde bölgesel değişiklikler genellikle en çok neden olan internal sebeplerdir. Eksternal sebepler ise *Skapula*nın anatomik varyantları (subakromiyal ve subkorakoid sıkışma), tensil aşırı yüklenme, akromiyoklavikular eklem artropatisi ve torasik omurga patolojileri (torasik hiperkifozis) genellikle en çok neden olan eksternal sebeplerdir

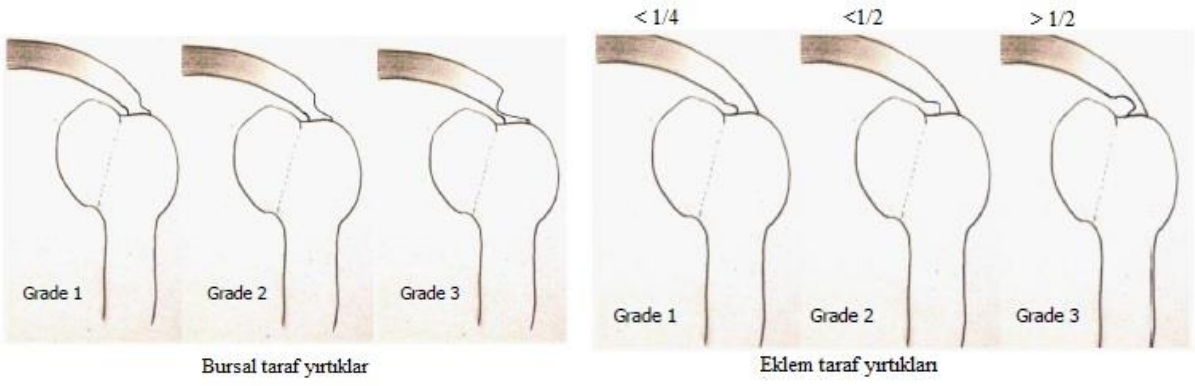
(24). Rotator manşet hastalıklarının patogenezi çok etkenli olmasına rağmen tendonun beslenmesini etkileyen yaş en önemli risk faktörlerinden birini oluşturmaktadır (2, 3, 24).

Epidemiyolojik çalışmalar hastanın yaşı ve rotator manşet yırtığı insidansı arasında pozitif korelasyonu göstermektedir. Yapılan bir ultrason çalışmasına göre 400 asemptomatik gönüllüye görüntüleme yapılmış artan yaş ile yırtık prevelansında artış saptanmıştır (22). Rotator manşet yırtık insidansı 50-59 yaş arasında %13 olmakla birlikte 80-89 yaş grubunda %51 bulunmuştur. İlerleyen yaşlı popülasyonda yüksek insidanslı asemptomatik rotator manşet yırtığı görülmesi normal yaşlanmanın bir süreci olduğunu düşündürmektedir. Fakat bu asemptomatik olan durum zamanla ağrılı, fonksiyon kısıtlayıcı, semptomatik duruma dönüşebilir.

Bursal ve Eklem Tarafı Yırtıkları

Klasik olarak tarifi Ellman tarafından rotator manşet yırtığının bursal tarafta ya da eklem tarafında olmasına göre ve daha sonra derinliğine göre değerlendirilmektedir (Şekil 11). Her iki durum da farklı özellik ve vaskülarite göstermektedir.

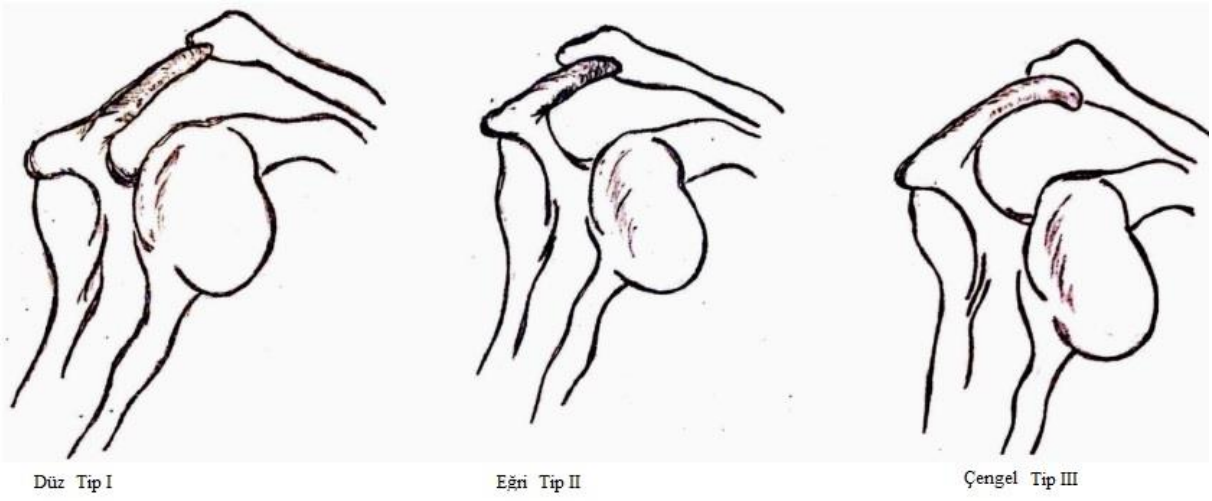
Lohr ve Uhthoff tarafından eklem taraf yırtıklarının belirsiz vaskülaritesi tanımlanmıştır. Eklem taraf yırtıklarında hipovasküler alanın çoğunlukta olduğunu bulmuşlardır (25). Eklem tarafında olan yırtıklar daha çok internal faktörler nedeniyle olurken bursal taraf yırtıkları hem internal hem de eksternal sebepler nedeniyle olmaktadır ve bursal taraf yırtıklarında sıkışma ve daha büyük yıpranma sıklıkla görülmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre bursal taraf yırtıkları ile korakoakromiyal ligamentde ve *Akromiyon*un anterior 1/3 alt kısımında aşındırıcı lezyonların görüldüğü eklem taraf yırtıklarda ise akromiyonun normal olduğu bulunmuştur (26). *Akromiyon* lezyonları her zaman rotator manşet yırtıkları ile ilişkili olsa da tersi doğru değildir.



Şekil 11. Parsiyel yırtıkların tipleri (3)

Eksternal Mekanizmalar

Rotator manşet yırtıkları Neer ve ark. tarafından omuz sıkışmasının bir sekeli olarak rotator manşet tendonlarının *akromiyon* altında altında tekrarlayan geçişiyle oluştuğuna dair teori geliştirmişlerdir (27). Sıkışmaya neden olan ve rotator manşet yırtığıyla ilişkili anatomik faktörler diğer nedenlerle birlikte korakoakromiyal ark anormalliğini içerir. Subakromiyal sıkışma sendromu adını veriren bu mekanizma sonucunda, *akromiyon* alt yüzeyinin.üçte bir ön kısmında, korakoakromiyal ligamentte ve bazen de akromiyoklavikuler eklemde değişiklikler olmaktadır. *Akromiyon* düz, eğri ve çengel şeklinde sınıflandırılmaktadır (28) (Şekil 12).



Şekil 12. Akromiyon tipleri (3)

Yenidoğan kadavralarında yapılan bir çalışmada tip II ve tip III akromiyonların gelişimsel olmaktan çok, edinsel olabileceklerini ileri sürülmüştür (29). Nitekim akromiyon çengellerinin çoğu korakoakromiyal bağa doğru uzanmaktadır. Bu olay plantar fasyanın çekmesine bağlı kalkaneusta oluşan topuk dikenine benzer bir durumdur. Bu çengelin oluşmasına neden olan çekme, rotator manşette gelişen dejenerasyon ile humerus başının yukarıya doğru yüklenerek korakoakromiyal arkın zorlanmasına bağlı olabilir (30). Putz ve Reichelt ameliyat ettikleri 133 hastanın %75'inde, korakoakromiyal bağın akromiyona birleşme yerinde kondroid metaplazi olduğunu göstermişlerdir (31). Bu metaplastik bölge, enkondral kemik formasyonu ile daha sonra akromiyal çengel haline dönüşebilecektir (32).

Klinikte sık karşılaşılan rotator manşet yırtıklarının, manşetin akromiyon altında kompresyonu ile oluşup oluşmadığı daima sorgulanmıştır. Luo ve ark basitleştirilmiş iki-boyutlu ölçülebilir eleman modeli ile supraspinatus tendonunda stres dağılımını ölçmüşlerdir (33). Oluşturdukları subakromiyal sıkışma modelinde stres artışı sadece akromiyon temas

alanında değil, aynı zamanda bursal ve eklem yüzeylerinde, tendon boyunca da yüksek bulunmuştur. Bu bulgular rotator manşet yırtıklarının ekstrinsik mekanizma ile oluşabileceğini göstermiştir. Öte yandan, Schneeberger ve ark. sıçan deneysel sıkışma sendromu modelinde, bütün sıçanların infraspinatus tendonlarının bursal yüzeylerinde yırtık oluşturmuşlar; tendon içinde veya eklem tarafında izole bir yırtık belirlememişlerdir. Bu çalışmanın bulguları da, eklem yüzeyindeki veya tendon içindeki yırtıkların esas nedeninin subakromiyal sıkışma olmayacağı hipotezini desteklemiştir (34).

Eksternal Sıkışma

Eksternal sıkışmanın asıl nedenini kas zayıflığı oluşturmaktadır. Humerus başı yukarıya doğru kayarak akromiyon ve korakoakromiyal bağ altında ezilir. Tip 2 süperior labrum anterior posterior (SLAP) yırtığı humerus başının yukarıya doğru kayarak korakoakromiyal arka doğru aşırı itilmesini sağlar. Skapula stabilizatörlerinin zayıf olması durumu ağırlaştırır. Baş üstü sporcularda posterior kapsüler kalınlaşma ve iç rotasyon zayıflığı humerus başının yukarıya doğru kaymasına neden olur (35).

İnternal Mekanizmalar

Eksternal faktörlerin yanı sıra, dejenerasyon-mikrotravma teorisi ilerleyen yaş ve kronik mikrotravma ile parsiyel rotator manşet yırtığı ile ilişkilidir. Derin liflerin etkilenmesi retraksiyona neden olur, sağlam liflerde artmış gerim de yırtığın tam kat yırtığa dönüşmesine neden olur. İnflamatuvar değişiklikler ve oksidatif stres ile tenositlerde apoptozise neden olur ve doku boyunca oluşan remodelizasyon bu yırtıkların sorumlusudur (36). Hipovaskülarite rotator manşet yırtığı oluşmasında yaşa bağımlı olarak yatkınlık oluşturmaktadır (37). Kritik hipovasküler alan rotator manşetin humerus başına bağlandığı kısımın 10-15 mm proksimalinde bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmaya göre bu hipovasküler alan supraspinatus kasının humerusa yapışma yerine yakın bulunmuştur. Yapılan seçici vasküler enjeksiyon ile bu teyit edilmiş ve eklem tarafında seyrek vasküler yayılım olmasına rağmen bursal tarafta iyi vaskülarize olan alan bulunmuş olup, bu durum eklem taraf yırtıklarının oluşumunu açıklayabilir (25). Fakat bazı araştırmacılar bu teoriye itiraz etmektedirler. Levy ve ark. yaptıkları lazer doppler flowmetre analizinde rotator manşet yırtığının uç noktalarında artmış, akımı hipervaskülarite alanı olarak düşündürmektedir (38).

İnternal Sıkışma

Kol 90 derece abduksiyon ve maksimum dış rotasyonda oluşur. Baş üstü aktiviteler ile uğraşan sporcularda posterosüperior glenoid kenarın teması ile eklem yüzünde rotator manşet yırtığı ve posterior süperior labrumda lezyon gelişir. İnternal sıkışma, skapulanın malpozisyonu ve inferior medial kenarın belirginleşmesi, korakoid ağrı ve malpozisyonu içeren skapular hareketlerin diskinezisini (SICK skapula) oluşturan kompleks bir sendromdur. Bu patomekanik ile tip II SLAP lezyonu ve parsiyel eklem içi yırtıkları eş zamanlı oluşturmaktadır (35, 39-43).

Moleküler Temel

Yapılan güncel bir çalışmaya göre omuzda bursiti ve tendinopatisi olan hastalarda pro-myogenik genler eksprese olur ve bu genler tam kat rotator manşet yırtıklarında eksprese olur, yağlı atrofi ve fibrozisle ilişkilidir (44). Masif yırtıklar bir çok geni down-regüle edebilmektedir fakat myogenezisi inhibe edememeleri bu yırtıkları tedavi etmenin neden zor olduğunu açıklar.

Özetle rotator manşet yırtıkları birçok etyolojik faktör nedeniyle oluşur. Bunlar azalmış subakromiyal mesafe ve anatomik anormalliklere bağlı tendon hasarlanması, tendonda dejenerasyonlar, omuz ekleminin fizyolojik olmayan pozisyonda, aşırı abdüksiyon ve eksternal rotasyonda olmasına kadar uzanmaktadır. Gen ekspresyonu ve yırtık süreci ilişkili olup tamir sonucuna negatif etki etmektedir (3).

ROTATOR MANŞET YIRTIKLARININ SINIFLAMASI

Rotator manşette yer alan yırtık, akut veya kronik; parsiyel veya tam kat; travmatik veya dejeneratif gibi farklı şekille de tanımlanabilir. Sınıflamalar uygun tedavinin planlanabilmesi için yardımcı olmaktadır. Aslında yaygın kullanılan tek bir sınıflandırma yoktur. Ayrıca sınıflandırmayı yırtığın derinliğine, etiyolojisine, oluş zamanına, büyüklüğüne, şekline, eşlik eden tendon sayısına, yırtığın yerleşimine ve tendonun kalitesine göre yapabiliriz. Çok parametreli ve çok boyutlu bir patoloji olduğu için, sınıflandırmalar da çeşitlilik göstermektedir. Yırtık çapına göre 1 cm'den az olan yırtıklar küçük, 1-3 cm olan yırtıklar orta boy yırtıklar, 3-5 cm arasında büyük yırtıklar, 5 cm'den büyük yırtıklar masif yırtıklar olarak sınıflandırılır. Yırtıklar ayrıca tutulan tendon sayısına görede sınıflandırılabilir. Tendon retraksiyon miktarı ve doku kaliteside önemli değerlendirme kriterlerindendir. Tendon gemişliğinin 2/3'den fazla olan yırtıkların rotator manşet tarafından oluşturulan torku önemli miktarda azalttığı dolayısıyla yırtık büyüklüğünün önemli olduğu bildrilmiştir (35, 45).

Parsiyel Rotator Manşet Yırtıkları

İlk olarak Codman ve Akerson tarafından sınıflaması yapılan parsiyel rotator manşet yırtıkları 1990 yılında Harvard Ellman tarafından rotator manşet lezyonları için tanı ve tedavi kriterlerini tanımlamıştır (46). Ellman ve ark. yerleşimine göre (bursal, artiküler, intersitisiyel), derecesine göre (derece 1, 3 mm'den az derinlik; derece 2, 3-6 mm derinlik; derece 3; 6 mm'den fazla derinlik) ve yırtık alanına göre (mm^2) bir sınıflama düzenlemişlerdir. Parsiyel rotator manşet yırtıkları, tendon derinliğinin %50'sinden az veya çok, diye daha pratik olarakta sınıflandırılabilirler.

Eklem taraf lezyonları Codman ve Akerson tarafından ''rim yırtıkları'' olarak tanımlanmıştır (47). Bu lezyonlar omuz eklem kapsülünün bükülme alanına denk gelmekte olup humerus eklem yüzeyine yakındır. Rotator manşet ve eklem yüzeyi arasındaki mesafe arttıkça kademeli olarak yırtık genişliğinde artma gözlemlemişlerdir. Bu bulguyu modern ayak izi genişliği konsepti çıkmadan yarım yüz yıl önce gözlemlemişlerdir ve aslında bu bulgu tedavinin cerrahi mi yoksa cerrahı dışı bir yöntemle mi olacağına karar vermeyi etkilemektedir. Aynı zamanda kortikal osteoskleroz gelişimi ve subkondral kist alanlarının ayak izinde bulunduğunu tanımlamışlardır. Rotator manşetin eklem tarafında olan yırtık posterior superior glenoidin teması sırasında, internal sıkışma ile oluşur (35).

Bursal taraf lezyonları eklem tarafında görülen lezyonlardan daha az sıklıkta görülür. Bu durum rotator manşet yırtıklarının etyopatogenezinin modern hipotezi ile uyumluluk göstermektedir (25). Bursal yırtıklar eksternal sıkışma ile korakoakromiyal ark altında rotator manşetin ezilmesiyle başlar.

İntratendinöz yırtıklar MRI ya da artro-MRI ile tanı konulabilirler ve artrokskopik cerrahi sırasında eklem tarafı ya da bursal taraftan görülmez. Eğer bu iki taraftan herhangi birinde defekt görülüyorsa intratendinöz yırtık olarak değil eklem tarafını ya da bursal tarafı ilgilendiren derin parsiyel lezyon olarak değerlendirilmelidir.

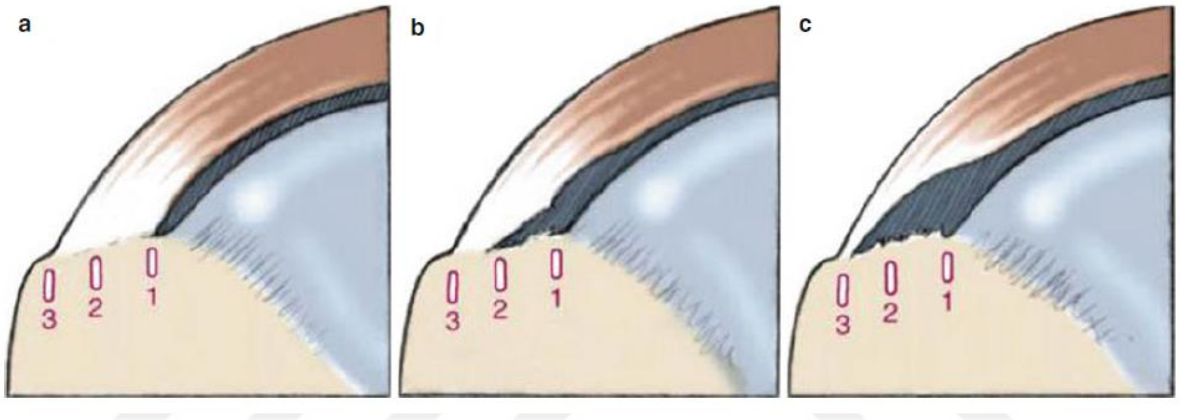
Ellman sınıflaması sağlıklı tendonun yaklaşık olarak 10-12 mm kalınlığında olduğu hesap edilerek yapılmış ve parsiyel lezyonu üç dereceye ayırmıştır (46). Snyder parsiyel lezyonları eklem tarafta (A), bursal tarafta (B) olmak üzere iki kategoriye ayırmış, her iki kategori de beş alt kategoriye ayrılmıştır. Fakat hem Ellman hem de Snyder tarafından yapılan sınıflamada koronal ve sagittal planda lezyonun derinliği ile birlikte etyoloji ve patomorfolojisi hakkında bilgi vermez. Bundan dolayı 2008 yılında Habermayer ve ark. yeni bir sınıflama önermişlerdir (48) (Şekil 13,14).

Tablo 1. Habermayer ve ark. sınıflamasında koronal planda lezyon sınıflaması (49)

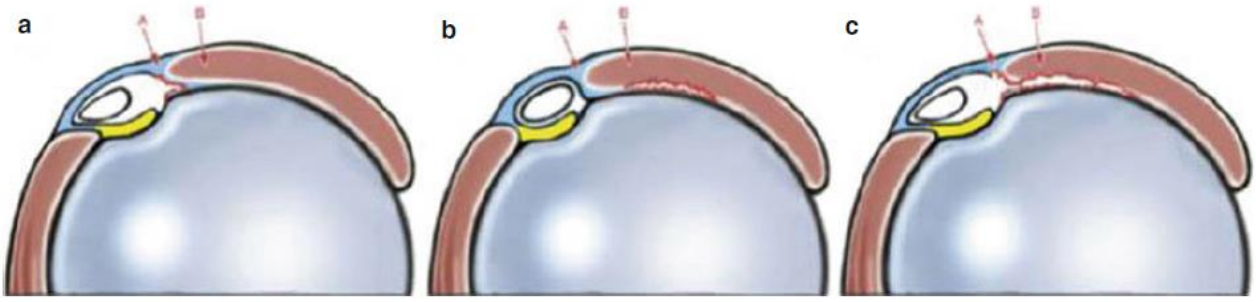
Tip 1	Kıkırdaktan kemiğe geçiş bölgesinde küçük yırtık
Tip 2	Ayak izinin merkezine uzanan yırtık
Tip 3	*T.Major'*a uzanan yırtık

Tablo 2. Habermayer ve ark. sınıflamasında sagittal planda lezyon sınıflaması (49)

Tip A	Supraspinatus tendonunun medial sınırına uzanan korakohumeral ligament yırtığı
Tip B	Kresent bölgesine uzanan izole yırtık
Tip C	Pulley sisteminin lateral kısımının üzerinden supraspinatus tendonunun medial kısımından kresent bölgesine uzanan yırtık



Şekil 13. Habermayer ve ark. sınıflamasında parsiyel lezyon sınıflaması. Koronal planda eklem tarafı uzanımlı supraspinatus tendon yırtığı. (a) Tip 1 yırtık. Kıkırdaktan kemiğe geçiş bölgesinde küçük yırtık. (b) Tip 2 yırtık. Ayak izinin merkezine uzanan yırtık. (b) Tip 3 yırtık. *T.Major'*a uzanan yırtık (49)



Şekil 14. Habermayer ve ark. sınıflamasında parsiyel lezyon sınıflaması. Transvers planda eklem tarafı uzanımlı supraspinatus tendon yırtığı. (a) Tip A yırtık. Supraspinatus tendonunun medial sınırına uzanan korakohumeral ligament yırtığı. (b) Tip B yırtık. Kresent bölgesine uzanan izole yırtık. (c) Tip C yırtık. Pulley sisteminin lateral kısımının üzerinden supraspinatus tendonunun medial kısımından kresent bölgesine uzanan yırtık (49)

Tam Kat Rotator Manşet Yırtıkları

Tam kat rotator manşet yırtıkları sınıflandırılması için tanımlanmış birçok önemli faktör vardır. Bu faktörler boyut, içerdiği tendon sayısı, yırtık şekli, doku kalitesi MRI veya BT ile değerlendirilen yağlı dejenerasyon veya atrofi varlığını içermektedir. Ancak bu faktörlerin hepsini içeren bir çalışma yoktur. Tam kat lezyonlarda tendonun eklem tarafından bursal tarafa uzanan yırtık vardır. Bundan dolayı omuz eklemi ile subakromiyal alan direkt ilişkilidir, bunun sonucunda her iki anatomik alan arasında sıvılar birbirine karışır. Lezyonlar büyüklüğüne ve geometrik paternine sınıflandırmalar yapılmıştır (Tablo 3,4).

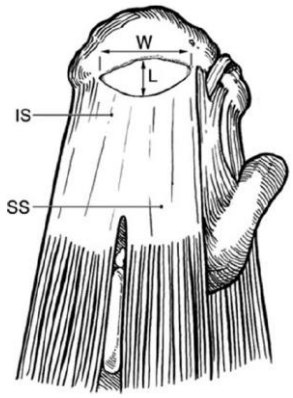
Tablo 3. Büyüklüğüne göre tam kat yırtıklar (49)

Küçük yırtık	<1 cm
Orta yırtık	1-3 cm
Büyük yırtık	3-5 cm
Masif yırtık	>5 cm

Davidson ve Bukhart daha önce yapılan sınıflamalarda sadece lezyonun çapı ve etkilenen lezyonu içerdiğinden dolayı geometrik sınıflandırmayı tanımlamışlardır böylece lezyonun üç boyutlu yapısı preoperatif (MRI) ya da intraoperatif (artroskopik) değerlendirilebilir. Bu sınıflamayla lezyon dört tipe ayrılmıştır.

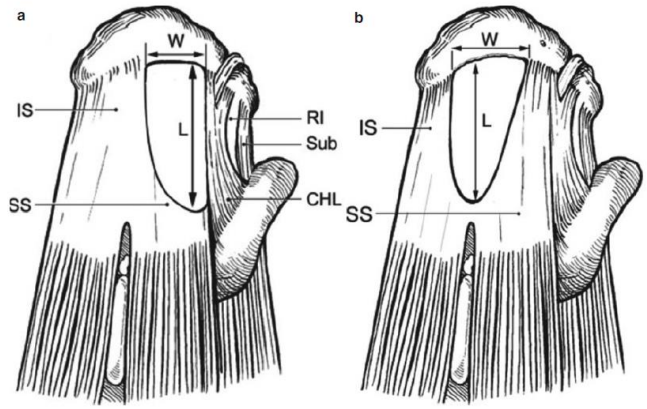
Tablo 4. Tam kat lezyonlarda Davidson ve Burkhart geometrik sınıflaması (49-51)

Tip	Tanım	Preoperatif değerlendirme (MRI)	Tedavi	Prognoz
1	Kresent- Hilal	Kısa ve geniş yırtık	Kemiğe tekrar tespit	İyi/mükemmel
2	Longitudinal ‘’L’’ ya da ‘’U’’ şekil	Uzun ve dar yırtık	Uç uca tamir	İyi/mükemmel
3	Masif, retrakte	Uzun ve geniş yırtık >2x2 cm	Parsiyel tamir ya da sıra tamir	İyi/kötü
4	Cuff artropati	Cuff artropati	Omuz protezi	İyi/kötü



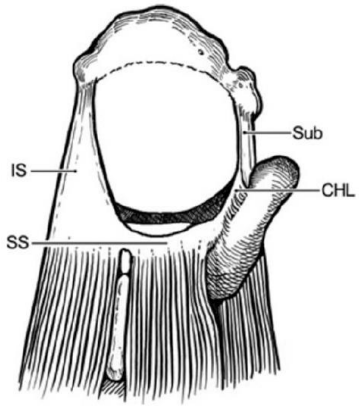
IS: Infraspinatus kası, **SS:** Supraspinatus kası.

Şekil 15. Tip 1. Hilal (kresent) şeklinde yırtık. Karakteristik olarak medial lateral uzunluğu (L), anterior posterior (W) uzunluğundan daha azdır. ((49)



IS: Infraspinatus kası, **RI:** Rotator interval, **Sub:** Subscapularis kası, **CHL:** Korakohumeral ligament

Şekil 16. (a) Tip 2, L şeklinde yırtık. Uzunluğu (L) genişliğinden (W) daha büyüktür. (b) Tip 2, U şeklinde yırtık. Uzunluğu (L) genişliğinden (W) daha büyüktür (49)



IS: Infraspinatus kası, **RI:** Rotator interval, **Sub:** Subscapularis kası, **CHL:** Korakohumeral ligament.

Şekil 17: Tip 3, masif kontrakte olmuş yırtık uzun ve geniştir. (49)

Patte yırtığın anatomik ve patolojik özelliklerine ayrıntılı bir sınıflama yapmıştır. Bu parametreler rotator manşet yırtıklarının uzanımı, yırtığın sagittal ve frontal plandaki topografisi, yırtılmış tendonunun kasının topografik kalitesi ve preoperatif görüntülemede biceps uzun başının durumudur. Sınıflamadaki frontal kesitlerdeki en önemli parametre ise koronal planda supraspinatusun retraksiyonudur.

Goutallier, bilgisayarlı tomografi görüntülerini kullanarak supraspinatus kası göbeğindeki yağlı çizgilerin varlığını baz alarak sınıflandırma ortaya koymuştur.

ROTATOR MANŞET YIRTIKLARINDA TEDAVİ SEÇENEKLERİ

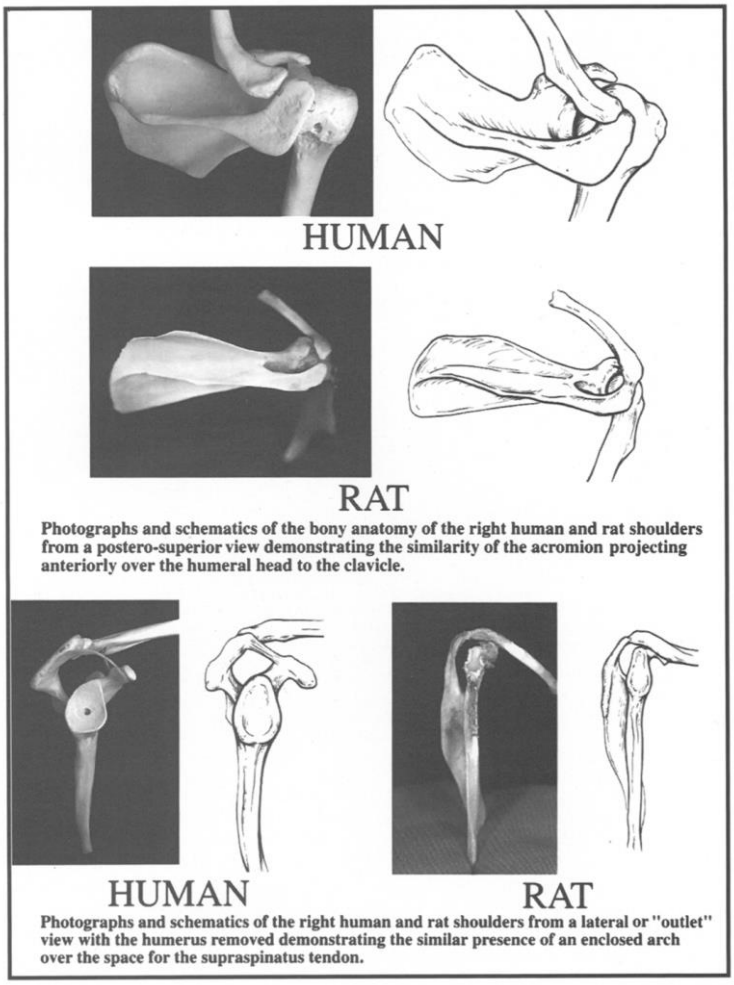
Rotator manşet yırtıklarının tedavisinin seçiminde konservatif ve cerrahi yöntemler yer alır. Özellikle semptomların az olduğu ve nispeten daha küçük yırtıklarda tedavi yöntemi tartışması halen devam etmektedir. Tam kat yırtıklarda cerrahi tedavi yaygın olarak seçilmekte birlikte, konservatif tedavi ile başarılı sonuçlar alındığını bildiren çalışmalar mevcuttur (52, 53) Hastanın yaşına, yırtığın boyutuna ve yırtık bölgesindeki atrofinin derecesine bağlı olmakla birlikte, tedavi yöntemleri arasında konservatif tedavi de yerini almıştır. Ancak, henüz tam olarak görüş birliğine varılmış rehabilitasyon yöntemi veya egzersiz kılavuzu yoktur. Konservatif tedavinin temelinde asıl amaç bozulan rotator manşeti, fonksiyon görür hale getirmektir. Konservatif tedavide ağrı ve fonksiyona ayrı ayrı yaklaşılması gerekmektedir. Omuz fonksiyonları yeterli, yaşlı veya düşük aktiviteli hastalarda konservatif tedavi etkin olmaktadır. Konservatif tedavi edilen hastaların semptomlarının düzeldiği bildirilmiştir. Semptomların süresi ve konservatif tedaviye alınan yanıt ters orantılıdır. 6 aydan daha fazla semptomatik olan hastalarda konservatif tedaviye başarılı yanıt alma oranı düşmektedir (54). Konservatif tedaviye rağmen yırtıkta zaman içinde iyileşme görülmemesi, bilinen semptomlara ağrı ve hareket kaybının da eklenmeye başlaması, konservatif tedaviden artık uzaklaşmak gerektiğine işaret etmektedir. Cerrahi tedavi sonrası yeterli fonksiyonun sağlanması için, rotator manşetteki yırtığın tam anatomik tamiri gerekli değildir ve tam anatomik tamir teknik olarak mümkün de değildir. Yırtık kenarlarının fibrotik ve avasküler hale gelmiş olması nedeniyle tamir sahasında vasküler bir kemik yatağının hazırlanması ve yırtık kenarlarının tazelenmesi gereklidir. Yırtığın mediale doğru supraspinat kas, öne doğru subskapular kas ve arkaya doğru infraspinat kas tarafından çekilmekte olduğu düşünüldüğünde, tamir bittiğinde kol vücudun yanında iken (yani abduksiyonda değilken) tamir sahasının gergin olmaması gerekir. Gerginlik olmadan yırtık kenarlarının uç uca getirilerek tamiri ve son olarak hazırlanan kemik yatağına sabitlenmesi ile rotator kaslar arasındaki devamlılık sağlanmış olur. Tamir sahasının akromiyon ile temasta olacağı üst yüzeyinin düzgün olması da önemlidir. Ekleme hareket verilmesi ile

eklem sıvısının pompalanmasının etkisiyle sıvının subakromiyal bölgeye geçmesi tamiri tehlikeye atacağından, tamirin sıkıca yapılması önemlidir. Böylelikle tamir sonrasında yeni bir yırtık oluşması da önlenmiş olur (55).

RATLARDA OMUZ ANATOMİSİ

Muridae ailesinin, Rattus cinsinin, R. norvegicus türünden olan Sprague Dawley, omuz bölgesi anatomisinin insanınki ile benzerliği nedeniyle deneysel çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir (56). İyi gelişmiş akromiyon, belirgin spina skapula, subakromiyal bursa, akromiyoklavikuler eklem, klavikula, humerus, supraspinatus ve infraspinatus tendonları, biseps tendonu ve diğer bölümleri ile zorlanmadan ayırt edilebilen anatomik yapılara sahiptir. Hafif eğimli sıçan klavikulasının kalın olan medial ve lateral uçları, sternoklavikuler ve akromiyoklavikuler eklemlere ligamentlerle tutturulmuştur. Klavikula lateral ucunda iki ligament ile mediale yönlenen korakoid çıkıntıya tutunur. Skapulanın superior kenarı insanlardaki skapuler çentiğe (incisura scapula) sahip değildir. Sıçan skapulası supero-inferior boyutlara oranla, medio-lateral olarak daha uzun olduğundan dolayı, spina skapula insanlardakine kıyasla daha uzundur. Belirgin olan akromiyon humeroskapuler eklemi örter. Glenoidin oval eklem yüzeyi kartilajinoz labrum sayesinde genişlemiştir ve skapula cismine görece uzun ve dar olan bir boyun ile bağlanmıştır.

Humerus başının yarı sferik bir eklem yüzeyi, tuberkulum majus, tuberkulum minus ve intertuberkuler sulkusu mevcuttur. Deltoid kasın yapışma noktası olan, humerusun proksimal yarısında, lateralde yer alan, insanlara göre daha belirgin olan deltoid tuberosite; geniş tabanlı, çengel benzeri belirgin bir çıkıntı oluşturur. Glenohumeral eklem dış kısmında skapulohumeral kasların düzleşerek yer aldığı belirgin bir kapsülle çevrelenmiştir. Klavikulanın lateral kenarı, akromiyon ve korakoakromiyal bağ subakromiyal boşluğu sınırlandıran osteofibroz bir ark oluşturur. Bu boşlukta sinoviyal bursa, suprasipinatus kası tendonu, eklem kapsülünün bir kısmı ve kapsülün altında biseps kası uzun başı tendonu yer alır. Bu yapıların insandakine anatomik benzerliği dikkate alındığında, omuz hastalıklarının araştırılması için sıçanların uygun bir deney hayvanı olduğu söylenmektedir (Şekil 18) (56).



Şekil 18. İnsan ve rat kemik anatomisinin karşılaştırılması (56)

EXTRACORPOREAL SHOCK WAVE THERAPY (ESWT)

Yüksek amplitüdlü ses dalgalarının vücudun istenen bölgesine odaklanması ve orada tedavi sağlaması esasına dayalı, yeni bir ortopedik tedavi yöntemidir. 1970'lerde şok dalgalarının ürolojide kullanılmaya başlanmasından sonra yapılan deneysel çalışmalarda, alt üreter taşların kırılması esnasında iliumda değişikliklerin oluştuğu görülmesi üzerine, kemik doku üzerine çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (57). Ortopedide yapılan ilk çalışma, 1987 yılında Karpman ve arkadaşları tarafından yapılmış ve köpeğin femurunda oluşturulan modelde, şok dalgaları uygulanarak kemik çimentosu ve çimento-kemik aralığında mikro-kırıklar oluştuğu bildirilmiştir (58). Daha sonra farklı çalışmalarda gecikmiş kaynama ve kaynamama serileriyle başarı elde edilmesiyle ortopedi ve travmatoloji alanında yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve günümüzde lateral humeral epikondilit, plantar fasiit, omuzda görülen kalsifiye tendinit, kırık kaynamama ve kaynama gecikmesinde yoğun olarak kullanılmaktadır (59, 60). Şok dalgaları, yüksek amplitüd ve kısa dalgalı, tekli pulsatil akustik

dalgalardır. Bu dalgalar, iki farklı akustik empedansı olan doku aralığında (örneğin; yumuşak dokudan kemiğe geçerken) mekanik enerjilerini dağıtır. Şok dalgaları, elektrik jeneratörleri tarafından üretilir,ve dalga oluşumu için elektroakustik konvertör ile bir eliptik odaklayıcıya ihtiyaç duyar. Sesi yaratan jenaratörün tipine göre; elektrohidrolik, elektromanyetik ve piezoelektrik olmak üzere üç farklı sistem bulunmaktadır. Şok dalgaları, su gibi sıvı bir ortam içinde yaratılır ve biyolojik dokulara geçişini kolaylaştırmak için jel kullanılır (57-59, 61, 62)

Şok dalgası oluşturan cihazları ve farklı tedavileri karşılaştırmada, "enerji yoğunluğu" ve "total enerji miktarı" önem taşımaktadır. Enerji yoğunluğu *(Energy Flux Density)*, her şok dalgasında 1 mm^2 alana iletilen maksimum akustik enerji miktarıdır. Total dalga enerjisi, uygulanan alana yayılan enerji yoğunluklarının toplamıdır. Bu terim, her şok dalgası tarafından ortaya çıkarılan total akustik enerjiyi tanımlamaktadır. Total enerji miktarı ise, her dalga tarafından ortaya çıkarılan enerjinin kullanılan şok sayısıyla çarpımı sonucu elde edilir (57-59, 61, 62). Literatürde düşük, orta ve yüksek enerjiden bahsedilmektedir fakat bu tanımlamalar ile ilgili fikir birliği henüz oluşturulmamıştır. Genel kabul gören fikir, yüksek dozların hasara yol açtığı ve uygulanmaması gerektiği şeklindedir. Şok dalgaları, ultrason dalgalarına benzese de onlardan farklıdır. Ultrason dalgaları eşit olarak yayılmakla birlikte şok dalgalarında bulunan akustik enerji iki ortamı ayıran sınırdan geçerken değişime uğrayarak hem basınç hem de elastik güç ortaya çıkarır ve bunun sonucunda kabarcık (kavitasyon) etkisi oluşturmaktadır (61, 62).

ESWT'nin Tendon Kemik Bileşkesi Üzerindeki Etkileri

Tendon kemik bileşkesine ESWT'nin etkisiyle ilişkili birçok deneysel çalışma yapılmıştır. Orhan ve ark. farelerde aşil tendonu parsiyel rüptür modelinde, ESWT uygulanan (500 şok dalgası, 15 kV) denekler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, yeni damar oluşumunun arttığı, daha az yapışıklık geliştiği ve mekanik olarak daha güçlü bir doku elde edildiğini bildirmişlerdir (63). Wang ve ark. ise tavşanlarda aşil tendonunda, tendon kemik bileşkesine şok dalgaları uygulayarak neovaskülarizasyon artışı sağlandığını ve VEGF, eNOS gibi anjiyogenez ile ilişkili göstergelerde artış olduğunu saptamışlardır (64). Quin ve ark. yaptığı tavşan çalışmasında ise parsiyel patellektomi yapıldıktan sonra patella-patellar tendon kompleksinin iyileşmesini incelemişler ve kemik tendon bileşkesinde osteogenezisi indüklediği, fibrokartilaj alanında regenerasyon geliştiği bulunmuş (65).

Sonuç olarak; ESWT'nin yumuşak dokulardaki olası etki mekanizmasının, şok dalga sonrası anjiyogenez ile ilişkili büyüme faktörlerinin ortama alınması ve bunun da yeni damar oluşumunu ve ortamdaki oksijenasyonu arttırarak doku iyileşmesini hızlandırılması olduğu

düşünülmektedir. Yumuşak doku patolojilerinde, uygulama dozları ve kullanılan enerji miktarlarında çalışmalar arasında farklılıklar görülmektedir (62).

CRİMSON DUVET TEKNİĞİ

İlk olarak 2009 yılında Snyder tarafından tanımlanan tekniğin amacı, mezenkimal kök hücrelerin biyolojik iyileşme etkisini kullanarak ayak izi bölgesine tamiri yapılan rotator manşetin daha etkin tamirinin yapılmasını sağlamaktır (66). Rotator manşet tamiri cerrahisi sırasında *Tuberkulum majus* korteksinde küçük deliklerin açılmasıyla kemik iliğininden kırmızımsı mor renkli pıhtının (Crimson) tamir edilmiş rotator manşeti ve tuberkulum üzerini tıpkı bir battaniye gibi sarması (Duvet) sonucu ortaya çıkan görüntüden dolayı bu isim verilmiştir. Kortekste açılan deliklerin kansellöz kemiğe kadar ilerlemesi, kemik iliğinin tamir yapılan bölgeye ulaşması gerekmektedir. Bu ortaya çıkan süper pıhtının mezenkimal kök hücrelerden zengin olduğu bilinmekte olup rotator manşet iyileşmesine katkı sağlayabilecek olan büyüme faktörlerini içeren plateletler ile vasküler elemanlar bu süper pıhtının içerisinde bulunmaktadır. İyileşme cevabının oluşması için dokulara zengin miktarda kan gitmesi gerekmektedir. Kan polimorfnükleer hücreler, makrofajlar, fibrin pıhtısı (geçici skafold) ve pıhtı içerisinde hapsedilmiş büyüme faktörlerini içeren plateletleri sağlamaktadır. Skafold aynı zamanda hücrelere yol gösterici kondüktif alan sağlayıp migrasyon ve proliferasyon oluşmasını sağlar. Büyüme faktörleri rotator manşet iyileşmesi için önemli olup degranüle olmuş plateletlerden, serumdan ve lokal hücrelerden kaynaklanır. Normal hasarlanma cevabında bu büyüme faktörleri ortaya çıkarak doku iyileşmesini sağlayan metabolik süreci başlatacak gücü sağlar.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu deneysel çalışmada ratlarda kronik rotator manşet rüptürü modeli oluşturulduktan sonra rotator manşet tamiri yapılarak, kemik tendon bileşkesinde ESWT ve bir kemik iliği stimülasyon tekniği olan Crimson Duvet tekniğinin iyileşmede etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna başvuru yapılarak Ek-1'de yer alan 27/12/2019 tarih 2019/28 sayılı etik kurul onayı alındı ve Ocak 2020 tarihinde çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerine başvuru yapılarak ve 2020/39 sayılı onay alındı. 30 adet Sprague-Dawley cinsi rat Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma laboratuvarından elde edildi.

Sprague-Dawley cinsi ratlar yetişkin, erkek cinsiyette olacak şekilde seçildi. Ratların ağırlıkları 450-530 gr. arasında değişmekteydi. Tüm ratlar eşit şartlarda olacak şekilde gece ve gündüz farkı olmaksızın, nokturnal yapılarına uygun olarak aynı oda ısısında ve nem oranıyla muhafaza edildiler. Ratlara herhangi bir diyet kısıtlaması yapılmamış olup kuru yem ve su ad-libitum olacak şekilde ayarlanmıştır. Tüm deneysel çalışmalar Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarında yürütüldü ve deney sonrası yapılan immünohistokimyasal incelemeler ve istatistiksel çalışmalar yine Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi bünyesinde yapıldı.

Deneysel çalışmada kullanılan 30 adet rat 3 gruba ayrıldı (Tablo 5). Gruplar özetle, Grup I (kontrol grubu) (n:10): Kronik rotator manşet rüptürü modeli oluşturulması ve tamiri yapılması, Grup II (n:10): Kronik rotator manşet rüptürü modeli oluşturulması ve tamiri yapılması ile ESWT uygulaması yapılması, Grup III (n:10): Kronik rotator manşet rüptürü modeli oluşturulması ve Crimson Duvet tekniği ile tamiri yapılması olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda 3 ana grup olmasına rağmen aslında farklı zaman aralıklarında sakrifikasyon ve tamire yardımcı teknik kullanıldığından alt gruplarla birlikte 6 farklı grup bulunmaktadır. Bu

şekilde değerlendirildiğinde her grupta 5 denek olacak şekilde planlama yapılmıştır. Bu sebeple anlamlı olabilecek en az sayıda hayvan kullanılarak çalışma tamamlanmıştır.

Tablo 5. Kronik rotator manşet rüptürü modelinde grupların dağılımı

Grup	Rotator manşet tamiri	Rotator manşet tamiri+ESWT	Crimson Duvet tekniği ile Rotator manşet tamiri
I (n:10)	+	-	-
II (n:10)	-	+	-
III (n:10)	-	-	+

Başarı oranını arttırmak yani tendon kemik iyileşmesini sağlamak ve tamir edilen bölgede yeniden yırtık oluşumunu önlemek için farklı cerrahi teknikler (tek sıra tamir, çift sıra tamir vb.) ya da takviyeler (augmentasyon) denenmektedir. Yapılan bu deneysel çalışmada da biyolojik augmentasyon tekniği olan Crimson Duvet tekniği ile biyolojik olmayan bir teknik olan, kullanımı kolay, ESWT (extracorporeal shock wave therapy) cihazının iyileşmeye olan katkıları incelenmiştir. İyileşme sonucu da histomorfolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir.

İyileşme sonucunun histomorfolojik olarak değerlendirilmesinin sebebi daha önce yapılan birçok hayvan çalışmasına göre tendon kemik bileşkesi tamiri yapıldıktan sonra normal tendon kemik bileşkesi yeniden oluşmayıp bir reaktif skar formasyonu oluşturmasıdır (67, 68). Her ne kadar reaktif skar formasyonu oluşuyor olsa da oluşan reaktif doku yapılan çalışmalara göre ne kadar normal tendon ve kollajen yapısına benziyorsa iyileşmenin o kadar iyi olduğu yönündedir (69, 70). Bundan dolayı tenosit görünümü, kollajen yapısı, zemin yapısı ve vaskülarite incelemesi yapılarak, Bonar Skala skoru elde edilerek, gruplar arası karşılaştırma yapıldı.

DENEYSEL ÇALIŞMA MODELİ

Deneyin ilk gününde tüm gruplarda bulunan ratlara 50 mg/kg Ketamin HCL (Ketalar®, Pfizer-USA) ve 5 mg/kg Xylazine HCL (Xylazın Bio %2®, Bioveta-Çekya) verilerek anestezi uygulandı. Daha sonra bütün ratların sağ üst ekstremite ve torakal bölgesi Betadine scrub (10 % Povidoneiodine, Merkez-Türkiye) solüsyonu ile antisepsi sağlandı. Ardından skapula üzeri ve omuz çevresi traş edildi ve 15 numara bistüri kullanılarak spina skapula üzerinden proksimal humerus lateral bölgesine uzanan insizyonla cilt, cilt altı dokular ve fasya geçildikten sonra

künt diseksiyonla gidilerek supraspinatus ve infraspinatus kaslarının tendonları bulundu ve daha sonraki cerrahide tendonların bulunmasını kolaylaştırmak amacıyla 3/0 ipek sütur ile işaretlendi (Şekil 19). İşaretlenen tendonlar 11 numara bistüri kullanılarak proksimal humerus ile tendon-kemik bileşkesine yakın yerden keskin diseksiyon yapılarak proksimal humerus eklem yüzü görüldü (Şekil 20). Ardından 2/0 propylene kullanılarak cilt kapatıldı, yara yeri %10 povidoneiodine ile silinerek pansumanı yapıldı ve operasyona son verildi.

Tüm gruplarda bulunan toplam 30 adet rat ilk yapılan cerrahi sonrası 4 hafta boyunca herhangi bir işlem uygulanmayarak normal yaşam döngüsünde, herhangi bir kısıtlama yapılmadan bekletildi. Geçen bu süre boyunca kronik rotator manşet rüptürü modeli oluşturulduğu düşünüldü (71). Beklenilen süre dolduktan sonra tekrar 50 mg/kg Ketamin HCL (Ketalar®, Pfizer-USA) ve 5 mg/kg Xylazine HCL (Xylazın Bio %2®, Bioveta-Çekya) verilerek ratlar cerrahiye alındı. Bütün ratların sağ üst ekstremite ve torakal bölgesi Betadine scrub (10 % Povidoneiodine, Merkez-Türkiye) solüsyonu ile antisepsi sağlandı. Eski insizyon yerine uygun olarak tekrar 15 numara bistüri ile cilt, cilt altı ve fasya geçildi. Künt diseksiyon yapılarak daha önceden 3/0 ipek sutür ile işaret sutürleri konulmuş olan, keskin diseksiyonla tendon kemik bileşkesine yakın yerde kesilmiş supraspinatus ve infraspinatus tendonları bulundu. Tüm cerrahilerde bu basamağa kadar ortak uygulama yapıldı.

Bu basamaktan sonra Grup I ve Grup II'de işaret suturleri konulmuş olan tendonlar yapıştıkları çevre dokulardan künt diseksiyon ile ayrıldı ve 2/0 propylene kullanılarak tekrar humerus proksimaline yapıştıkları yere uygun olacak şekilde hem tendondan hemde proksimal humerus kemik bölgesinden geçilerek modifiye Mason-Allen sütur tekniği kullanılarak dikildi. Sütur düğümü tendon-kemik iyileşmesini bozmaması için tamir yapılan bölgeden uzakta, proksimal humerus üzerinde bırakıldı (71-74) (Şekil 21).



Şekil 19. Supraspinatus kasının bulunup ipek sütur ile işaretlenmesi



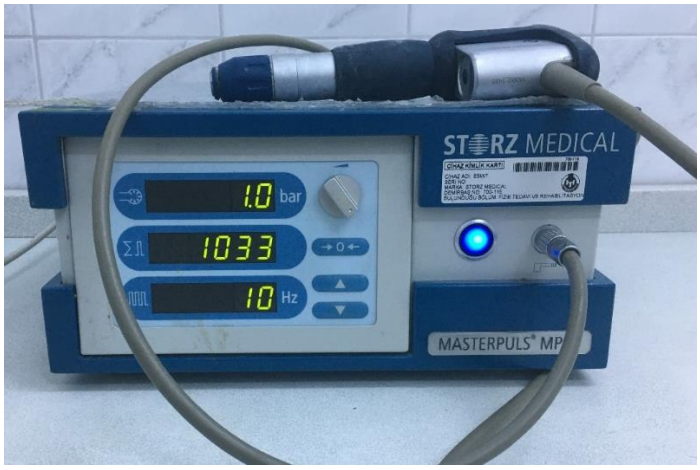
Şekil 20. Supraspinatus ve infraspinatus kaslarının keskin diseksiyonu sonrası proksimal humerus eklem yüzünün görünümü



Şekil 21. Supraspinatus ve infraspinatus kaslarının humerus proksimaline tekrar dikildikten sonraki görüntüsü

Grup III ise Crimson Duvet tekniği (kemik iliği stimülasyon tekniği) oluşturmak için tamir yapılmadan önce proksimal humerus üzerinde 1 mm çapında kirschner teli cerrahi motor (Shanghai Bojin Medical Instrument- Shanghai) yardımıyla kortekste 4 adet delik açılarak kansellöz kemiğe kadar ilerletilerek kemik iliğinin cerrahi yapılan bölgeye ulaşması sağlandı (75). Ardından Grup I ve Grup II'de olduğu gibi işaret suturleri konulmuş olan tendonlar yapıştıkları çevre dokulardan künt diseksiyon ile ayrıldı ve 2/0 propylene kullanılarak tekrar humerus proksimaline yapıştıkları yere uygun olacak şekilde hem tendondan hemde proksimal humerus kemik bölgesinden geçilerek modifiye Mason-Allen sütur tekniği kullanılarak dikildi. Sütur düğümü tendon-kemik iyileşmesini bozmaması için tamir yapılan bölgeden uzakta, proksimal humerus üzerinde bırakıldı.

Tüm gruplar tekrar herhangi bir kısıtlama olmadan normal yaşam döngüsünde kafeslerine alındı. 2 hafta geçtikten sonra Grup II'de bulunan tüm ratlara 30 mg/kg Ketamin HCL (Ketalar®, Pfizer-USA) ve 5 mg/kg Xylazine HCL (Xylazın Bio %2®, Bioveta-Çekya) verilerek anestezi altında ESWT uygulaması yapıldı. ESWT uygulaması (Masterpuls® MP50-Storz Medical AG, Kreuzlingen, Switzerland) ratlarda cerrahi yapılan omuz bölgesine jel sürülerek 1.0 Bar, 1000 atım, 10 Hz olacak şekilde yapıldı (Şekil 22).



Şekil 22. ESWT uygulaması yapılan cihaz ve yapılmış olan tedavi protokolüne ait örneklem

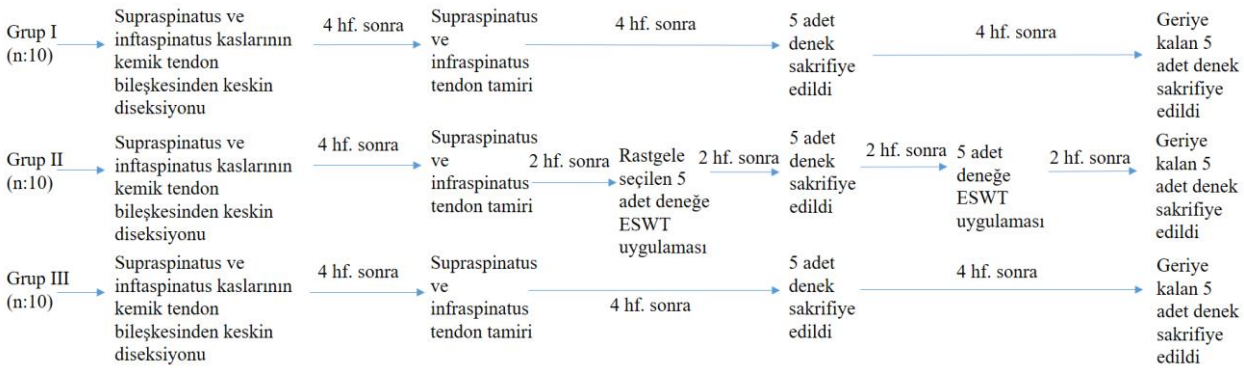
İlk ESWT uygulamasının yapılması üzerinden 2 hafta geçtikten sonra (tüm gruplarda kronik tendon rüptürü modeli tamiri yapıldıktan 4 hafta sonra) her gruptan rastgele seçilmiş 5 adet rat 50 mg/kg Ketamin HCL (Ketalar®, Pfizer-USA) ve 5 mg/kg Xylazine HCL (Xylazın Bio %2®, Bioveta-Çekya) verildikten sonra anestezi altında servikal dislokasyon yapılarak sakrifiye edildi. Tamir yapılmış olan sağ humerus proksimal kısmı, supraspinatus kası ve infraspinatus kasının kemik- tendon bileşkesi içerecek şekilde rezeke edildi (Şekil 23). İmmünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi için, her örnek için ayrı ayrı, 100 mL hacimli kapaklı kapta (pnömatik sistem non- steril idrar numune kabı- Fratmed) %10'luk formaldehit çözeltisine konuldu.



Şekil 23. Sakrifikasyon sonrası rezeke edilen materyal

Tüm gruplarda kronik tendon rüptürü modeli tamiri yapıldıktan 6 hafta sonra (Her gruptan sakrifikasyon yapıldıktan 2 hafta sonra) Grup II'de bulunan 5 adet deneğe tekrar ESWT uygulaması (Masterpuls® MP50-Storz Medical AG, Kreuzlingen, Switzerland) yapılması için 30 mg/kg Ketamin HCL (Ketalar®, Pfizer-USA) ve 5 mg/kg Xylazine HCL (Xylazın Bio %2®, Bioveta-Çekya) verildi ve anestezi altında cerrahi yapılan omuz bölgesine jel sürülerek 1.0 Bar, 1000 atım, 10 Hz olacak şekilde uygulandı. Ardından denekler normal yaşam döngüsüne, kafesler içerisine bir kısıtlama olmadan bırakıldı.

İkinci ESWT uygulaması yapıldıktan 2 hafta sonra (tüm gruplarda kronik tendon rüptürü modeli tamiri yapıldıktan 8 hafta sonra) tüm gruplarda bulunan denekler 50 mg/kg Ketamin HCL (Ketalar®, Pfizer-USA) ve 5 mg/kg Xylazine HCL (Xylazın Bio %2®, Bioveta-Çekya) verildikten sonra anestezi altında servikal dislokasyon yapılarak sakrifiye edildi. Tamir yapılmış olan sağ humerus proksimal kısmı, supraspinatus kası ve infraspinatus kasının kemik-tendon bileşkesi içerecek şekilde rezeke edildi. Histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi için, her örnek için ayrı ayrı, 100 mL hacimli kapaklı kapta (pnömatik sistem non- steril idrar numune kabı- Fratmed) %10'luk formaldehit çözeltisine konularak tıbbi patoloji birimine teslim edildi (Şekil 24).



Şekil 24. Çalışma planı özeti

Örneklerin Değerlendirme için Hazırlanması

Her örnek %10 formaldehit çözeltisi içerisinde 24 saat tespit edildikten sonra %10'luk formik asit içerisinde kesilir hale gelene kadar bekletilerek kemik dokular dekalsifiye edildi. Ardından incelecek parçalar uzunlamasına kesilerek (kemik tendon bileşkesi görülecek şekilde) Tissue-Tek VIP® 6 AI (Sakura®-Japan) otomatik doku takip cihazına yerleştirildi. 12 saat süren işlem sonucunda parafine gömüldü. Parafine gömülen bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Dokuların histopatolojik değerlendirilmesi için Hematoksilen- Eozin (H&E), kolajen,

kemik ve çizgili kasları daha iyi görebilmek için de Masson Trikrom histokimyasal boyama işlemi yapıldı. Hematoksilen- Eozin (H&E) ve Masson Trikrom için rutin prosedürler uygulanarak boyama işlemi yapıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirme işlemi için seçilen BMP- 2, BMP- 7 ve TGF- B1 antikorları Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, USA), CD34 antikoru ise Dako (Glostrup, Denmark) firmasından temin edildi. İmmünohistokimyasal değerlendirme için parafin bloklar 4 mikron kalınlığında kesitler alındıktan sonra lamlar Ventana medical system (Roche- USA) Benchmark XT/ ISH staining modülüne yerleştirildi ve Optiview universal DAB detection kit kullanılarak rutin prosedürler uygunlandı. Uygulanan rutin prosedürler haricinde antikorların inkübasyon süreleri ise farklı tutuldu. Antikorların inkübasyon süresi BMP- 2, BMP- 7, TGF- B1 ve CD34 için sırasıyla; 52 dk, 40 dk, 32 dk, 56 dk olarak uygulandı. Hazırlanmış olan kesitler ışık mikroskopu (Eclipse Ci-L, Nikon) kullanılarak tendon kemik ilişkisi, inflamasyon ve fibrosis varlığı, yabancı cisim reaksiyonu varlığı açısından değerlendirildi.

HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Hematoksilen- Eozin (H&E) ve Masson Trikrom boyaması sonrası hazırlanmış preparatlar çalışma gruplarını bilmeyen deneyimli uzman patolog eşliğinde kıdemli patoloji asistanı tarafından Bonar Skala skorlaması ile değerlendirildi (69, 70, 76). Yanlılığı azaltmak ve daha kaliteli değerlendirme yapabilmek için çalışma grupları farklı iki zamanda incelendi. H&E ve Masson Trikrom boyalı kesitlerde dokunun tenosit özellikleri, zemin maddesi, kolajen yapısı ve vaskülarite değerlendirildi.

Bu değerlendirme Bonar Skalasına göre skorlandı. Bonar skorlaması semikantitatif bir değerlendirme olup, skorlama sistemi 4 puanlıdır. ‘’0’’ değeri normal görünüm anlamına gelirken ‘’3’’ değeri anormal görünüm anlamına gelmektedir (Tablo 6). Sonuç olarak toplam verilen skor 0 (normal tendon) ile 12 (saptanabilen en ciddi anormal değişikliğe sahip tendon) arasında değişmektedir.

Tablo 6. Bonar Skala skorlaması (69, 70)

Değişkenler	0	1	2	3
Tenosit	Belirgin olmayan iğ şeklinde uzamış nükleus ile ışık mikroskobunda belirgin görülemeyen sitoplazma	Artmış yuvarlaklık: belirgin sitoplazma görülmeden nükleus yuvarlak şekilden ovoid biçimini almaya başlamış	Artmış yuvarlaklık ve boyut: nükleus yuvarlak ve biraz genişlemiş, küçük bir miktar görülebilen sitoplazma	Nükleus yuvarlak ve geniş, bol miktarda görülebilen ve lakuna formasyonunda sitoplazma (kondroid değişiklik)
Zemin Maddesi	Boyanabilir zemin yok	Fibriller arasında boyanabilir müsin fakat fibril demetleri hala belirgin	Fibriller arası boyanabilir müsin ile fibril demetleri sınırlarında belirginlik azalmış	Tüm alanlar müsin ile boyanmış ve kolajen boyanması belirgin değil
Kolajen	Kolajenler sıkıca birbirine bağlı. Demetler yoğun, parlak, sınırları düzgün, homojenize polarizasyon paterninde	Kısa fibril polarizasyonu: Kolajen demetlerinin sınırları devam edecek şekilde fibrillerin ayrışması	Demet değişiklikleri: Kolajen demetlerinin sınırının bozulması, dokunun genişlemesi ile birlikte normal polarizasyon paterninin kaybolması	Fibrillerde belirgin ayrışma ve kolajen yapısının tamamen kaybı
Vaskülarite	Demetler arasında belirgin olmayan kan damarları	Nadir kapiller kümeleri, Her 10 büyük büyütme alanında 1'den az düşecek şekilde	Her 10 büyütme alanına 1-2 arasında kapiller kümesi	Her 10 büyük büyütme alanında 2'den daha fazla kapiller kümesi

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Histopatolojik değerlendirme yönteminde olduğu gibi hazırlanmış olan preparatlar çalışma gruplarını bilmeyen deneyimli uzman patolog eşliğinde kıdemli patoloji asistanı tarafından ışık mikroskopu ile değerlendirilmiştir. Yanlılığı azaltmak ve daha kaliteli değerlendirme yapabilmek için iki farklı zamanda değerlendirilmiştir. BMP-2, BMP-7, TGF-β1 antikorları immünohistokimyasal boyama için skala sistemi ile değerlendirilmiştir (Tablo 7). Bu skala sistemi 5 dereceli olup boyama yoğunluğu ve boyanan hücrelerin yüzdesini içeren kombinasyonla adapte edilmiştir. CD34 antikoru ise CD34 boyanan endotelyal hücrelerin mikrodamar olduğu öngörülerek hesaplaması yapılmıştır. İlk olarak mikrovasküler yoğunluk değerlendirmek için x40 ve x100 büyütmede en çok boyanmanın olduğu 3 alan seçildikten sonra x200 büyütme kullanılarak her 3 alanda boyanan mikrodamarlar sayılarak ortalaması alındı ve ortalama mikrovasküler yoğunluk hesaplandı (77, 78).

Tablo 7. İmmünohistokimyasal Değerlendirme için Skorlama Sistemi (79)

	-	+	++	++	+++	+++	++++
Pozitif boyanmış hücrelerin tüm hücre popülasyonuna oranı (%)	0	<%10	%25	%50'ye kadar	%50	%80'e kadar	≥%80
Boyanma yoğunluğu	Yok	Zayıf	Güçlü	Orta	Güçlü	Orta	Güçlü

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

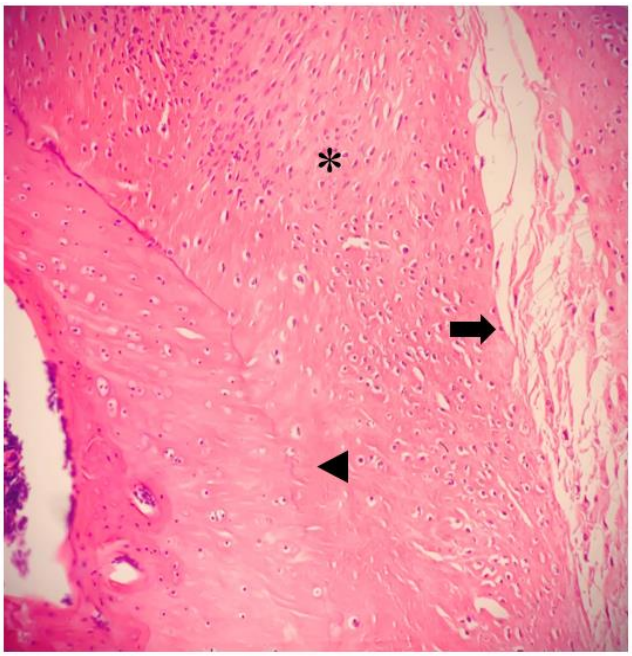
Çalışma sonucunda elde edilen verilerin istatiksel analizi için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 (Lisans No: 10240642) programı kullanıldı. Sonuçların analizinde tanımlayıcı istatiksel metotlar (Ortalama, SS); niceliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Student t testi, tek yönlü ANOVA testi ve Mann Whitney U testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığı ve anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi

BULGULAR

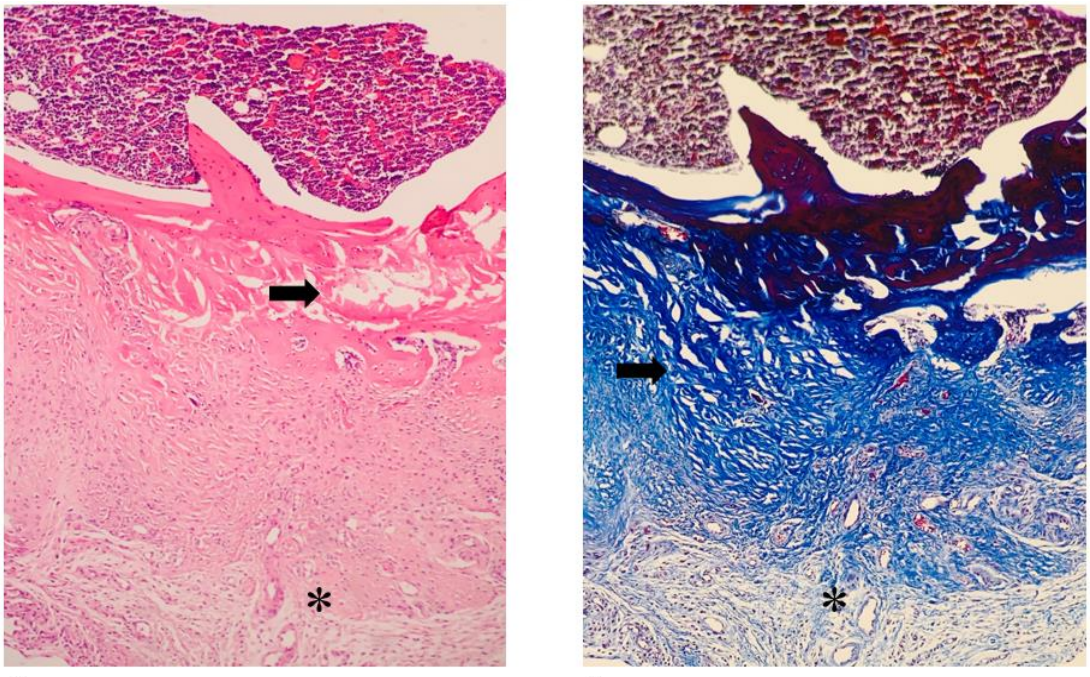
Çalışmaya 30 rat ile başlandı. Grup II'de 8. haftada sakrifiye edilecek ratlardan 1 tanesi postop 6. haftada exitus oldu. Çalışma 29 rat ile tamamlandı. Diğer tüm hayvanlar iki defa yapılan cerrahi müdahaleyi ve uygulanan anesteziyi iyi şekilde tolere etti ve post operatif toparlanma döneminde herhangi bir problemle karşılaşılmadı. Cerrahi sonrası tüm denekler cerrahi yapılan ekstremitesini koruma eğilimde olup ilk hafta kullanmama eğiliminde oldular fakat post op dönemde verilen analjezik ilaçlarla birlikte deneklerde herhangi bir fonksiyonel ağrı belirtisi ya da güçsüzlük yapılan gözlemle farkedilmedi.

HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Işık mikroskobu ile bakıldığında tenositler normal görünümde iken iğsi nükleuslu, dar sitoplazmalıdır. Çalışmanın gruplarında tenositlerin yapısı bozuldukça nükleus boyutlarının artarak yuvarlaklaşma olduğu (Şekil 25), sitoplazmalarının genişleyerek laküna formasyonu oluştuğu görüldü. Zemin maddesi Masson Trikrom boyaması ile incelendi. Zemin maddesi normal görünümde olduğunda boyanabilir zemin varlığı izlenmezken, normal yapıdan farklılaşmaya başladığında fibriller arasında müsin görülerek, fibril demetlerinin belirginliğinin azalmaya başladığı izlendi. Kolajenin normal yapısı bozuldukça kolajen demetlerinin sınırlarınında bozulma, fibrillerde belirgin ayrışma ve kolajen yapının tamamen kaybolmaya başladığı görüldü. Vaskülarite normal tendon yapısından bozuldukça kapillarizasyon kümeleri oluşturarak arttığı görüldü (Şekil 26).



Şekil 25. Grup III'te 8.haftada sakrifiye edilen deneklerin birinde tendon kemik bileşkesinde liflerde ayrışma (ok), kısmen dejenerasyon bulguları görülmektedir. Fibrokartilaj dokuya (ok başı) komşu oval nükleuslu tenositler (yıldız) izlenmektedir. H&E, x200



A B

Şekil 26. Grup II'de 4.haftada sakrifiye edilen denekte tendon ile kemik arasında bağlantı bölgesi oldukça dejenere görünümde, dokuda ayrılmalar görülmektedir (Ok). Orta-küçük boyutlu damarlarda fokal alanda gruplaşma izlenmektedir (Yıldız) A) H&E, x100 B) Masson Trikrom, x100

Çalışmaya dâhil edilen deneklerin gruplara göre Bonar Skala toplam skor ortalamalarının karşılaştırılması Tablo 8'de gösterilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen deneklerin Bonar Skala toplam skor ortalamaları çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

Tablo 8. Grupların Bonar Skala skoru ortalamalarının karşılaştırılması

	Grup I (n=10)	**Grup II (n=9)**	**Grup III (n=10)**	**p**
	ort±SS (min-maks)	**ort±SS (min-maks)**	**ort±SS (min-maks)**	
Bonar Skala Skoru	8,5±2,88 (4-12)	9,78±1,39 (8-12)	7,6±1,78 (5-10)	0,104

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre hem grup içi hem de gruplar arası Bonar Skala toplam skor ortalamalarının karşılaştırılması Tablo 9'da gösterilmiştir. Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre Bonar Skala toplam skor ortalamaları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

Tüm gruplarının kendi içindeki Bonar Skala toplam skor ortalamaları istatistiksel olarak sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırıldığında tüm gruplarda 4. ile 8. haftalarda sakrifiye edilen ratların Bonar Skala toplam skor ortalamaları arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

Tablo 9. Sakrifikasyon zamanlarına göre Bonar Skala skoru ortalamalarının karşılaştırılması

Bonar Skala Skoru	**Grup I (n=10)**	**Grup II (n=9)**	**Grup III (n=10)**	**p**
	ort±SS (min-maks)	**ort±SS (min-maks)**	**ort±SS (min-maks)**	
4. haftada sakrifiye edilen (n=15)	9,4±3,21 (4-12)	9,2±1,64 (8-12)	7,8±1,3 (7-10)	0,482
8. haftada sakrifiye edilen (n=14)	7,6±2,51 (4-11)	10,5±0,58 (10-11)	7,4±2,3 (5-10)	0,092
P	0,352	0,179	0,744	

Çalışmaya dâhil edilen deneklerin gruplara göre Bonar Skala skoru alt başlıkları karşılaştırılması Tablo 10'da gösterilmiştir. Çalışmaya dâhil edilen deneklerin Bonar Skala

skoru alt başlıkları çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak karşılaştırıldığında tenosit, zemin maddesi ve kolajen bakımından gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulunurken ($p>0,05$), vaskülarite bakımından gruplar arasında anlamlı farkın olduğu bulundu ($p<0,05$) (Tablo 10).

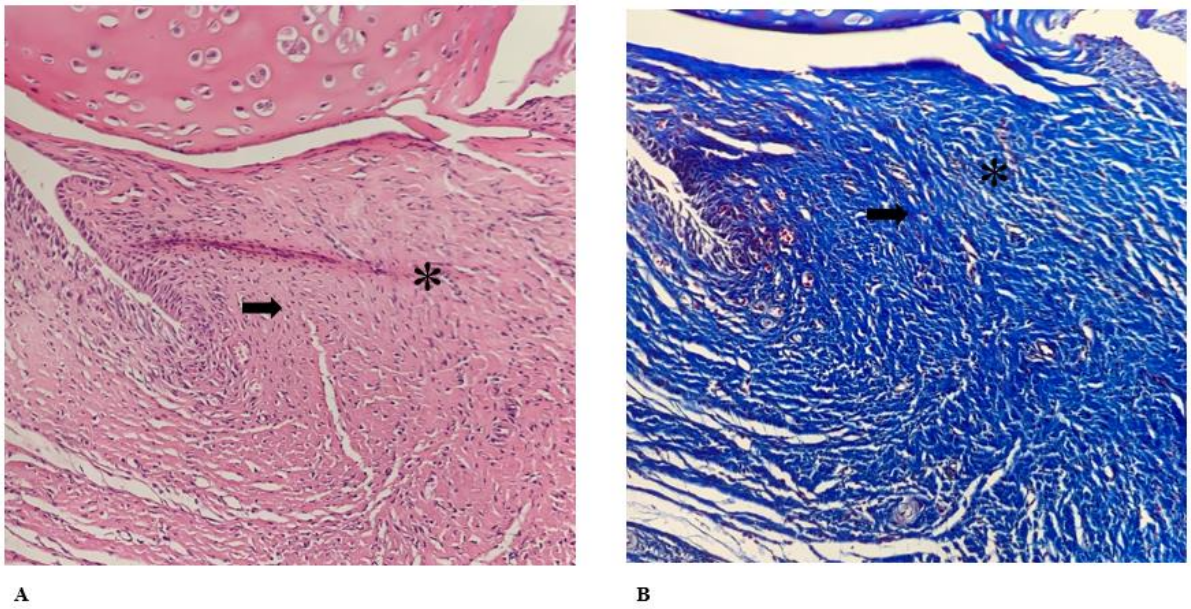
Tablo 10. Gruplara göre Bonar Skala skoru alt başlıkları karşılaştırılması

		Grup I (n=10)	Grup II (n=9)	Grup III (n=10)	
		% (n)	% (n)	% (n)	p
Tenosit	**0**	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
	1	%20 / (n=2)	%0 / (n=0)	%30 / (n=3)	
	2	%40 / (n=4)	%44,4 / (n=4)	%50 / (n=5)	
	3	%40 / (n=4)	%55,6 / (n=5)	%20 / (n=2)	0,373
Zemin Maddesi	**0**	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
	1	%30 / (n=3)	%0 / (n=0)	%50 / (n=5)	
	2	%40 / (n=4)	%66,7 / (n=6)	%10 / (n=1)	
	3	%30 / (n=3)	%33,3 / (n=3)	%40 / (n=4)	0,075
Kolajen	**0**	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
	1	%10 / (n=1)	%0 / (n=0)	%10 / (n=1)	
	2	%30 / (n=3)	%33,3 / (n=3)	%60 / (n=6)	
	3	%60 / (n=6)	%66,7 / (n=6)	%30 / (n=3)	0,459
Vaskülarite	**0**	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
	1	%20 / (n=2)	%0 / (n=0)	%60 / (n=6)	
	2	%10 / (n=1)	%77,8 / (n=7)	%20 / (n=2)	
	3	%70 / (n=7)	%22,2 / (n=2)	%20 / (n=2)	0,014*

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre tenosit skorlarının karşılaştırılması Tablo 11'de gösterilmiştir. Grup II'de 4.hafta sakrifiye edilen deneklerden birinde görülen örnek tenosit yapısı Şekil 27'de gösterilmiştir. Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre tenosit skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu ($p>0,05$).

Tablo 11. Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre tenosit skorlarının karşılaştırılması

			Grup I (n=10)	Grup II (n=9)	Grup III (n=10)	p
			% (n)	% (n)	% (n)	
Tenosit	4. haftada sakrifiye edilen (n=15)	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	0,878
		1	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	
		2	%30 / (n=3)	%80 / (n=4)	%60 / (n=3)	
		3	%10 / (n=1)	%20 / (n=1)	%20 / (n=1)	
	8. haftada sakrifiye edilen (n=14)	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	0,212
		1	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)	
		2	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)	
		3	%60 / (n=3)	%100 / (n=4)	%20 / (n=1)	



A B

Şekil 27. Grup II, 4.haftada sakrifiye edilen deneklerde görülen tendon kemik bileşkesinde tenositler iğsi, dar sitoplazmalı normal görünümlerinde (ok), kolajen büyük oranda sıkı demetler halinde (yıldız), zemin maddesi izlenmemektedir. A)H&E x100 B) Masson Trikrom x100

Tüm gruplarının kendi içindeki tenosit skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tüm gruplarının kendi içindeki tenosit skorları istatistiksel olarak sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırıldığında Grup I ve Grup III'de 4. ile 8. haftalarda sakrifiye edilen ratların tenosit skorları arasında anlamlı farkın olmadığı bulunurken ($p>0,05$), Grup II'de 4. ile 8. Haftalardaki tenosit skorları arasında anlamlı farkın olduğu bulundu ($p<0,05$) (Tablo 23).

Tablo 12. Grup içi tenosit skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması

		Grup I (n=10)		Grup II (n=9)		Grup III (n=10)	
		4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=5)	4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=4)	4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=5)
		% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
Tenosit	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)
	1	%20 / (n=1)	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	%40 / (n=2)
	2	%30 / (n=3)	%20 / (n=1)	%80 / (n=4)	%0 / (n=0)	%60 / (n=3)	%40 / (n=2)
	3	%10 / (n=1)	%60 / (n=3)	%20 / (n=1)	%100 / (n=4)	%20 / (n=1)	%20 / (n=1)
p		0,368		0,016*		0,766	

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre zemin maddesi skorlarının karşılaştırılması Tablo 13'de gösterilmiştir.

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre zemin maddesi skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olduğu bulundu ($p<0,05$).

Tablo 13. Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre Zemin Maddesi skorlarının karşılaştırılması

			Grup I (n=10)	Grup II (n=9)	Grup III (n=10)	p
			% (n)	% (n)	% (n)	
Zemin Maddesi	4. haftada sakrifiye edilen (n=15)	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	0,019*
		1	%40 / (n=2)	%0 / (n=0)	%60 / (n=3)	
		2	%0 / (n=0)	%80 / (n=4)	%0 / (n=0)	
		3	%60 / (n=3)	%20 / (n=1)	%40 / (n=2)	
	8. haftada sakrifiye edilen (n=14)	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	0,217
		1	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)	
		2	%80 / (n=4)	%50 / (n=2)	%20 / (n=1)	
		3	%0 / (n=0)	%50 / (n=2)	%40 / (n=2)	

Tüm gruplarının kendi içindeki zemin maddesi skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması Tablo 14'de gösterilmiştir.

Tüm gruplarının kendi içindeki zemin maddesi skorları istatistiksel olarak sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırıldığında Grup II ve Grup III'de 4. ile 8. haftalarda sakrifiye edilen ratların zemin maddesi skorları arasında anlamlı farkın olmadığı bulunurken ($p>0,05$), Grup I'de ise 4. ile 8. haftalardaki zemin maddesi skorları arasında anlamlı farkın olduğu bulundu ($p<0,05$) (Tablo 14).

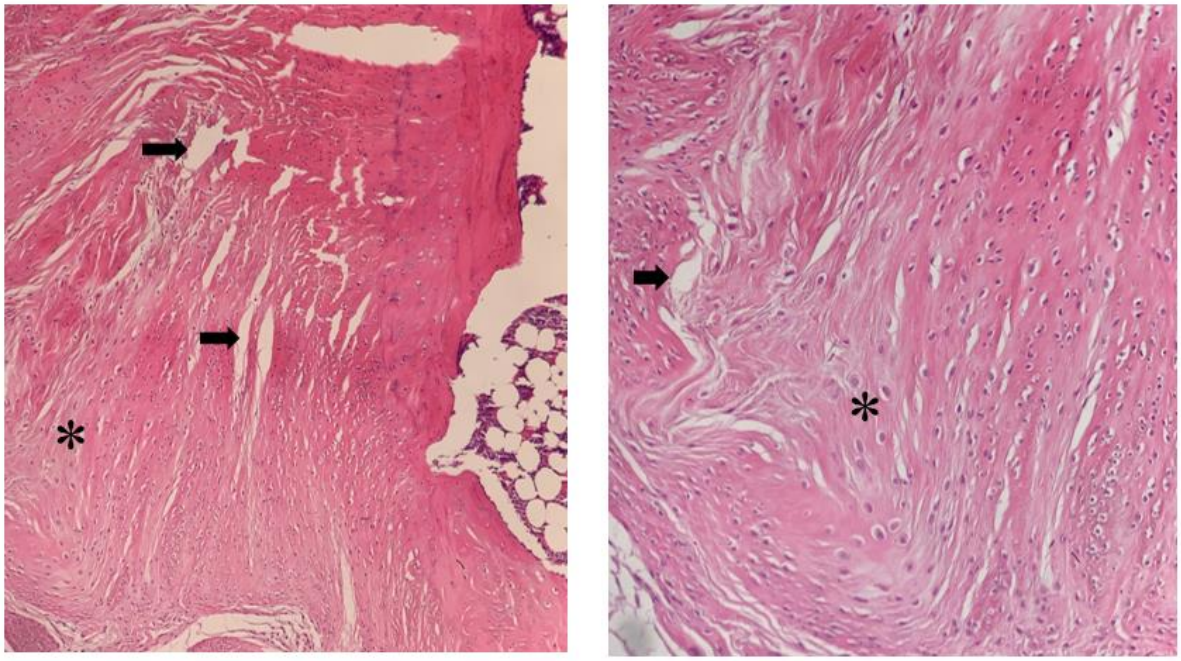
Tablo 14. Grup içi zemin maddesi skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması

		Grup I (n=10)		Grup II (n=9)		Grup III (n=10)	
		4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=5)	4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=4)	4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=5)
		% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
Zemin Maddesi	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)
	1	%40 / (n=2)	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%60 / (n=3)	%40 / (n=2)
	2	%0 / (n=0)	%80 / (n=4)	%80 / (n=4)	%50 / (n=2)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)
	3	%60 / (n=3)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	%50 / (n=2)	%40 / (n=2)	%40 / (n=2)
p		0,026*		0,343		0,549	

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre kolajen skorlarının karşılaştırılması Tablo 15'de gösterilmiştir. Grup III'de 4.hafta sakrifiye edilen deneklerden birinde görülen örnek kolajen yapısı Şekil 28'de gösterilmiştir Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre kolajen skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olduğu bulundu ($p<0,05$).

Tablo 15. Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre kolajen skorlarının karşılaştırılması

			Grup I (n=10)	Grup II (n=9)	Grup III (n=10)	p
			% (n)	% (n)	% (n)	
Kolajen	4. haftada sakrifiye edilen (n=15)	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	0,273
		1	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	
		2	%20 / (n=1)	%60 / (n=3)	%60 / (n=3)	
		3	%80 / (n=4)	%40 / (n=2)	%20 / (n=1)	
	8. haftada sakrifiye edilen (n=14)	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	0,208
		1	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
		2	%40 / (n=2)	%0 / (n=0)	%60 / (n=3)	
		3	%40 / (n=2)	%100 / (n=4)	%40 / (n=2)	



A B

Şekil 28. Grup III, 8.haftada sakrifiye edilen deneklerde görülen kolajen demetlerde yapısal bozulma, ayrışma ve yer yer kolajen kayıplarıyla oluşan boşluklar (ok), tenositlerde ovalleşme (yıldız) a) H&E x100 b) H&E x200

Tüm gruplarının kendi içindeki kolajen skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması Tablo 16'da gösterilmiştir.

Tüm gruplarının kendi içindeki kolajen skorları istatistiksel olarak sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırıldığında tüm gruplarda 4. ile 8. haftalarda sakrifiye edilen ratların kolajen skorları arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05) (Tablo 16).

Tablo 16. Grup içi kolajen skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması

		Grup I (n=10)		**Grup II (n=9)**		**Grup III (n=10)**	
		4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	**8. haftada sakrifiye edilen (n=5)**	**4. haftada sakrifiye edilen (n=5)**	**8. haftada sakrifiye edilen (n=4)**	**4. haftada sakrifiye edilen (n=5)**	**8. haftada sakrifiye edilen (n=5)**
		% (n)	**% (n)**	**% (n)**	**% (n)**	**% (n)**	**% (n)**
Kolajen	**0**	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)
	1	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)
	2	%20 / (n=1)	%40 / (n=2)	%60 / (n=3)	%0 / (n=0)	%60 / (n=3)	%60 / (n=3)
	3	%80 / (n=4)	%40 / (n=2)	%40 / (n=2)	%100 / (n=4)	%20 / (n=1)	%40 / (n=2)
p		0,368		0,058		0,513	

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre vaskülarite skorlarının karşılaştırılması Tablo 17'de gösterilmiştir. Grup II'de 4.hafta sakrifiye edilen deneklerden birinde görülen örnek vaskülarite yapısı Şekil 29'de gösterilmiştir.

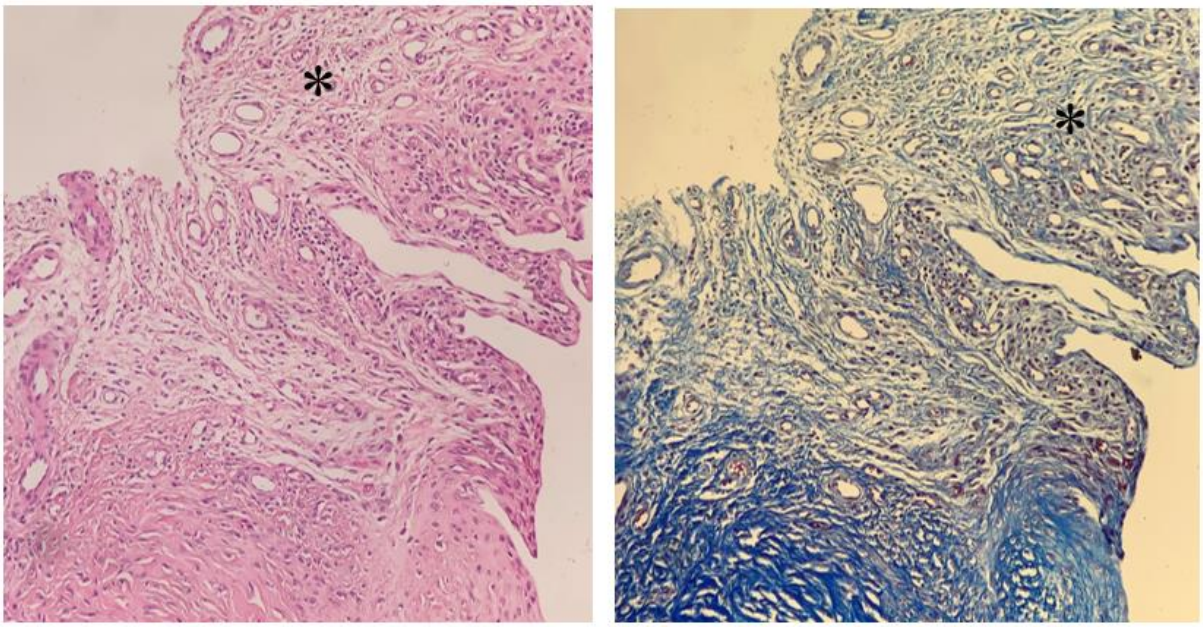
Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre vaskülarite skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında vaskülarite skorları 4. haftada sakrifiye edilen gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulunurken ($p>0,05$), 8. haftada sakrifiye edilen gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu bulundu ($p<0,05$)

Tablo 17. Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre vaskülarite skorlarının karşılaştırılması

			Grup I (n=10)	**Grup II (n=9)**	**Grup III (n=10)**	**P**
			% (n)	**% (n)**	**% (n)**	
Vaskülarite	**4. haftada sakrifiye edilen (n=15)**	**0**	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	0,185
		1	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)	
		2	%0 / (n=0)	%60 / (n=3)	%20 / (n=1)	
		3	%80 / (n=4)	%40 / (n=2)	%40 / (n=2)	
	8. haftada sakrifiye edilen (n=14)	**0**	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	0,007*
		1	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%80 / (n=4)	
		2	%20 / (n=1)	%100 / (n=4)	%20 / (n=1)	
		3	%60 / (n=3)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	

Tüm gruplarının kendi içindeki vaskülarite skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması Tablo 18'de gösterilmiştir.

Tüm gruplarının kendi içindeki vaskülarite oluşum skorları istatistiksel olarak sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırıldığında tüm gruplarda 4. ile 8. haftalarda sakrifiye edilen ratların vaskülarite skorları arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu ($p>0,05$) (Tablo 18)



A B

Şekil 29. Grup II, 4. haftada sakrifiye edilen deneklerin birinde görülen tendonda kolajen demetler arasında belirgin damarlanma (yıldız) artışı A) H&E x100 B) Masson Trikrom x200

Tablo 18. Grup içi Vaskülarite skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması

		Grup I (n=10)		Grup II (n=9)		Grup III (n=10)	
		4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=5)	4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=4)	4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=5)
		% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
Vaskülarite	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)
	1	%20 / (n=1)	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)	%80 / (n=4)
	2	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	%60 / (n=3)	%100 / (n=4)	%20 / (n=1)	%20 / (n=1)
	3	%80 / (n=4)	%60 / (n=3)	%40 / (n=2)	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)	%0 / (n=0)
P		0,565		0,151		0,264	

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Histopatolojik değerlendirme yönteminde olduğu gibi hazırlanmış olan preparatlar çalışma gruplarını bilmeyen deneyimli uzman patolog eşliğinde kıdemli patoloji asistanı tarafından ışık mikroskopu ile değerlendirilmiştir.

Çalışmaya dâhil edilen deneklerin gruplara göre BMP-2 skorlarının karşılaştırılması Tablo 19'da gösterilmiştir.

Çalışmaya dâhil edilen deneklerin BMP-2 skorları çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu ($p>0,05$).

Tablo 19. Çalışma gruplarının BMP-2 skorlarının karşılaştırılması

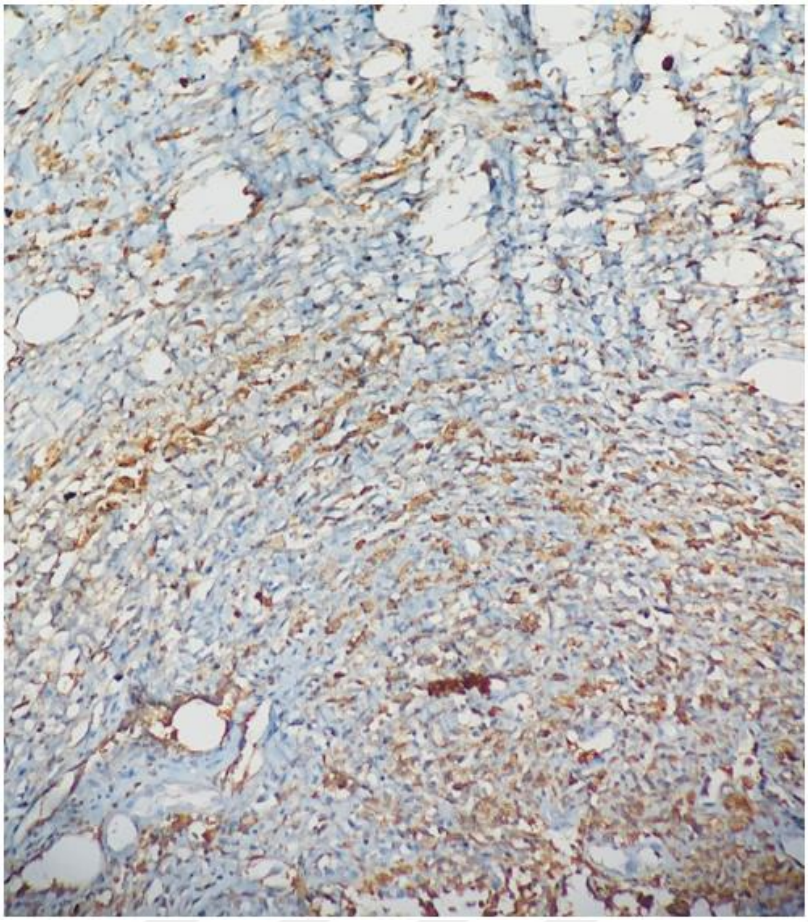
		Grup I (n=10)	Grup II (n=9)	Grup III (n=10)	
		% (n)	% (n)	% (n)	P
BMP-2	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%10 / (n=1)	
	+	%70 / (n=7)	%55,6 / (n=5)	%20 / (n=2)	
	++	%30 / (n=3)	%22,2 / (n=2)	%30 / (n=3)	
	+++	%0 / (n=0)	%22,2 / (n=2)	%20 / (n=2)	
	++++	%0/ (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=2)	0,220

Grupların BMP-2 skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması Tablo 20' de gösterilmiştir. Grup III'de 8.hafta sakrifiye edilen deneklerden birinde görülen örnek BMP-2 immünekspresyonu Şekil 30'de gösterilmiştir.

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre BMP-2 skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

Tablo 20. Çalışma gruplarının sakrifikasyon zamanlarına göre BMP-2 skorlarının karşılaştırılması

			Grup I (n=10)	Grup II (n=9)	Grup III (n=10)	P
			% (n)	% (n)	% (n)	
BMP-2	4. haftada sakrifiye edilen (n=15)	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
		+	%60 / (n=3)	%60 / (n=3)	%0 / (n=0)	
		++	%40 / (n=2)	%20 / (n=1)	%60 / (n=3)	0,321
		+++	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	%20 / (n=1)	
		++++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	
	8. haftada sakrifiye edilen (n=15)	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	
		+	%80 / (n=4)	%50 / (n=2)	%40 / (n=2)	
		++	%20 / (n=1)	%25 / (n=1)	%0 / (n=0)	0,575
		+++	%0 / (n=0)	%25 / (n=1)	%20 / (n=1)	
		++++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	



Şekil 30. Grup III'te 8. haftada sakrifiye edilen deneklerin birinde tendon kemik bileşkesinde BMP-2 ile orta şiddette, ''+++ pozitif'' sitoplazmik immünekspresyon, İmmünperoksidaz, x400

Tüm gruplarının kendi içindeki BMP-2 skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması Tablo 21'de gösterilmiştir.

Tüm gruplarının kendi içindeki BMP-2 skorları istatistiksel olarak sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırıldığında tüm gruplarda 4. ile 8. haftalarda sakrifiye edilen ratların BMP-2 skorları arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu ($p>0,05$).

Tablo 21. Gruplarının kendi içindeki BMP-2 skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması

		Grup I (n=10)		Grup II (n=9)		Grup III (n=10)	
		4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=5)	4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=4)	4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	8. haftada sakrifiye edilen (n=5)
		% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
BMP-2	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)
	+	%60 / (n=3)	%80 / (n=4)	%60 / (n=3)	%50 / (n=2)	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)
	++	%40 / (n=2)	%20 / (n=1)	%20 / (n=1)	%25 / (n=1)	%60 / (n=3)	%0 / (n=0)
	+++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	%25 / (n=1)	%20 / (n=1)	%20 / (n=1)
	++++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	%20 / (n=1)
p		0,490		0,956		0,199	

Çalışmaya dâhil edilen deneklerin gruplara göre BMP-7 skorlarının karşılaştırılması Tablo 22'de gösterilmiştir.

Çalışmaya dâhil edilen deneklerin BMP-7 skorları çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

Tablo 22. Çalışma gruplarının BMP-7 skorlarının karşılaştırılması

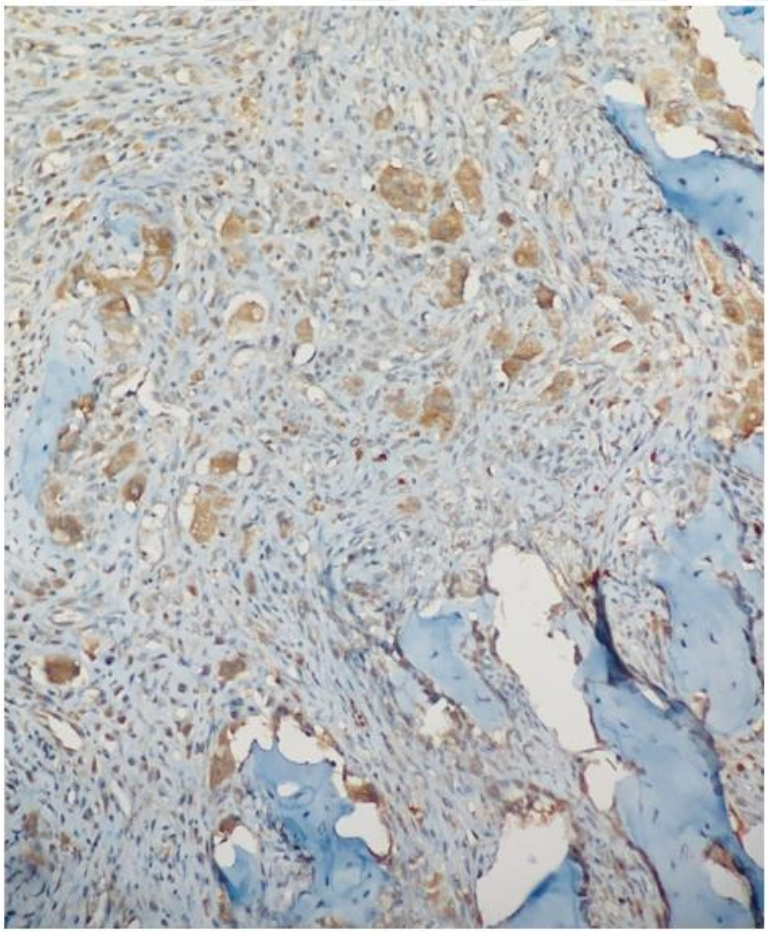
		Grup I (n=10)	Grup II (n=9)	Grup III (n=10)	
		% (n)	% (n)	% (n)	P
BMP-7	0	%30 / (n=3)	%0 / (n=0)	%20 / (n=2)	0,224
	+	%40 / (n=4)	%33,3 / (n=3)	%10 / (n=1)	
	++	%30 / (n=3)	%55,6 / (n=5)	%30 / (n=3)	
	+++	%0 / (n=0)	%11,1 / (n=1)	%30 / (n=3)	
	++++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%10 / (n=1)	

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre BMP-7 skorlarının karşılaştırılması Tablo 23'de gösterilmiştir. Grup III'de 8.hafta sakrifiye edilen deneklerden birinde görülen örnek BMP-7 immünekspresyonu Şekil 31'de gösterilmiştir.

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre BMP-7 skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

Tablo 23. Çalışma gruplarının sakrifikasyon zamanlarına göre BMP-7 skorlarının karşılaştırılması

			Grup I (n=10)	Grup II (n=9)	Grup III (n=10)	P
			% (n)	% (n)	% (n)	
BMP-7	4. haftada sakrifiye edilen (n=15)	0	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	0,193
		+	%40 / (n=2)	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	
		++	%60 / (n=3)	%80 / (n=4)	%40 / (n=2)	
		+++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)	
		++++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
	8. haftada sakrifiye edilen (n=15)	0	%60 / (n=3)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	0,463
		+	%40 / (n=2)	%50 / (n=2)	%20 / (n=1)	
		++	%0 / (n=0)	%25 / (n=1)	%20 / (n=1)	
		+++	%0 / (n=0)	%25 / (n=1)	%20 / (n=1)	
		++++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	



Şekil 31. Grup III'te 8. haftada sakrifiye edilen deneklerin birinde tendon kemik bileşkesinde BMP-7 ile dev hücre formasyonu oluşturan hücre gruplarında orta şiddette, ''+++ pozitif''' sitoplazmik boyanma, İmmünperoksidaz, x400

Tüm gruplarının kendi içindeki BMP-7 skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması Tablo 24'de gösterilmiştir.

Tüm gruplarının kendi içindeki BMP-7 skorları istatistiksel olarak sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırıldığında tüm gruplarda 4. ile 8. haftalarda sakrifiye edilen ratların BMP-7 skorları arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

Tablo 24. Gruplarının kendi içindeki BMP-7 skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması

		Grup I (n=10)		**Grup II (n=9)**		**Grup III (n=10)**	
		4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	**8. haftada sakrifiye edilen (n=5)**	**4. haftada sakrifiye edilen (n=5)**	**8. haftada sakrifiye edilen (n=4)**	**4. haftada sakrifiye edilen (n=5)**	**8. haftada sakrifiye edilen (n=5)**
		% (n)	**% (n)**	**% (n)**	**% (n)**	**% (n)**	**% (n)**
BMP-7	**0**	%0 / (n=0)	%60 / (n=3)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)	%20 / (n=1)
	+	%40 / (n=2)	%40 / (n=2)	%20 / (n=1)	%50 / (n=2)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)
	++	%60 / (n=3)	%0 / (n=0)	%80 / (n=4)	%25 / (n=1)	%40 / (n=2)	%20 / (n=1)
	+++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%25 / (n=1)	%40 / (n=2)	%20 / (n=1)
	++++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%20 / (n=1)
P		0,050		0,217		0,615	

Çalışmaya dâhil edilen deneklerin gruplara göre TGF-β1 skorlarının karşılaştırılması Tablo 25'de gösterilmiştir.

Çalışmaya dâhil edilen deneklerin TGF-β1 skorları çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

Tablo 25. Çalışma gruplarının TGF-β1 skorlarının karşılaştırılması

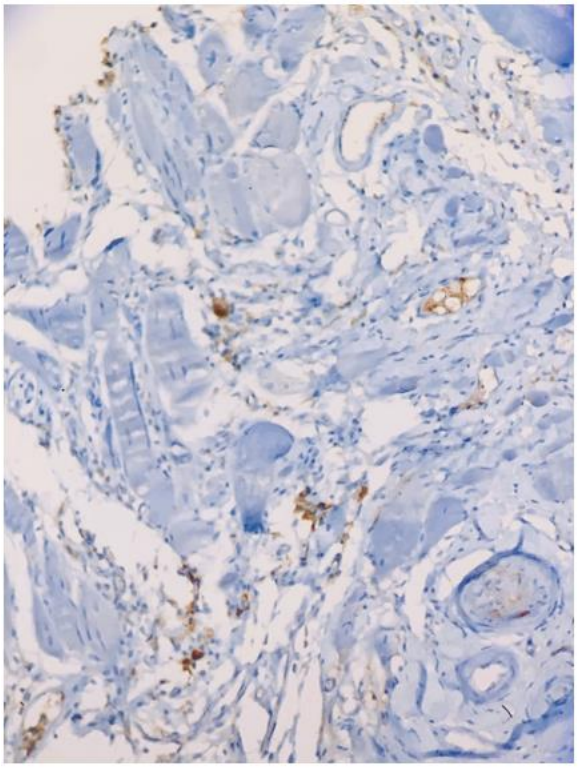
		Grup I (n=10)	**Grup II (n=9)**	**Grup III (n=10)**	
		% (n)	**% (n)**	**% (n)**	**P**
TGF-β1	**0**	%50 / (n=5)	%77,8 / (n=7)	%80 / (n=8)	0,053
	+	%40 / (n=4)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
	++	%0 / (n=0)	%22,2 / (n=2)	%20 / (n=2)	
	+++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
	++++	%10 / (n=1)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre TGF-β1 skorlarının karşılaştırılması Tablo 26'da gösterilmiştir. Grup II'de 4.hafta sakrifiye edilen deneklerden birinde görülen örnek TGF-β1 membranöz boyanma Şekil 31'de gösterilmiştir.

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre TGF-β1 skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

Tablo 26. Çalışma gruplarının sakrifikasyon zamanlarına göre TGF-β1 skorlarının karşılaştırılması

			Grup I (n=10) % (n)	Grup II (n=9) % (n)	Grup III (n=10) % (n)	P
TGF- β1	4. haftada sakrifiye edilen (n=15)	0	%40 / (n=2)	%60 / (n=3)	%60 / (n=3)	0,220
		+	%40 / (n=2)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
		++	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)	%40 / (n=2)	
		+++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
		++++	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
	8. haftada sakrifiye edilen (n=15)	0	%60 / (n=3)	%100 / (n=4)	%100 / (n=5)	0,122
		+	%40 / (n=2)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
		++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
		+++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	
		++++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	



Şekil 32. Grup I'de 4. haftada sakrifiye edilen denekte tendon kas bileşkesinde TGF-β1 ile seyrek ''+ pozitif'' membranöz boyanma, İmmünperoksidaz, x400

Tüm gruplarının kendi içindeki TGF-β1 skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması Tablo 27'da gösterilmiştir.

Tüm gruplarının kendi içindeki TGF-β1 skorları istatistiksel olarak sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırıldığında tüm gruplarda 4. ile 8. haftalarda sakrifiye edilen ratların TGF-β1 skorları arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

Tablo 27. Gruplarının kendi içindeki TGF-β1 skorlarının sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırılması

		Grup I (n=10)		**Grup II (n=9)**		**Grup III (n=10)**	
		4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	**8. haftada sakrifiye edilen (n=5)**	**4. haftada sakrifiye edilen (n=5)**	**8. haftada sakrifiye edilen (n=4)**	**4. haftada sakrifiye edilen (n=5)**	**8. haftada sakrifiye edilen (n=5)**
		% (n)	**% (n)**	**% (n)**	**% (n)**	**% (n)**	**% (n)**
TGF-β1	**0**	%40 / (n=2)	%60 / (n=3)	%60 / (n=3)	%100/ (n=4)	%60 / (n=3)	%100/ (n=5)
	+	%40 / (n=2)	%40 / (n=2)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)
	++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)	%0 / (n=0)	%40 / (n=2)	%0 / (n=0)
	+++	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)
	++++	%20 / (n=1)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)	%0 / (n=0)
P		0,549		0,151		0,114	

Çalışmaya dâhil edilen deneklerin gruplara göre CD34 ortalamalarının karşılaştırılması Tablo 28'de gösterilmiştir.

Çalışmaya dâhil edilen deneklerin CD34 ortalamaları çalışma gruplarına göre istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu (p>0,05).

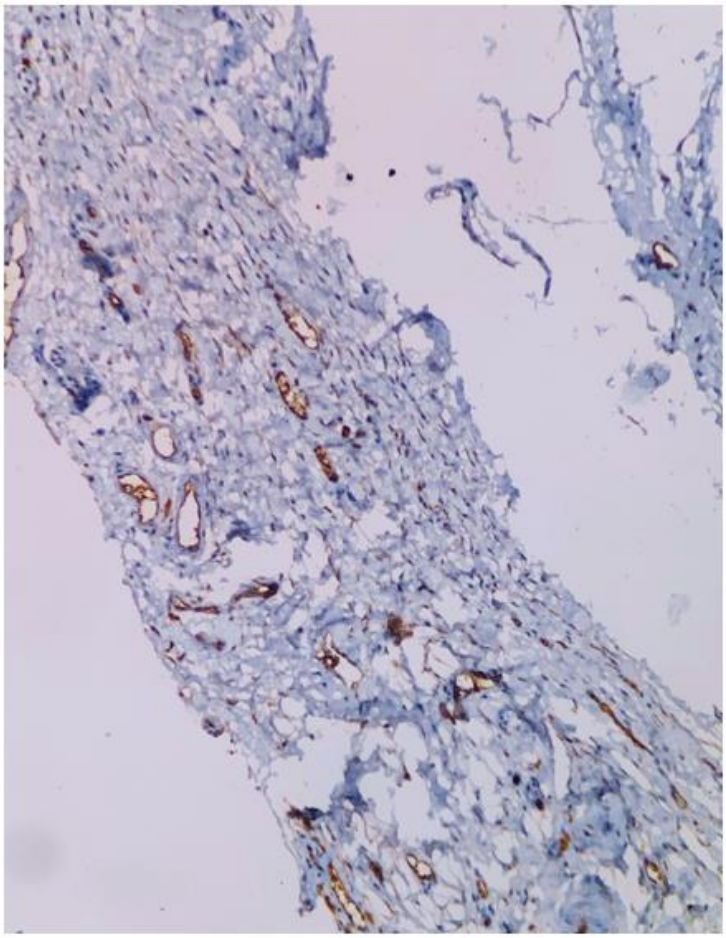
Tablo 28. Grupların CD34 ortalamalarının karşılaştırılması

	Grup I (n=10)	**Grup II (n=9)**	**Grup III (n=10)**	**P**
	ort±SS (min-maks)	**ort±SS (min-maks)**	**ort±SS (min-maks)**	
CD34	3,2±2,08 (0,33-7,67)	4,04±1,47 (2,67-7)	3,4±1,36 (1,67-5,33)	0,537

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre hem grup içi hem de gruplar arası CD34 ortalamalarının karşılaştırılması Tablo 29'da gösterilmiştir. Grup II'de 4.hafta sakrifiye edilen deneklerden birinde görülen örnek CD34 ile damar duvarlarında boyanma Şekil 33'de gösterilmiştir

Grupların sakrifikasyon zamanlarına göre CD34 ortalamaları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu ($p>0,05$).

Tüm gruplarının kendi içindeki CD34 ortalamaları istatistiksel olarak sakrifikasyon zamanlarına göre karşılaştırıldığında tüm gruplarda 4. ile 8. haftalarda sakrifiye edilen ratların CD34 ortalamaları arasında anlamlı farkın olmadığı bulundu ($p>0,05$).



Şekil 33. Grup II 4. haftada sakrifiye edilen deneklerin birinde tendon bölgesinde CD34 ile damar duvarlarında boyanma, İmmünperoksidaz, x400

Tablo 29. Sakrifikasyon zamanlarına göre CD34 ortalamalarının karşılaştırılması

CD34	Grup I (n=10)	Grup II (n=9)	Grup III (n=10)	P
	ort±SS (min-maks)	ort±SS (min-maks)	ort±SS (min-maks)	
4. haftada sakrifiye edilen (n=5)	2,87±1,45 (2-5,33)	4,67±1,75 (2,67-7)	3,07±1,4 (1,67-5,33)	0,171
8. haftada sakrifiye edilen (n=4)	3,53±2,72 (0,33-7,67)	3,25±0,42 (2,67-3,67)	3,73±1,38 (2-5,33)	0,928
P	0,642	0,162	0,471	

TARTIŞMA

Denekler makroskopik olarak ikincil cerrahi sırasında incelendiğinde (kronik rüptür modeli oluşturulması sonrası tekrar tendon kemik bileşkesi tamiri yapılırken) tüm deneklerde muskulotendinöz bileşkenin retrakte olduğu, tendon güdüğünün akromiyon çevresindeki dokulara dezorganize skar dokusu oluşturarak yapıştığı görüldü. Aynı zamanda tendon kemik bileşkesinde rüptürün olduğu bölgenin skar dokusu dolduğu görüldü. Bu farklılık insanlarda görülen kronik rotator manşet yırtıklarında görülmemektedir. İnsanlarda görülen masif rotator manşet yırtıklarında tendon güdüğü ile yapışma yeri arası boşluk olarak kalmakta dezorganize skar dokusu ile dolmamaktadır (80). Aynı bölgeye ikinci kez cerrahi yapılması enfeksiyon riskini arttırdığı bilinmektedir. Bu bilgi ışığında yapılan ikincil cerrahi sonrası her grupta 1 adet enfeksiyon olan deneğe rastlandı fakat enfeksiyon olan tüm deneklerde yüzeyel cerrahi alan enfeksiyonu tespit edilmiş olup histomorfolojik incelemelerde dokularda enfeksiyon lehine anlamlı değişikliklere rastlanmadı.

Bonar Skala skoru semikantitatif bir değerlendirme olsa da daha önce yapılan çalışmalar ile bu değerlendirmenin güvenilir olduğu bulunmuştur (69, 70). Güvenilirliği daha da arttırmak için değerlendirmeler yapılırken çalışma grupları bilinmeden, farklı iki zamanda değerlendirmeler yapılmıştır. Bunların sonucunda gruplar arası skorlar karşılaştırıldığında kemik iliği stimülasyonu yapılan (Crimson Duvet tekniği ile) Grup III'te skor ortalamaları diğer iki gruba göre daha düşük çıkmıştır yani tendon yapıları normale göre daha iyi gözükmüştür. Aynı zamanda diğer iki gruptan farklı olarak skorlamada en kötü puan olan 12 puanını alan denek olmamıştır fakat bu farklılıklar istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.

Bonar Skala skorunda incelemelerden ilki tenosit yapısındaki farklılıktır. Tendon rüptürü olduktan sonra dejenere tenositlerde çekirdekler daha yuvarlak olmaya, metaplastik

değişiklikler görülmeye başlamaktadır. Hatta bazı tendonlarda tenositler kondrositlere benzemektedir (69, 76). Grup III'te diğer iki gruba göre tenosit yapısı normale daha yakın bulunmuştur fakat gruplar arası ve sakrifikasyon zamanları tenosit farklılığı açısından araştırıldığında istatiksel anlamlı bir sonuç bulunmamıştır. Grup II ise kendi içinde değerlendirildiğinde 4. hafta sakrifiye edilen denekler ile 8. hafta sakrifiye edilen denekler arasında tenosit yapıları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Fakat bu fark iyileşmeye pozitif olan bir fark olmayıp zaman ilerledikçe tenosit yapılarının daha kötüye gittiğini gösteren bir sonuçtur. Bunun nedeni Grup II'ye uygulanan ESWT dozu ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. ESWT'nin enerji birimi Joule'dür ve mm^2'ye uygulanan enerji miktarını belirtmek için mJ/mm^2 şeklinde verilir. ESWT cihazı gibi şok dalga oluşturan cihazlar ile farklı tedaviler karşılaştırılırken toplam enerji miktarı ve enerji yoğunluğu (Energy Flux Density) kullanılmaktadır. Her ne kadar kullanılan enerji birimi belli olsa da tedavide kullanılacak enerji düzeyleri ile tam bir fikir birliği sağlanamamıştır. Aynı zamanda literatürde düşük, orta ve yüksek enerji tanımlamasında da fikir birliği sağlanamamıştır. Speed ve ark. enerji yoğunluğuna göre <0.10 mJ/mm^2 düşük enerji düzeyi olarak tanımlanmışken Mainz ve ark. tarafından <0.28 mJ/mm^2 düşük enerji düzeyi olarak tanımlanmıştır (81, 82) (Tablo 30). ESWT'nin rat tenositlerine etkisinin incelendiği bir çalışmada hücresel yaşayabilirlik, biyomekanik aktivite ve hücresel gen ekspresyonları incelenmiş olup 0.36 ve 0.68 mJ/mm^2 enerji düzeyleri ve atım sayıları karşılaştırılmıştır. 0.36 mJ/mm^2 enerji yoğunluğu ve 250 atıma kadar hücre yaşayabilirliğinin normal olduğu bulunmuştur (83).

Tablo 30. Yapılan çalışmalara göre ESWT enerji düzeylerinin (mJ/mm^2) karşılaştırılması (84)

Enerji düzeyi	Düşük	Orta	Yüksek
Speed ve ark.	<0.10	0.10-0.20	>0.20
Rompe ve ark.	<0.08	-	0.08-0.28
Mainz ve ark.	0.08-0.27	0.28-0.59	>0.60
Kassel ve ark.	<0.12	-	>0.12

Han ve ark. yaptıkları çalışmada ise insan tenosit kültürü üzerinde ESWT uygulaması ile çalışma yapmışlar ve ESWT uygulandıktan 72 saat sonra 1000 ve 2000 şok dalgası atımı yapılan gruplarda hücre yaşayabilirliğinin azaldığını, 500 şok dalgası atımı yapılan grupta ise hücre sayısında kontrol grubuna göre artış olduğunu saptamışlar ve ESWT ile tendinopatinin bir göstergesi olarak kabul edilen matriks metalloproteninaz (MMPs) ve interlökin (IL)

düzeylerinde belirgin azalma olduğunu belirtmişlerdir (85). Orhan ve ark.'nın sıçanlarda normal aşil tendona uygulanan ESWT tedavisinin tendon dokusuna etkisinin incelendiği modelinde ise 14 kV'lik (0.18 mJ/mm^2 enerji yoğunluğu) farklı şok dalgası atım sayıları ile 18 kV'lik 2000 şok dalgası atımı uygulanmış. Sonucunda ise 18 kV, 2000 şok dalgası atımı yapılan grupta bağ dokusu liflerinde hafif derecede dizilim bozukluğu ve az sayıda lenfosit izlenimi gibi normal tendon yapısında bozulmayı gösteren histopatolojik değişiklikler görülmüştür. Bu çalışmaların sonucunda ESWT etkisinin doz bağımlı etki gösterdiği sonucuna ulaşılabilir. Çalışmamızda kullanılan ESWT dozu ise 1 bar basınçta yani enerji yoğunluğu yaklaşık olarak 0.20 mJ/mm^2 olacak şekilde (orta enerji düzeyi) 1000 şok dalgası atımı ile gerçekleşmiştir. Grup II'ye uygulanan orta enerji düzeyli ESWT ilk 4 haftada tenosit yapılarına diğer iki gruptan farklı anlamlı etki yapmasa da 6. hafta tekrar aynı enerji düzeyi ile uygulanması olası olarak, sınır değerleri tam olarak belli olmayan, hasar vermeyen toplam enerji yoğunluğu geçildiğinden dolayı tenosit yapılarının daha kötüye gittiği düşünülmüştür.

Bonar Skala skoru incelemelerinden ikincisi zemin maddesinin boyanabilirliğidir. Normal tendon yapısında zemin maddesi boyanabilir değildir fakat tendon yapısı bozuldukça boyanabilir musin miktarı artmakta, kolajen boyanması azalmakta ve fibriller arası demarkasyon bozulmaktadır (69, 70, 76). Gruplara genel olarak bakıldığında gruplar arasında zemin maddesi skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen sadece 4.haftada sakrifiye edilen denekler karşılaştırıldığında Grup III'te diğer gruplara göre normal tendon yapısına en benzer zemin maddesi yapısı elde edilmiştir. Aynı zamanda Grup I kendi içinde değerlendirildiğinde tendon kemik bileşkesinde tamir yapılan zaman ilerledikçe zemin maddesinde daha normal yapı oluştuğu gözlemlendi. Bu iki bulgu sentezlendiğinde çalışma sonunda Grup I zemin maddesi yapısı bakımından augmentasyon yapılmadan normalleşmeye daha geç başladığını, Grup III'te ise Crimson Duvet augmentasyon tekniğinin zemin maddesi yapısını ilk 4 haftada anlamlı olarak iyileştirdiği fakat genel tabloya bakıldığında zemin maddesi yapısında gruplar arasında anlamlı farkın olmadığı ortaya çıkmaktadır.

Bonar Skala skoru incelemelerinden üçüncüsü ise kolajen yapısıdır. Kollagen yapısı dejenere oldukça, normal yapıdan farkı arttıkça boyanabilirliği azalarak daha soluk görülür (69). Çalışma için oluşturduğumuz hipotezde ESWT uygulaması ya da Crimson Duvet tekniği uyguladığımızda kolajen yapısında da değişiklik olabileceği, iyileşmede normal yapıya yönelik değişimler olabileceği düşünülmüştü fakat gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farkın olmadığı saptandı.

İncelemelerden dördüncüsü ise vaskülaritedir. Rotator manşet yırtığı oluştuktan sonra iyileşme 3 fazda gerçekleşir. Bu fazlardan bir tanesi olan tamir fazında VEGF (vascular

endothelial growth factor) gibi vaskülariteyi arttıran sitokinlerde artış olur (86). Longo ve ark. yaptığı bir çalışmada ise rotator manşet yırtığı olan insanlardan alınan doku örneklerinde kolajen liflerinde artmış yapı bozukluğu ile beraber artmış vaskülariteye rastlamışlardır (87). Fakat her ne kadar iyileşmede vaskülarite önemli olsa da iyileşmiş olan ya da normal tendonda vaskülarite az miktarda bulunmaktadır. Ohberg ve ark. kronik aşil tendopatisi olan hastalarda yaptıkları çalışmada neovaskülarizasyonun tendon ağrı patogenezisinde etkili olduğunu bulmuşlardır (88). Bu çalışma ile ilişkili yaptıkları başka bir çalışmada ise oluşan yeni damarlara uygulanan skleroterapi ile hastalarda olan tendon ağrısında azalma tespit etmişlerdir (89). Yapılan başka bir çalışmada da insan kadavralarından alınan yırtık olmayan rotator manşet tendon dokuları ve artroskopik rotator manşet yırtığı tamiri yapılan hastaların tendon dokuları karşılaştırılmış ve yırtık olmayan dokulara Bonar Skala skoruyla vaskülariteye 0 puan verilirken, rotator manşet tamiri yapılan hastaların dokularında olan vaskülariteye 3 puan verilmiştir (69). Tüm bu çalışmaların sonuçları incelendiğinde ortaya çıkan ortak çıkarım iyileşmekte olan bir tendon, iyileşmeye ne kadar yakınsa histopatolojik olarak incelendiğinde vaskülaritenin o kadar az olduğudur. Yaptığımız çalışmada da gruplar arası farklar incelendiğinde ESWT uygulaması ve biyolojik augmentasyon tekniklerinin her ikisi de istatistiksel olarak anlamlı olarak iyileşmeye pozitif yönde katkı sağladığı bulunmuştur. Biyolojik augmentasyon tekniği kullanılan Grup III'te ise vaskülarite normal tendon yapısına en yakın olarak bulunmuştur. Bu anlamlı farkın zamanla ilişkisi incelendiğinde ilk 4 haftada gruplar arasında anlamlı fark bulunmazken, 8. haftada sakrifiye edilen denekler incelendiğinde ise biyolojik augmentasyon tekniği (Crimson Duvet) kullanılan Grup III'te diğer iki gruptan daha normal yapıda vaskülarite bulunmuştur.

İmmünohistokimyasal değerlendirmelerden biri CD34 antikoru ile yapılandır. CD34, hücrelerde CD34 geni tarafından kodlanan transmembran fosfoglikoproteindir (90). İlk olarak hematopoetik kök hücrelerde bulunmuş olup daha sonra CD34 eksprese eden hücreler kemik iliği, mezenkimal kök hücre, endotelyal progenitör hücreler ve kan damarlarında endotelyal hücreler gibi yerlerde bulunmuştur (90). $CD34^+$ hücreler angiogenezis, kan damarı gelişimi ve hücre migrasyonu regülasyonu gibi biyolojik fonksiyonlarda rol alır (91). Aynı zamanda Tei ve ark. ratlarda yaptıkları bir çalışmada kemik iliğinden alınan $CD34^+$ mononükleer hücreleri bağ doku hasarı olan bölgeye enjekte ettiklerinde hasarlanan bölgede yeni damarlanmayı arttırdığını ve medial kollateral ligament tamirine katıldığını tespit etmişler (92). Hsu ve ark. tavşanlarda oluşturdukları patellar tendinit modelinde, 0.29 mJ/mm^2 enerji yoğunluğunda ESWT uyguladıklarında iyileşme dokusunda kolajen sentezinin arttığı, yeni damarlanmanın hızlandığı ve dokunun tensil gücünün artığını bildirmişlerdir (93). Wang ve ark. da tavşanlarda yaptıkları

deneysel çalışmada düşük enerjili şok dalgalarının (0.12 mJ/mm^2 ve 500 şok) aşil tendon kemik bileşkesine uygulandığında yeni damar oluşumunu hızlandırdığını ve bu etkinin 12 haftaya kadar devam ettiğini göstermişlerdir (6). İnsanlarda yapılan bir çalışmada ise rotator manşet masif yırtığı olup artroskopik tedavi yapılan hastaların bir kısmına ESWT uygulaması da yapılmış, ESWT uygulanan grupta artmış doku perfüzyonu ve vaskülarizasyon saptanmıştır (94). Bu bilgilerden dolayı yaptığımız çalışmada da ESWT uygulanan grupta CD34 antikoru ile immünreaktivite gösteren damar endotelinde artış öngörmüştük. Bu artış beklendiği gibi en çok Grup II'de görülse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

İmmünohistokimyasal değerlendirmede kullanılan diğer antikorlar BMP-2, BMP-7 ve TGF-β1'dir. Tendon kemik iyileşmesi sadece rotator manşet kanlanmasıyla ilişkili değildir. Rotator manşet yaralanması sonucu başlayan inflamasyon süreci yukarıda bahsedilen sitokinlerle beraber birçok sitokin aktifleşmesine sebep olur ve iyileşmenin başlamasından sonlanmasına kadar da etki eder (86, 95, 96). Rotator manşet dejenerasyonu ve iyileşmesi 3 evreye ayrılmıştır. Bunlar; inflamasyon fazı, tamir fazı ve yeniden yapılanma (remodeling) fazıdır (97). Uygun tendon kemik iyileşmesinin oluşabilmesi için bu 3 fazın farklı zamanlarında farklı sitokinler eksprese olurlar. İnflamatuar fazda rotator manşete mast hücreleri ve makrofajlar infiltrasyon yaparak fibrovasküler skar dokusunu oluştururlar (98).

İnfiltre olan makrofajlar TGF-β1 gibi sinyal moleküllerini salgılarlar. Bu sitokin kolajen sentezini, hücre proliferasyonunu ve hücre migrasyonunu arttırdığı bulunmuştur (86, 99, 100). TGF-β1 sinyali inflamatuar fazda aktif olduğundan çalışmada olan öngörümüzde haftalar ilerledikçe sakrifikasyon yapıldığında TGF-β1 antikoru ile boyamanın olmaması ya da az olması, augmentasyon yaptığımız gruplarda inflamatuar fazın daha hızlı geçilmesinden dolayı Grup I'den daha az TGF-β1 antikoru boyanmasının olması yönündeydi. Çalışmanın sonucunda 4. haftada sakrifiye edilen deneklerde gruplar arasında fark yok fakat TGF-β1 ile antikor boyanması az seviyede yani neredeyse tüm deneklerde tendon kemik iyileşmesinin ilk fazının bitmek üzere olduğu sonucu çıkmıştır. 8.haftada sakrifiye edilen deneklerde ise augmentasyon yapılan her iki grupta da inflamatuar fazın bittiği Grup I'de ise hala devam ettiği sonucu görülmüştür. Fakat bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı çıkmasa da anlamlılığa çok yakın bir sonuç ortaya çıkmıştır ($p<0,053$).

Tendon kemik iyileşmesinde etkili olan diğer iki sitokin BMP-2 ve BMP-7'dir. BMP ailesi TGF-β süper ailesinin bir parçasıdır. Sitokinler hücre kemotaksisi, hücre proliferasyonu, matriks sentezi ve hücre farklılaşmasında önemli rol oynarlar. Rodeo ve ark. yaptıkları hayvan çalışmasında tendon kemik iyileşmesinin gerçekleşebilmesi için tendonun içine doğru yeni kemikleşmenin olmasına bağlı olduğunu ortaya koymuştur (67). Bu etki de BMP ailesi

tarafından ortaya çıkmaktadır. BMP ailesinin etkileri TGF-β transmembran hücre yüzey reseptörü olan mezenkimal hücreler ile ortaya çıkmaktadır (79). BMP ailesinin birçok alt tipi bulunmakta ve alt tipleri farklı görevlerde yer almaktadır. Yapılan bir hayvan çalışmasında pateller tendonda tendon kemik iyileşmesinde endojen BMP-2 ve BMP-7'nin birlikte rol aldıkları bulunmuştur. Fakat BMP-7 düzeyinin BMP-2'den daha yüksek çıktığı, her iki sitokinin de osteoblastik progenitor hücreler, mezenkimal hücreler ve birkaç aktif fibroblastda ekspresyonlarının olmasıyla birlikte tamir sonrası ilk 6 haftada tespit edilmişlerdir (79). Sitokinlerin otokrin ve parakrin sinyaller vasıtasıyla tendon kemik bileşkesinde iyileşme arttırıcı potansiyelleri nedeniyle ve endojen ekspresyonlarının iyileşmede aktif rol aldıkları bulunmasından sonra eksojen olarak sitokinler verildiğinde iyileşmeye katkılarının olup olmadıkları da incelenmiştir. Pauly ve ark. insan rotator manşet dokularından alınan örnekler ile in vitro yaptıkları çalışmada BMP-2 ve BMP-7 uygulamalarının tip 1 kollejen üretimini ve ekspresyonunu arttırdığını, tendon hücrelerini arttırdığını özellikle BMP-7 uygulamasının daha iyi sonuç verdiğini bulmuşlar (101). Bundan dolayı çalışmamızda BMP-2 ve BMP-7 antikorlarını kullanarak gruplar arası farklılıklar araştırıldı. Çalışma öncesi öngörümüzde BMP-2 ve BMP-7 ekspresyon seviyelerinin augmentasyon yapılan gruplarda daha yüksek çıkması özellikle biyolojik augmentasyon yapılan Grup III'te en yüksek seviyede çıkması öngörülmüştü. İlk 4. haftada sakrifiye edilen deneklerde biyolojik augmentasyon yapılan Grup III'de BMP-2 ve BMP-7 seviyelerinde diğer iki gruptan daha fazla eksprese olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Tüm zaman dikkate alındığında da biyolojik augmentasyon yapılan Grup III'te sayıca en fazla sitokin ekspresyonuna rastlanmıştır. Bu sitokinler ilk haftalarda daha çok eksprese olup zamanla daha da azaldığından dolayı zamanla eksprese olmalarında azalma öngörülmüştü. Çalışmamızda da bununla bağlantılı olarak bulundu. 8.haftada sakrifiye edilen deneklerde de en az Grup I'de sitokin ekspresyonu olduğu gözlemlendi. Bu bulgu da daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak görülmüştür. Bu sonuçlarla birlikte yaptığımız çalışmada öngördüğümüz şekilde sitokin seviyesinde anlamlı olarak yükselme saptayamadık.

Çalışmamızda kısıtlılıklar da bulunmaktadır. 1- Araştırma hayvan modelinde yapılmış olup diğer hayvan modellerinde olduğu gibi rat omuz anatomi ve fonksiyonu insan omuzundan farklılıklar göstermektedir. Fakat ratların hareket ederken supraspinatus tendonunun akromiyon altından geçmesi insan anatomisinde de olup insanların tekrarlayıcı baş üstü aktivitelerine denk gelmekte, supraspinatus tendonu ile ilişkili ark bulunması da diğer benzerliğidir. Bazı primat hayvan modellerinde de omuz anatomisi insan anatomisine benzemektedir fakat lojistik faktörler ve pahalılık gibi etmenler ile bu tarz çalışmalarda pratik olmayıp aynı zamanda

laboratuvar hayvan biliminde 4R kuralına da uygun değildir. Bundan dolayı rat omuz anatomi ve fonksiyonu birebir insan omuz anatomi ve fonksiyonu ile aynı olmasa da hayvan modellerinde en çok benzeyen ve rotator manşet hastalıklarında kabul edilebilir modeldir (56). Sıçanlara ulaşım göreceli olarak daha kolay, bakım maliyetleri de düşük olmaktadır fakat boyutunun küçüklüğü anatomik yapıların tanınmasını ve yapılacak olan cerrahiyi zorlaştırmaktadır. 2- İnsanlarda kronik rotator manşet yırtıkları internal ve/veya eksternal faktörler nedeniyle uzun zamanda oluşmaktadır. Ratlarda oluşturduğumuz kronik rüptür modelinde ise ilk önce supraspinatus ve infraspinatus tendonu, kemik tendon bileşkesinden kesilerek akut rüptür modeli oluşturularak belirli bir süre tamir yapılmama ile kronik karakteristik kazandırıldı. Bu yöntem daha önceleri birçok kez çalışılmış, sonucunda da insanlarda kronik rotator manşet yırtığında görülen histopatolojik bulgularla uyumlu sonuçlara ulaşılmıştır (71). 3- Kronik yırtık modeli oluşturmak için beklenen göreceli olarak az olan 4 haftalık dönem, insanlarda görülen çoğu kronik hastalık için 6 ay ile 1 yıl arasında değişmektedir (49). Fakat ratların yaralanma ve iyileşme süreleri insanlardan daha kısa olduğu için insanlara göre kronik hasarlanma gelişmesi için gereken süre de buna göre daha az olduğu düşünülmektedir (102, 103). Yapılan bir çalışmaya göre rodentlerin metabolik hızının insanlara göre 6.4 kat daha fazla olduğu, 1 yıllık insan hayatının rodentlerde 28.7 güne denk geldiği bulunmuştur (104). 4- Histomorfolojik, histokimyasal ve immünohistokimyasal olarak yapılan değerlendirmelerin semikantitatif olarak yapılmasıdır. Yapılan değerlendirmeler deneyimli uzman patolog eşliğinde kıdemli patoloji asistanı tarafından incelenmiştir. 5- 4R kuralına uygun olarak tüm gruplarda denek sayısı anlamlı hesaplama yapılabilecek en alt seviyede tutulmuştur. Aynı zamanda çalışmamızda semikantitatif değerlendirme de yapıldığından dolayı değerlerin anlamlı çıkma olasılıklarında azalmaya neden olmuştur. Daha fazla denek sayısıyla çalışma tekrarlanabilir.

SONUÇLAR

Bu çalışma kronik masif rotator manşet yırtığı tamiri sonrası rotator manşet tendon kemik bileşkesinde daha etkili bir tamir nasıl yapılır sorusunu araştırmak için 30 adet erişkin rat kullanılarak kronik masif rotator manşet rüptürü modeli oluşturulmuştur. İyileşmenin etkilerini karşılaştırmak için bir grup kontrol grubu olurken diğer iki grup ise biyolojik augmentasyon tekniği (Crimson Duvet) ile ESWT cihazı ile augmentasyon tekniği kullanılarak daha iyi bir iyileşmenin gerçekleşip gerçekleşmediği histomorfolojik ve immünohistokimyasal olarak karşılaştırıldı. Çalışma sonucunda;

1-) İlk 4 haftada sakrifiye edilen denekler arasında biyolojik augmentasyon yapılan Grup III'de BMP-2 ve BMP-7 seviyelerinin diğer iki gruptan daha fazla eksprese olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

2-) 4. haftada sakrifiye edilen deneklerde gruplar arasında TGF-β1ekspresyonunda anlamlı fark saptanamadı.

3-) 8.haftada sakrifiye edilen deneklerde augmentasyon yapılan her iki grupta da TGF-β1 seviyelerine bakarak inflamatuar fazın bittiği Grup I'de ise bazı deneklerde hala devam ettiği görüldü.

4-) CD34 antikoru ile immünreaktivite gösteren damar endotelinde artış en çok Grup II'de görülse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

5-) Gruplar arası Bonar Skala skoru karşılaştırıldığında Grup III'te skor ortalamaları diğer iki gruba göre daha düşük çıkmıştır (Normal tendon yapısına daha çok benzer). Fakat istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

6-) Grup III'te diğer iki gruba göre tenosit yapısı normale daha yakın bulunmuştur fakat gruplar arası ve sakrifikasyon zamanları tenosit farklılığı açısından araştırıldığında istatiksel anlamlı bir sonuç çıkmamıştır.

7-) Grup II kendi içinde tenosit yapıları için değerlendirildiğinde 4. hafta sakrifiye edilen denekler ile 8. hafta sakrifiye edilen denekler arasında tenosit yapılarının daha kötüye gittiğine yönelik istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

8-) Gruplara genel olarak bakıldığında gruplar arasında zemin maddesi skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

9-) Sadece 4.haftada sakrifiye edilen denekler zemin maddesi skorları için karşılaştırıldığında Grup III'te diğer gruplara göre normal tendon yapısına en benzer zemin maddesi yapısı elde edilmesi istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur.

10-) Grup I kendi içinde zemin yapısı açısından değerlendirildiğinde tamir yapılan zaman ilerledikçe zemin maddesinde daha normal yapı oluştuğu istatistiki olarak anlamlı bulundu.

11-) Gruplar kolajen yapısı açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

12-) Gruplar arası vaskülarite yapısı açısından değerlendirildiğinde Grup II ve Grup III'ün çalışma sonucunda Grup I'den daha normal vaskülarite yapısına geldiği, Grup III'ün de diğer gruplara göre en normal vaskülarite yapısına sahip olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

13-) Vaskülarite yapısındaki anlamlı farkın zamanla ilişkisi incelendiğinde ilk 4 haftada gruplar arasında anlamlı fark bulunmazken, 8. haftada sakrifiye edilen denekler incelendiğinde ise Grup III'te diğer iki gruptan daha normal yapıda vaskülariteye sahip olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

ÖZET

Çalışmamız kronik masif rotator manşet yırtığı tamiri sonrası tendon kemik bileşkesinde daha etkili bir tamir nasıl yapılır sorusuna cevap bulmak için yapılmıştır. Bu amaçla vücut dışı şok dalga tedavisi ve Crimson Duvet augmentasyon tekniğinin iyileşmeye etkileri karşılaştırılmıştır. Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (Ek I) alınarak Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma laboratuvarından elde edilen 30 adet erişkin, Sprague-Dawley cinsi rat üzerinde gerçekleştirildi.

Ratlar 3 gruba ayrıldı. Her gruba kronik rotator manşet yırtığı modeli oluşturuldu. Grup I (kontrol grubu): Sadece rotator manşet tamiri yapıldı. Grup II: Rotator manşet tamiri ve vücut dışı şok dalga tedavisi uygunlandı. Grup III: Crimson Duvet tekniği ile rotator manşet tamiri yapıldı.

Post-operatif 2. haftada Grup II'deki deneklere 1.0 Bar, 1000 atım, 10 Hz olacak şekilde vücut dışı şok dalga tedavisi uygulandı. Post-operatif 4. haftada her gruptan 5 adet denek sakrifiye edildi. Grup II'de kalan 5 adet deneğe post-operatif 6. haftada tekrar aynı özelliklerle vücut dışı şok dalga tedavisi uygulandı. Geri kalan tüm denekler tamir sonrası 8. haftada sakrifiye edildi. Deneklerin tendon kemik bileşkelerine histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme yapıldı.

Histomorfolojik değerlendirmede Grup III'te diğer gruplardan Bonar Skala skorunun daha düşük olması, tenosit yapısı, zemin maddesi ve vaskülarite açısından normal tendon yapısına daha çok benzer bulunmasına rağmen sadece vaskülarite açısından anlamlı fark saptanmıştır. İmmünohistokimyasal değerlendirmede ise Grup III'te kemik morfogenetik protein-2 ve kemik morfogenetik protein-7 seviyeleri daha çok eksprese olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. Transforme edici büyüme faktörü- β1 ekspresyonunda gruplar arasında

anlamlı fark saptanmamıştır. Grup II'de CD34 antikoru ile immünreaktivite gösteren damar endotelinde artış saptansa da istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır.

Sonuç olarak biyolojik augmentason tekniği kullanılan Grup III, tendon kemik bileşkesi iyileşmesinde daha etkili gözükmektedir fakat anlamlı sonuca ulaşılamamıştır. Çalışmanın kısıtlılıklarının azaltılıp, denek sayısı arttırarak çalışmanın tekrarlanmasıyla anlamlı sonuca ulaşılabileceği öngülmektedir.

Anahtar kelimeler; Vücut dışı şok dalga tedavisi, Crimson Duvet tekniği, Tendon kemik bileşke iyileşmesi, Kronik masif rotator manşet rüptürü

COMPARING THE EFFECT OF ESWT (EXTRACORPOREAL SHOCK WAVE THERAPY) AND THE EFFECT OF CRIMSON DUVET TECHNIQUE ON THE HEALING AFTER THE REPAIR AND THE CHRONIC SUPRASPINATUS MUSCLE RUPTURE MODEL FORMED IN RATS

SUMMARY

Our study was conducted to answer the question of how to make a more effective repair at the tendon-bone junction after chronic massive rotator cuff tear repair. For this purpose, the effects of extracorporeal shock wave therapy and Crimson Duvet augmentation technique on healing were compared. Our study was carried out on 30 adult, Sprague-Dawley rats obtained from Trakya University Faculty of Medicine Experimental Animals and Research Laboratory with the approval of Trakya University Animal Experiments Local Ethics Committee (Annex I).

The rats were divided into 3 groups. A chronic rotator cuff tear model was created for each group. Group I (control group): Only rotator cuff repair was performed. Group II: Rotator cuff repair and extracorporeal shock wave therapy was performed. Group III: Rotator cuff repair was performed using the Crimson Duvet technique.

In the post-operative 2nd week, the subjects in Group II were administered extracorporeal shock wave therapy at 1.0 Bar, 1000 beats, 10 Hz. In the post-operative 4th week, 5 subjects from each group were sacrificed. In the post-operative 6th week,

extracorporeal shock wave therapy with the same features was applied to the remaining 5 subjects in Group II. All remaining subjects were sacrificed 8 weeks after repair. Histopathological and immunohistochemical evaluations of the tendon bone junctions of the subjects were performed.

Although the Bonar Scale score was lower in Group III than other groups in histomorphological evaluation, it was found to be more similar to normal tendon structure in terms of tenocyte structure, ground material and vascularity, but a significant difference was found only in terms of vascularity. In the immunohistochemical evaluation, although bone morphogenetic protein-2 and bone morphogenetic protein-7 levels were more expressed in Group III, it was not statistically significant. There was no significant difference between groups in expression of transforming growth factor-1. Although there was an increase in the vascular endothelium showing immunoreactivity with CD 34 antibody in Group II, there was no statistically significant difference.

As a result, Group III using biological augmentason technique seems to be more effective in healing of tendon-bone junction, but no significant result was achieved. It is predicted that a meaningful result can be achieved by repeating the study by reducing the limitations of the study and increasing the number of subjects.

Keywords; Extracorporeal shock wave therapy, Crimson Duvet technique, Tendon bone junction healing, Chronic massive rotator cuff rupture

KAYNAKLAR

1. Burkhart SS. Arthroscopic treatment of massive rotator cuff tears. Clinical results and biomechanical rationale. Clin Orthop Relat Res 1991(267):45-56.

2. Yamaguchi K, Ditsios K, Middleton WD, Hildebolt CF, Galatz LM, Teefey SA. The demographic and morphological features of rotator cuff disease. J Bone Joint Surg Am 2006;88(8):1699-704.

3. Sambandam SN, Khanna V, Gul A, Mounasamy V. Rotator cuff tears: An evidence based approach. World J Orthopedics 2015;6(11):902-18.

4. Wang CJ. Extracorporeal shockwave therapy in musculoskeletal disorders. J Orthop Surg Res. 2012;7:11.

5. Wang CJ, Huang HY, Pai CH. Shock wave-enhanced neovascularization at the tendon-bone junction: an experiment in dogs. J Foot Ankle Surg 2002;41(1):16-22.

6. Wang CJ, Wang FS, Yang KD, Weng LH, Hsu CC, Huang CS, et al. Shock wave therapy induces neovascularization at the tendon-bone junction. A study in rabbits. J Orthop Res 2003;21(6):984-9.

7. Ajrawat P, Dwyer T, Almasri M, Veillette C, Romeo A, Leroux T, et al. Bone marrow stimulation decreases retear rates after primary arthroscopic rotator cuff repair: a systematic review and meta-analysis. J Shoulder Elbow Surg 2019;28(4):782-91.

8. Bilsel K, Yildiz F, Kapicioglu M, Uzer G, Elmadag M, Pulatkan A, et al. Efficacy of bone marrow-stimulating technique in rotator cuff repair. J Shoulder Elbow Surg 2017;26(8):1360-6.

9. Rokito AS, Delay BS. Arthroscopic Acromioplasty And Mini-Open Rotator Cuff Repair. In: Kenneth J. Koval MD, Joseph D. Zuckerman, M.D., editor. Atlas of Orthopaedic Surgery: A Multimedia Reference. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 15.

10. Vosloo M, Keough N, De Beer MA. The clinical anatomy of the insertion of the rotator cuff tendons. Eur J Orthop Surg Traumatol 2017;27(3):359-66.

11. Burkhart SS, Esch JC, Jolson RS. The rotator crescent and rotator cable: an anatomic description of the shoulder's "suspension bridge". Arthroscopy 1993;9(6):611-6.

12. Mahiroğulları M, İşyar M, Çakmak S. Rotator manşet yırtıkları. TOTBİD Derg 2013(12):353–9.

13. Denard PJ, Koo SS, Murena L, Burkhart SS. Pseudoparalysis: The Importance of Rotator Cable Integrity. Orthopedics 2012;35(9):e1353-e7.

14. Hsu JE, Gee AO, Lippitt SB, Matsen FA. The Rotator Cuff. In: Charles A. Rockwood Jr M, Frederick A. Matsen III M, Michael A. Wirth M, Steven B. Lippitt M, Edward V. Fehringer M, John W. Sperling M, MBA, editors. Rockwood and Matsen's The Shoulder. Fifth ed: Elsevier; 2017. p. 651-719.

15. İnce B, Kanatlı U. Omuz Biyomekaniği "Ortopedist Gözüyle". In: Kanatlı PDU, editor. Omuz Artroskopisi Genişletilmiş ikinci baskı ed. Türkiye US Akademi; 2020. p. 45.

16. Clark JM, Harryman DT 2nd. Tendons, ligaments, and capsule of the rotator cuff. Gross and microscopic anatomy. J Bone Joint Surg Am 1992;74(5):713-25.

17. Cooper RR, Misol S. Tendon and Ligament Insertion A light and electron microscopic study. J Bone Joint Surg 1970;52-A:1-20.

18. Kannus P, Jozsa L, Jarvinnen M. Basic Science of Tendons. In: William E. Garrett J, Speer KP, Kirkendall DT, editors. Orthopaedic Sports Medicine Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000. p. 21-37.

19. Longo UG, Lamberti A, Maffulli N, Denaro V. Tendon augmentation grafts: a systematic review. Br Med Bull 2010;94:165-88.

20. Longo UG, Berton A, Khan W, Maffulli N, Denaro V. Histopathology of rotator cuff tears. Sports Med Arthroscop Rev 2011;19:227-36.

21. Benjamin M, Evans EJ, Copp L. The histology of tendon attachments to bone in man. J Anat 1986;149:89-100.

22. Tempelhof S, Rupp S, Seil R. Age-related prevalence of rotator cuff tears in asymptomatic shoulders. J Shoulder Elbow Surg 1999;8(4):296-9.

23. Hashimoto T, Nobuhara K, Hamada T. Pathologic evidence of degeneration as a primary cause of rotator cuff tear. Clin Orthop Relat Res 2003(415):111-20.

24. Cristofano CD, Rocca CD, Gumina S. Etiopathogenesis of the Cuff Tear. In: Gumina S, editor. Rotator Cuff Tear Pathogenesis, Evaluation and Treatment. Italy: Springer; 2017. p. 61-9.

25. Lohr JF, Uhthoff HK. The microvascular pattern of the supraspinatus tendon. Clin Orthop Relat Res 1990(254):35-8.

26. Ozaki J, Fujimoto S, Nakagawa Y, Masuhara K, Tamai S. Tears of the rotator cuff of the shoulder associated with pathological changes in the acromion. A study in cadavera. J Bone Joint Surg Am 1988;70(8):1224-30.

27. 2nd CN, Poppen N. Supraspinatus outlet. Orthop Trans 1987;11:234.

28. Bigliani LU, Ticker JB, Flatow EL, Soslowsky LJ, Mow VC. The relationship of acromial architecture to rotator cuff disease. Clin Sports Med 1991;10(4):823-38.

29. Yazici M, Kopuz C, Gülman B. Morphologic variants of acromion in neonatal cadavers. J Pediatr Orthop 1995;15(5):644-7.

30. Flatow EL, Soslowsky LJ, Ticker JB, Pawluk RJ, Hepler M, Ark J, et al. Excursion of the rotator cuff under the acromion. Patterns of subacromial contact. Am J Sports Med 1994;22(6):779-88.

31. Putz R, Reichelt A. Structural findings of the coraco-acromial ligament in rotator cuff rupture, tendinosis calcarea and supraspinatus syndrome. Z Orthop Ihre Grenzgeb 1990;128(1):46-50.

32. Ogata S, Uhthoff HK. Acromial enthesopathy and rotator cuff tear. A radiologic and histologic postmortem investigation of the coracoacromial arch. Clin Orthop Relat Res 1990(254):39-48.

33. Luo Z, Hsu H, Grabowski J, Morrey B, An K. Mechanical environment associated with rotator cuff tears. J Shoulder Elbow Surg 1998;7:610-20.

34. Schneeberger AG, Nyffeler RW, Gerber C. Structural changes of the rotator cuff caused by experimental subacromial impingement in the rat. J Shoulder Elbow Surg 1998;7(4):375-80.

35. AKPINAR S, ÇİRCİ E. Rotator Manşet Yırtıklarına Yaklaşım. Turkiye Klinikleri J Orthop & Traumatol-Special Topics. 2014;7:29-33.

36. Yadav H, Nho S, Romeo A, MacGillivray JD. Rotator cuff tears: pathology and repair. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2009;17(4):409-21.

37. Rudzki JR, Adler RS, Warren RF, Kadrmas WR, Verma N, Pearle AD, et al. Contrast-enhanced ultrasound characterization of the vascularity of the rotator cuff tendon: age- and activity-related changes in the intact asymptomatic rotator cuff. J Shoulder Elbow Surg 2008;17(1 Suppl):96s-100s.

38. Levy O, Relwani J, Zaman T, Even T, Venkateswaran B, Copeland S. Measurement of blood flow in the rotator cuff using laser Doppler flowmetry. J Bone Joint Surg Br 2008;90(7):893-8.

39. Budoff JE, Nirschl RP, Ilahi OA, Rodin DM. Internal impingement in the etiology of rotator cuff tendinosis revisited. Arthroscopy 2003;19(8):810-4.

40. Burkhart SS, Morgan CD, Kibler WB. Shoulder injuries in overhead athletes. The "dead arm" revisited. Clin Sports Med 2000;19(1):125-58.

41. Burkhart SS, Morgan CD, Kibler WB. The disabled throwing shoulder: spectrum of pathology Part III: The SICK scapula, scapular dyskinesis, the kinetic chain, and rehabilitation. Arthroscopy 2003;19(6):641-61.

42. Burkhart SS, Morgan CD, Kibler WB. The disabled throwing shoulder: spectrum of pathology. Part II: evaluation and treatment of SLAP lesions in throwers. Arthroscopy 2003;19(5):531-9.

43. Burkhart SS, Morgan CD, Kibler WB. The disabled throwing shoulder: spectrum of pathology Part I: pathoanatomy and biomechanics. Arthroscopy 2003;19(4):404-20.

44. Choo A, McCarthy M, Pichika R, Sato EJ, Lieber RL, Schenk S, et al. Muscle gene expression patterns in human rotator cuff pathology. J Bone Joint Surg Am 2014;96(18):1558-65.

45. Halder AM, O'Driscoll SW, Heers G, Mura N, Zobitz ME, An KN, et al. Biomechanical comparison of effects of supraspinatus tendon detachments, tendon defects, and muscle retractions. J Bone Joint Surg Am. 2002;84(5):780-5.

46. Ellman H. Diagnosis and treatment of incomplete rotator cuff tears. Clin Orthop Relat Res. 1990(254):64-74.

47. Codman EA, Akerson IB. The pathology associated with rupture of the supraspinatus tendon. Ann Surg 1931;93(1):348-59.

48. Habermeyer P, Krieter C, Tang KL, Lichtenberg S, Magosch P. A new arthroscopic classification of articular-sided supraspinatus footprint lesions: a prospective comparison with Snyder's and Ellman's classification. J Shoulder Elbow Surg 2008;17(6):909-13.

49. Gumina S, Borroni M. Classifications of the Rotator Cuff Tears. In: Gumina S, editor. Rotator Cuff Tear Pathogenesis,Evaluation and Treatment. Italy: Springer; 2017. p. 123-31.

50. Burkhart SS, Danaceau SM, Pearce CE, Jr. Arthroscopic rotator cuff repair: Analysis of results by tear size and by repair technique-margin convergence versus direct tendon-to-bone repair. Arthroscopy 2001;17(9):905-12.

51. Davidson JF, Burkhart SS, Richards DP, Campbell SE. Use of preoperative magnetic resonance imaging to predict rotator cuff tear pattern and method of repair. Arthroscopy 2005;21(12):1428.

52. Kijima H, Minagawa H, Nishi T, Kikuchi K, Shimada Y. Long-term follow-up of cases of rotator cuff tear treated conservatively. J Shoulder Elbow Surg 2012;21(4):491-4.

53. Maman E, Harris C, White L, Tomlinson G, Shashank M, Boynton E. Outcome of nonoperative treatment of symptomatic rotator cuff tears monitored by magnetic resonance imaging. J Bone Joint Surg Am 2009;91(8):1898-906.

54. Bokor DJ, Hawkins RJ, Huckell GH, Angelo RL, Schickendantz MS. Results of nonoperative management of full-thickness tears of the rotator cuff. Clin Orthop Relat Res 1993(294):103-10.

55. McLauglin H. Rupture of the rotator cuff. J Bone Joint Surg Am 1962;44:979-83.

56. Soslowsky LJ, Carpenter JE, DeBano CM, Banerji I, Moalli MR. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. J Shoulder Elbow Surg 1996;5(5):383-92.

57. Ogden JA, Tóth-Kischkat A, Schultheiss R. Principles of shock wave therapy. Clin Orthop Relat Res 2001(387):8-17.

58. Karpman RR, Magee FP, Gruen TW, Mobley T. The lithotriptor and its potential use in the revision of total hip arthroplasty. Clin Orthop Relat Res 2001(387):4-7.

59. Wild C, Khene M, Wanke S. Extracorporeal shock wave therapy in orthopedics. Assessment of an emerging health technology. Int J Technol Assess Health Care 2000;16(1):199-209.

60. Speed C. A systematic review of shockwave therapies in soft tissue conditions: focusing on the evidence. British J Sports Med 2014;48(21):1538-42.

61. Wang CJ. An overview of shock wave therapy in musculoskeletal disorders. Chang Gung Med J 2003;26(4):220-32.

62. Lök V, Köse B, Baloğlu İ, Öztürk H, Öziç U, Özsoy MH. Ortopedi ve travmatolojide şok dalga tedavisi. TOTBİD Derg 2017(16):209-29.

63. Orhan Z, Ozturan K, Guven A, Cam K. The effect of extracorporeal shock waves on a rat model of injury to tendo Achillis. A histological and biomechanical study. J Bone Joint Surg Br 2004;86:613-8.

64. Wang C-J, Wang F-S, Yang K, Weng L-H, Hsu C-C, Huang C-S, et al. Shock wave therapy induces neovascularization at the tendon–bone junction. A study in rabbits. J Orthop Res 2003;21:984-9.

65. Qin L, Wang L, Wong MW, Wen C, Wang G, Zhang G, et al. Osteogenesis induced by extracorporeal shockwave in treatment of delayed osteotendinous junction healing. J Orthop Res 2010;28(1):70-6.

66. Snyder S, Burns J. Rotator Cuff Healing and the Bone Marrow "Crimson Duvet" From Clinical Observations to Science. Techniques in Shoulder & Elbow Surgery. 2009;10:130-7.

67. Gerber C, Schneeberger AG, Perren SM, Nyffeler RW. Experimental rotator cuff repair. A preliminary study. J Bone Joint Surg Am 1999;81(9):1281-90.

68. Rodeo SA, Potter HG, Kawamura S, Turner AS, Kim HJ, Atkinson BL. Biologic augmentation of rotator cuff tendon-healing with use of a mixture of osteoinductive growth factors. J Bone Joint Surg Am 2007;89(11):2485-97.

69. Maffulli N, Longo UG, Franceschi F, Rabitti C, Denaro V. Movin and Bonar scores assess the same characteristics of tendon histology. Clin Orthop Relat Res 2008;466(7):1605-11.

70. Fearon A, Dahlstrom JE, Twin J, Cook J, Scott A. The Bonar score revisited: region of evaluation significantly influences the standardized assessment of tendon degeneration. J Sci Med Sport 2014;17(4):346-50.

71. Buchmann S, Walz L, Sandmann GH, Hoppe H, Beitzel K, Wexel G, et al. Rotator cuff changes in a full thickness tear rat model: verification of the optimal time interval until reconstruction for comparison to the healing process of chronic lesions in humans. Arch Orthop Trauma Surg 2011;131(3):429-35.

72. Street M, Thambyah A, Dray M, Amirapu S, Tuari D, Callon KE, et al. Augmentation with an ovine forestomach matrix scaffold improves histological outcomes of rotator cuff repair in a rat model. J Orthopaedic Surg Res 2015;10(1):165.

73. Kweon SH, Kim CG, Yoo BM, Cho HH, Choi YC. Complete Rupture of the Proximal Hamstring. Korean J Sports Med 2016;34(2):176-80.

74. Sun Y, Kwak J-M, Kholinne E, Tan J, Koh K-H, Jeon I-H. Nonabsorbable Suture Knot on the Tendon Affects Rotator Cuff Healing: A Comparative Study of the Knots on Tendon and Bone in a Rat Model of Rotator Cuff Tear. Am J Sports Med 2019;47(12):2809-15.

75. Kida Y, Morihara T, Matsuda K-I, Kajikawa Y, Tachiiri H, Iwata Y, et al. Bone marrow-derived cells from the footprint infiltrate into the repaired rotator cuff. J Shoulder Elbow Surg 2013;22(2):197-205.

76. Cook JL, Feller JA, Bonar SF, Khan KM. Abnormal tenocyte morphology is more prevalent than collagen disruption in asymptomatic athletes' patellar tendons. J Orthop Res 2004;22(2):334-8.

77. Pammar C, Nayak RS, Kotrashetti VS, Hosmani J. Comparison of microvessel density using CD34 and CD105 in oral submucous fibrosis and its correlation with clinicopathological features: An immunohistochemical study. J Cancer Res Ther 2018;14(5):983-8.

78. Bing Z, Jian-ru Y, Yao-quan J, Shi-feng C. Evaluation of angiogenesis in non-small cell lung carcinoma by CD34 immunohistochemistry. Cell Biochem Biophys. 2014;70(1):327-31.

79. Yu Y, Bliss JP, Bruce WJM, Walsh WR. Bone morphogenetic proteins and smad expression in ovine tendon-bone healing. Arthroscopy 2007;23(2):205-10.

80. Gimbel JA, Van Kleunen JP, Mehta S, Perry SM, Williams GR, Soslowsky LJ. Supraspinatus tendon organizational and mechanical properties in a chronic rotator cuff tear animal model. J Biomech 2004;37(5):739-49.

81. Speed CA. Extracorporeal shock-wave therapy in the management of chronic soft-tissue conditions. J Bone Joint Surg Br 2004;86(2):165-71.

82. Speed CA, Nichols D, Richards C, Humphreys H, Wies JT, Burnet S, et al. Extracorporeal shock wave therapy for lateral epicondylitis--a double blind randomised controlled trial. J Orthop Res 2002;20(5):895-8.

83. Chao YH, Tsuang YH, Sun JS, Chen LT, Chiang YF, Wang CC, et al. Effects of shock waves on tenocyte proliferation and extracellular matrix metabolism. Ultrasound Med Biol 2008;34(5):841-52.

84. Apaydın AH. Spor hekimliğinde ESWT uygulamaları. Turkish J Sports Med 2015;50(2):65-76.

85. Han SH, Lee JW, Guyton GP, Parks BG, Courneya JP, Schon LC. J.Leonard Goldner Award 2008. Effect of extracorporeal shock wave therapy on cultured tenocytes. Foot Ankle Int 2009;30(2):93-8.

86. Bedi A, Maak T, Walsh C, Rodeo SA, Grande D, Dines DM, et al. Cytokines in rotator cuff degeneration and repair. J Shoulder Elbow Surg 2012;21(2):218-27.

87. Longo UG, Franceschi F, Ruzzini L, Rabitti C, Morini S, Maffulli N, et al. Histopathology of the supraspinatus tendon in rotator cuff tears. Am J Sports Med 2008;36(3):533-8.

88. Ohberg L, Lorentzon R, Alfredson H. Neovascularisation in Achilles tendons with painful tendinosis but not in normal tendons: an ultrasonographic investigation. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2001;9(4):233-8.

89. Ohberg L, Alfredson H. Ultrasound guided sclerosis of neovessels in painful chronic Achilles tendinosis: pilot study of a new treatment. Br J Sports Med 2002;36(3):173-5; discussion 6-7.

90. Civin CI, Strauss LC, Brovall C, Fackler MJ, Schwartz JF, Shaper JH. Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells. J Immunol 1984;133(1):157-65.

91. Siemerink MJ, Klaassen I, Vogels IM, Griffioen AW, Van Noorden CJ, Schlingemann RO. CD34 marks angiogenic tip cells in human vascular endothelial cell cultures. Angiogenesis 2012;15(1):151-63.

92. Tei K, Matsumoto T, Mifune Y, Ishida K, Sasaki K, Shoji T, et al. Administrations of peripheral blood CD34-positive cells contribute to medial collateral ligament healing via vasculogenesis. Stem Cells 2008;26(3):819-30.

93. Hsu RW, Hsu WH, Tai CL, Lee KF. Effect of shock-wave therapy on patellar tendinopathy in a rabbit model. J Orthop Res 2004;22(1):221-7.

94. BrañEs J, Contreras HR, Cabello P, Antonic V, Guiloff LJ, Brañes M. Shoulder Rotator Cuff Responses to Extracorporeal Shockwave Therapy: Morphological and Immunohistochemical Analysis. Shoulder & Elbow. 2012;4(3):163-8.

95. Fu SC, Wang W, Pau HM, Wong YP, Chan KM, Rolf CG. Increased expression of transforming growth factor-beta1 in patellar tendinosis. Clin Orthop Relat Res 2002(400):174-83.

96. Millar NL, Wei AQ, Molloy TJ, Bonar F, Murrell GA. Cytokines and apoptosis in supraspinatus tendinopathy. J Bone Joint Surg Br 2009;91(3):417-24.

97. Carpenter JE, Thomopoulos S, Flanagan CL, DeBano CM, Soslowsky LJ. Rotator cuff defect healing: a biomechanical and histologic analysis in an animal model. J Shoulder Elbow Surg 1998;7(6):599-605.

98. Millar NL, Hueber AJ, Reilly JH, Xu Y, Fazzi UG, Murrell GA, et al. Inflammation is present in early human tendinopathy. Am J Sports Med 2010;38(10):2085-91.

99. Chang J, Most D, Stelnicki E, Siebert JW, Longaker MT, Hui K, et al. Gene expression of transforming growth factor beta-1 in rabbit zone II flexor tendon wound healing: evidence for dual mechanisms of repair. Plast Reconstr Surg 1997;100(4):937-44.

100. Kashiwagi K, Mochizuki Y, Yasunaga Y, Ishida O, Deie M, Ochi M. Effects of transforming growth factor-β 1 on the early stages of healing of the Achilles tendon in a rat model. Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg 2004;38(4):193-7.

101. Pauly S, Klatte F, Strobel C, Schmidmaier G, Greiner S, Scheibel M, et al. BMP-2 and BMP-7 affect human rotator cuff tendon cells in vitro. J Shoulder Elbow Surg 2012;21(4):464-73.

102. Barton ER, Gimbel JA, Williams GR, Soslowsky LJ. Rat supraspinatus muscle atrophy after tendon detachment. J Orthop Res 2005;23(2):259-65.

103. Gimbel JA, Van Kleunen JP, Mehta S, Perry SM, Williams GR, Soslowsky LJ. Supraspinatus tendon organizational and mechanical properties in a chronic rotator cuff tear animal model. J Biomech 2004;37(5):739-49.

104. Agoston DV. How to Translate Time? The Temporal Aspect of Human and Rodent Biology. Front Neurol 2017;8:92-.

EKLER

Ek 1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 2019/12 **Karar Tarihi**: 27.12.2019
Karar No: 2019.12.01
Hayvan Sayısı ve Cinsi: Sıçan 30 adet

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim üyesi Doç. Dr. Mert ÖZCAN'ın yaptığı, TÜHADYEK-2019/28 protokol nolu, Araş. Gör. Dr. Utku DEMİRTAŞ'ın tıpta uzmanlık tezi olarak planlanan,"**Ratlarda oluşturulmuş akut supraspinatus kas rüptürü modeli ve akut tamiri sonrası iyileşmede LIPUS (low-intensity pulsed ultrasound) ve ESWT (extracorporeal shock wave therapy) etkisi**'' başlıklı çalışmanın isminin "**Ratlarda oluşturulmuş kronik supraspinatus kas rüptürü modeli ve tamiri sonrası iyileşmede ESWT (extracorporeal shock wave therapy) etkisi ile Crimson Duvet tekniğinin karşılaştırılması**''olarak değiştirilmesi ve deney protokolünde değişiklik yapılması önerisi görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri etik kurullarının çalışma usul ve esaslarına dair yönetmelik ve Trakya Üniversitesi hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Enis ULUÇAM
Başkan
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Vet. Hekim Didem DÖNMEZ
Vet. Hek. Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

-KATILMADI-
Dr. Öğr. Üyesi Hayati ARDA
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐ yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Dr. Öğr. Üyesi Beytullah ÖZKAN
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Prof. Dr. Y. Atakan SEZER
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Prof. Dr. Tevfik AKTOZ
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet ☐ hayır

Doç. Dr. Hakan GÜRKAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Doç. Dr. Elvan BAKAR
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet ☐ hayır

Ecz. F. Uygar GÜLER
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır

Ayhan YILMAZ
Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☑ yok
Toplantı Katılım: ☑ evet ☐ hayır