

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

**DENEYSEL TENDON HASARI OLUŞTURULMUŞ
TAVŞANLARDA PULSLU MANYETİK ALANIN (PMA)
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE EKSTRAKORPOREAL ŞOK
DALGA TERAPİ (EXTRACORPOREAL SHOCKWAVE
THERAPY; ESWT) YÖNTEMİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Coşar UZUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nurten ERDAL

MERSİN-2014

**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL TENDON HASARI OLUŞTURULMUŞ
TAVŞANLARDA PULSLU MANYETİK ALANIN (PMA)
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE EKSTRAKORPOREAL ŞOK
DALGA TERAPİ (EXTRACORPOREAL SHOCKWAVE
THERAPY; ESWT) YÖNTEMİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Coşar UZUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr.Nurten ERDAL

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBE BFB (CU) 2013-1 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: 263

Mersin-2014

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyofizik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Deneysel Tendon Hasarı Oluşturulmuş Tavşanlarda Pulsu Manyetik Alanın (PMA) Etkilerinin Araştırılması ve Ekstrakorporeal Şok Dalga Terapi (Extracorporeal Shockwave Therapy; ESWT) Yöntemi İle Karşılaştırılması” başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 23/07/2014

Prof. Dr. Nurten ERDAL
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı

Prof. Dr. Belgin BÜYÜKAKILLI
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı

Doç. Dr. Can DEMİREL
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyofizik Anabilim Dalı

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 05.08.2014 tarih ve 2014/213 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Ş. Necat. YILMAZ

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez danışmanım Prof. Dr. Nurten ERDAL'a, Yüksek lisans eğitimime katkılarından dolayı Prof. Dr. Belgin BÜYÜKAKILLI ve Prof. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneyisel çalışmalarına katkılarında dolayı, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Serkan GÜRGÜL'e, Ortopedi ve Travmatoloji Uzmanı Dr. Deniz Kalaycı'ya, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Ş. Necat Yılmaz'a, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Öğretim üyelerinden sayın Doç. Dr. Bahar TAŞDELEN'e, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi A. Ayça ÖZDEMİR'e ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Arş. Gör. Derya Yetkin'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma sırasında fikirleri ve her türlü destekleri ile katkıda bulunan başta Hayvan Deneyleeri Araştırma Laboratuvarından sorumlu Veteriner Hekim Tamer Yener'e, Hayvan Deneyleeri Araştırma Laboratuvarında çalışan Muhsin Yaşar'a, Biyofizik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrencisi Gülten BADEMOĞLU'na ve Biyofizik Anabilim Dalında görev yapan diğer bölüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu çalışmam sırasında da beni sürekli olarak manevi açıdan destekleyen annem Vedad UZUN'a, babam Nasif UZUN'a ve Kardeşlerim'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
EŞİTLİKLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Aşil Tendon Mitolojisi	2
2.2. Tendon Yapısı ve Histoloji	2
2.3. Aşil Tendon Anatomisi	4
2.4. Aşil Tendon Biyomekaniği	6
2.4.1. Biyomekanik Parametreler	11
2.5. Tendon İyileşmesi	12
2.5.1. Tendon İyileşmesinde Moleküler Mekanizma	16
2.6. Aşil Tendon İyileşmesinde Kullanılan Tedavi Yöntemleri	18
2.6.1. Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavisi (ESWT) Yönteminin Tendon Hastalıklarında ve Yaralanmalarında Kullanılması	18
2.6.1.1. Şok Dalgasının Fiziksel Özellikleri	19
2.6.1.2. Şok Dalgasının Etki Mekanizması	22
2.6.1.3. Şok Dalgası Tedavi Prensipleri	24
2.6.2. Pulslu Manyetik Alanın (PMA) Tendon İyileşmesinde Kullanılması	24
2.6.2.1. Manyetik Alan	24
2.6.2.2. Pulslu Manyetik Alanın (PMA) Biyolojik Etkileri	26
2.6.2.3. Pulslu Manyetik Alanın (PMA) Etki Mekanizması	26

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	29
3.1. Deney Modelinin Oluşturulması ve Kullanılan Deney Hayvanları	29
3.2. Grupların Oluşturulması ve Deney Protokolü	29
3.2.1. Gruplara Uygulanan Cerrahi Prosedür	30
3.2.2. İmmobilizasyon Yöntemi	33
3.3. Yüksek Frekanslı Radyal ESWT Cihazı	35
3.3.1. Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavisi (ESWT) Uygulaması	36
3.4. Pulslu Manyetik Alan (PMA) Sistemi	37
3.4.1. Pulslu Manyetik Alanın (PMA) Uygulanması	38
3.5. Tendon Biyomekaniği Ölçüm ve Analizleri	39
3.6. Histolojik Ölçümler	41
3.6.1. Işık Mikroskobu Doku Takibi ve İmmünohistokimyasal İşaretleme	41
3.7. İstatistiksel Yöntemler	43
4. BULGULAR	44
4.1. Genel Bulgular	44
4.1.1. Vücut Kütlesi Bulguları	44
4.1.2. Tendon Kütlesi Bulguları	45
4.2. Geometrik Bulgular	47
4.3. Tendon Biyomekanik Bulguları	50
4.4. Histolojik Bulgular	57
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
7. KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ	83

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Tendonun yapısı	4
Şekil 2.2 Tendon germe testinden elde edilen tipik eğriler (A) Yük-Deformasyon (B) Stres-Strain I, 'Toe' Region; II, 'Linner' Region; III, 'Failure' Region.	10
Şekil 2.3. Uygulanan yüke karşı tendon liflerinin davranışı	10
Şekil 2.4. Yük-Deformasyon eğrisinin bölgeleri	11
Şekil 2.5. Tendon iyileşme süreçleri	13
Şekil 2.6. Tendon iyileşme evrelerinde gelişen hücresel olaylar	14
Şekil 2.7. Germe kuvvetinin zamanla değişimi	15
Şekil 2.8. Elektrohidrolik sistemde oluşturulmuş tipik şok dalgası. Tw: İmpuls Genişliği, Tr: Yükselme Zamanı	21
Şekil 2.9. Şok dalga tedavisinin etki mekanizması	24
Şekil 2.10. Pulsu manyetik alan (PMA) sistemi tarafından üretilen kuasi-triangular MA.	25
Şekil 2.11. Pulsu manyetik alanların etki mekanizması	28
Şekil 3.1. New Zelanda cinsi tavşanlar.	29
Şekil 3.2. A) Aşil Tendonu hattı boyunca derinin ve tendonu saran paratenonun insize edilmesi, B) Derinin primer sutur ile kapatılması, C) Yara hattına herhangi bir enfeksiyon riskine karşı ilaç uygulaması, D) Yaranın gazlı bez ile kapatılması.	31
Şekil 3.3. A) Tendon kesi hattının longitudinal olarak belirlenmesi, B) Tendona deneysel hasar işleminin uygulanması, C) Aşil tendonunun kalkaneus ve gastroknemius hatlarının ucuca yaklaştırılması, D) Aşil tendonu kesi hattına modifiye kesler dikişinin uygulanması.	32
Şekil 3.4. A) Modifiye Kesler Dikişi uygulandıktan sonra Aşil tendonunun görünümü, B) Dikiş hattının running suture ile güçlendirilmesi, C) İşlem sonrası deri hattının dikilmesi, D) Deri kapatıldıktan sonra yara hattının temizlenmesi, enfeksiyona karşı ilaç uygulaması ve immobilizasyona hazırlanması.	32
Şekil 3.5. Klinikte uygulanan alçı yöntemi ile tavşan ayağında immobilizasyon oluşturulması ve tavşanın alçıyı izole etmesi.	34
Şekil 3.6. A) Tavşan ayak hatlarına uygun kesilen karton parçasının ayak lateral kısmına yerleştirilmesi ve setabant ile sabitlenmesi, B) Tavşanın ayağını fleksiyona	

getirmesini engellemek için daha sert cismin kartona uygun kesilmesi, C) Sert cismin karton üzerine yerleştirilmesi, D) Ayağın flaster ile sabitlenmesi.	35
Şekil 3.7. Masterpuls® MP200 ve Energy II (Storz Medical 2007 model, İsviçre) yüksek frekanslı radyal ESWT cihazı. Teknik özellikleri ise; frekans 1-21 Hz, uygulama basıncı 1-5 bar, atımın en yüksek basıncı 18.5 MPa ve Atım Süresi 200-2000 μ s'dir.	36
Şekil 3.8. ESWT uygulaması	36
Şekil 3.9. Pulsu manyetik alan (PMA) sisteminin genel görünüşü	38
Şekil 3.10. izole edilen aşil tendonların biyomekanik testler için hazırlanması. A) 1,2,3. Tendonlar TI oluşturulmuş tendonlar; 4, 5. Tendonlar K grubuna ait tendonlar. B) Biyomekanik test sırasında tendonların sünmelerini engellemek için kullanılan alüminyum tozunun tendon uçlarına sürülmesi. C-D) Tendonların Germe-Test cihazına yerleştirilmesi.	40
Şekil 3.11. Germe Test Cihazı (İlfa Elektronik) ve tendonun klemlere tutturulması	40
Şekil 4.1. Grupların tavşan vücut kütle ortalamaları \pm SD değerleri	45
Şekil 4.2. Grupların aşil tendon kütle ortalamaları \pm SD değerleri	46
Şekil 4.3. Grupların kesit alan ortalamaları \pm SD değerleri	48
Şekil 4.4. Grupların aşil tendon genişlik ortalamaları \pm SD değerleri.	49
Şekil 4.5. Grupların aşil tendon kalınlık ortalamaları \pm SD değerleri	49
Şekil 4.6. Grupların maksimum kopma kuvvetleri ortalamaları \pm SD değerleri	53
Şekil 4.7. Grupların sertlik ortalamaları \pm SD değerleri	54
Şekil 4.8. Grupların depolanan enerji ortalamaları \pm SD değerleri	54
Şekil 4.9. Grupların esneklik katsayıları (young modülü) ortalamaları \pm SD değerleri	55
Şekil 4.10. Grupların dayanıklılık ortalamaları \pm SD değerleri	55
Şekil 4.11. Grupların maksimum çekme dayanımı (maksimum stres) ortalamaları \pm SD değerleri	56
Şekil 4.12. Grupların maksimum strain ortalamaları \pm SD değerleri	56
Şekil 4.13. Grupların maksimum deformasyon ortalamaları \pm SD değerleri	57
Şekil 4.14. A) K grubu, B) SH grubu, C) TI grubu, D) TI+ESWT grubu, E) TI+PMA grubu. Gruplara ait kollajen lif organizasyonu ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) işaretleme yoğunluğu (x600)	59

Şekil 4.15. A) K grubu, B) SH grubu, C) TI grubu, D) TI+ESWT grubu, E) TI+PMA grubu. Gruplara ait kollajen lif organizasyonu ve Endotelial Nitrik Oksit Sentetaz (eNOS) işaretleme yoğunluğu (x600)

60

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Yük seviyelerine karşı tendonda meydana gelen olaylar	7
Çizelge 2.2. Tendon iyileşmesi süresince etkili olan büyüme faktörleri	17
Çizelge 3.1. Helmholtz bobin çiftinin genel özellikleri	37
Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan tavşanların deney süresince vücut kütle ortalamaları \pm SD değerleri	44
Çizelge 4.2. Grupların aşil tendon kütle ortalamaları \pm SD değerleri ve anlamlılık düzeyleri	46
Çizelge 4.3. Grupların geometrik parametreleri \pm SD değerleri ve anlamlılık düzeyleri	48
Çizelge 4.4. Grupların Aşil Tendon biyomekanik parametrelerin ortalama değerleri (minimum; maksimum) ve anlamlılık düzeyleri	51
Çizelge 4.5. Gruplara ait Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) işaretleme yoğunluğu	58
Çizelge 4.6. Gruplara ait Endotelial Nitrik Oksit Sentetaz (eNOS) işaretleme yoğunluğu	58

EŞİTLİKLER DİZİNİ

Denklem 2.1. Tendon Kesit Alanı	8
Denklem 2.2. Elipsoid yaklaşıma göre tendon kesit alanı	8
Denklem 2.3. Stres parametresinin hesaplanması	11
Denklem 2.4. Strain parametresinin hesaplanması	12
Denklem 2.5. Şok dalgasının etki ettiği alanda oluşan enerji	21
Denklem 2.6. Şok dalgasına ait enerji akış yoğunluğu	22

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

A	Tendon Ağırlığı
A	Şok Dalgasının Oluştığı Bölgenin Alanı
AC	Alternatif akım
ACGIH	Amerika Hijyenistleri Derneği
A_T	Kesit Alanı
bFGF	Fibroblast Büyüme Faktörü b
c	Yayıma Hızı
Ca⁺²	Kalsiyum
CaM	Kalmodulin
CSA	Cross-Sectional Area
D	Tendon Genişliği
dk	Dakika
d_U	Maksimum Deformasyon,
E	Esneklik Katsayısı (Young Modülü),
E	Enerji
ED	Enerji Akış Yoğunluğu
ELF	Düşük Frekanslı Alan
EMA	Elektromanyetik Alan
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Sentezi,
ESWT	Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavisi
EU	Avrupa Birliği
FDA	United States Food And Drug Administration
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörleri
F_U	Maksimum Kopma Kuvveti,
G	Gauss
g	Gram
GDF-5-6-7	Büyüme Farklılaşma Faktörü-5-6-7
GPa	Gigapaskal
HAYDEK	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Hz	Hertz

ICNIRP	Non-İyonize Radyasyondan Korunma Komisyonu
I_{ext}	Dinlenim Halindeyken Tendonun External Uzunluğu
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1
iNOS	Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentetaz
K	Kontrol
kg	Kilogram
L	Klemler Arasında Kalan Tendonun Boyu
L₀	Tendonun İlk Boyu
m.	Muscle
MA	Manyetik Alan
mg	Miligram
mJ	Milijoule
mm	Milimetre
MPa	Megapaskal
MR	Manyetik Rezonans Görüntüleme
ms	Milisaniye
mT	Militesla
N	Newton
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentetaz
NO	Nitrik Oksit
ns	Nanosaniye
P-	Negatif Pik Noktası
P	Basınç
P+	Pozitif Pik Noktası
PCNA	Proliferatif Hücre Çekirdek Antijeni
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PGE2	Prostaglandin E2
PMA	Pulslu Manyetik Alan
s	Saniye
S	Sertlik
SH	Sham
T	Tendon Kalınlığı
T	Tesla

t	Zaman
TGF-β	Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta
TI	Tendon Hasarı
TI+ESWT	Tendon Hasarı+Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavi
TI+PMA	Tendon Hasarı+ Pulsu Manyetik Alan
Tr	Yükselme Zamanı
TSCs	Tendon Stem Cell
Tw	İmpuls Genişliği
u	Dayanıklılık
U	Kopuncaya Kadar Depolanan Enerji
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
W_T	Tendonun Yaş Ağırlığı
ϵ_U	Maksimum Strain
μs	Mikrosaniye
ρ	Yayıldığı Ortamın Yoğunluğu
ρ_T	Tendon Dokusunun Yoğunluğu
σ_U	Maksimum Çekme Dayanımı (Maksimum Stres)

ÖZET

Deneyisel Tendon Hasarı Oluşturulmuş Tavşanlarda Pulsu Manyetik Alanın (PMA) Etkilerinin Araştırılması ve Ekstrakorporeal Şok Dalga Terapi (Extracorporeal Shockwave Therapy; ESWT) Yöntemi İle Karşılaştırılması

Aşil tendonunda oluşan hasarın tamiri sonrasında fonksiyon kaybı, yapışıklık, yeniden kopma ve tendonda dejenerasyon gibi komplikasyonlar görülmektedir. Bu komplikasyonlar veya yaralanmalar sonucu tendonun normal yapısı bozulmakta biyomekanik özelliklerini kaybetmektedir. Bu nedenle tendonun orijinal sağlamlığına geri dönüşü gecikmektedir. Orijinal yapının yeniden oluşmasında klinikte ekstrakorporeal şok dalga terapisi (ESWT) yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. ESWT'nin tendonda hücre çoğalması ve çeşitli büyüme faktörleri üzerine etkili olduğunu gösteren çok sayıda araştırmalar mevcuttur. Ancak tendon biyomekaniği açısından ayrıntılı çalışmalar sınırlıdır. Ayrıca pulsu manyetik alanın (PMA); tendon iyileşmesinde etkili olduğunu gösteren biyomekanik ve immünohistokimyasal araştırmalar olduğu gibi iyileşmeye herhangi bir etkisinin olmadığını bildiren çalışmalarda mevcuttur.

Bu çalışmada, aşil tendon hasarı oluşturulmuş tavşanların tendonlarında PMA (4 hafta (28 gün), PMA; 15 Hz, 1mT, 260 µs, 1 saat/gün) ve ESWT'nin (3 Doz/28 gün; 1.Doz: 3 Bar, 15 Hz, 300 atım, 2.Doz: 5 Bar, 15 Hz, 500 atım, 3.Doz: 5 Bar, 15 Hz, 500 atım) iyileştirici etkileri immünohistokimyasal ve biyomekanik özellikler yönünden araştırıldı. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak PMA'nın klinikte kullanılabilirliği değerlendirildi. Bu amaçla, 50 adet dişi Yeni-Zealanda tavşanı; biyomekanik ve immünohistolojik olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Her grup; K (Kontrol), SH (Sham), TI (Tendon Hasarı), TI+ESWT (Tendon Hasarı+Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavi), TI+PMA (Tendon Hasarı+Pulsu Manyetik Alan) olmak üzere 5 alt gruba ayrıldı. Tendon dokusuna ait yapısal parametreler ölçüldü. Materyal parametreler yapısal parametrelerden hesaplandı. Ayrıca immünohistolojik açıdan iyileşme miktarı değerlendirildi.

Biyomekanik bulgular incelendiğinde; TI+PMA grubu ait maksimum kopma kuvveti (MKK), dayanıklılık ve maksimum stres ortalamaları TI grubuna göre önemli derecede arttığı gözlemlendi ($P<0,05$). TI+ESWT grubuna ait MKK ortalamaları TI grubuna göre önemli derecede arttığı saptandı ($P<0,05$). Ayrıca; TI+ESWT ile TI+PMA gruplarına ait yapısal ve materyal parametrelerin benzer olduğu gözlemlendi. TI+PMA grubuna ait İmmünohistokimyasal görüntüler TI grubu ile karşılaştırıldığında fibrözis dokunun azaldığı ve kollajen liflerinin homojenliğinin yeniden sağlandığı, kollajen organizasyonunun daha düzenli olduğu gözlemlendi.

Bu sonuçlara göre; ESWT ile PMA'nın iyileşmeye aynı düzeyde etkili olduğu, ESWT'nin erken iyileşme döneminde, PMA'nın ise uzun dönemde etkili

olduğu ve PMA uygulamasının klinikte ESWT kadar yaygın ve etkin bir biçimde, ağrısız alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Pulsu Manyetik Alan, Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavi, Aşil Tendonu, Tendon Biyomekaniği, Tendon İyileşmesi

ABSTRACT

To Research the Effects of Pulsed Magnetic Field (PMF) on Experimentally Tendon Injured Rabbits and to Compare with Extracorporeal Shockwave Therapy (ESWT) Method

After recovery of achilles tendon injury, complications like the loss of function, adhesion, recurrence of rupture, and degeneration in tendon can be seen. As a result of these complications and injuries the normal structure of tendon is deformed and biomechanical properties are lost. Therefore, returning to original stability of tendon is retarded. Extracorporeal shockwave therapy (ESWT) is a widely used clinical method to reproduce original structure. There are many studies showing ESWT effect on cell proliferation and various growth factors in tendon. However, detailed studies about tendon biomechanics are limited. Additionally, there are biomechanical and immunohistochemical researches that pulsative magnetic field (PMF) effect on tendon recovery studies, yet in some studies it was stated as PMF has no effect on recovery.

In this study, curative effects of PMF 4 week (28 days), PMF (15 Hz, 1mT, 260 μ s, 1hr/day) and ESWT (3 doses/28 days, first dose: 3 bar, 15 Hz, 300 beam, second dose: 5 bar, 15 Hz, 500 beam, third dose: 5 bar, 15 Hz, 500 beam) on rats with achilles tendon injury were investigated in terms of immunohistochemical and biomechanical properties. The clinical usability of PMF was evaluated as comparing results of both methods. For this purpose, 50 New-Zealand female rats were divided into two groups as to be used in either biomechanic or immunohistochemistry studies. Each group were further divided into five as C (Control), SH (Sham), TI (Tendon Injury), TI+ESWT (Tendon Injury+Extracorporeal Shockwave Therapy), TI+PMF (Tendon Injury+Pulsed Magnetic Field). Structural parameters of tendon tissue were measured. Material parameters were calculated from structural parameters. Additionally, recovery level was evaluated immunohistochemically.

As biomechanic results were analyzed, it was found that Ultimate Tensile Strength (UTS), toughness, maximum stress averages of TI+PMF group were significantly increased ($p < 0.05$). UTS averages of TI+ESWT group were significantly increased compared to TI group ($p < 0.05$). Additionally, it was observed as structural and material parameters of TI+ESWT and TI+PMF groups were similar. When immunohistochemical images of TI+PMF group were compared with TI group, it was seen as fibrous tissue amount was decreased and homogeneity of collagen fibers were recovered, and collagen organization was more uniform.

According to these results, it is concluded as ESWT and PMF are equally efficient on recovery, ESWT on early recovery period, yet PMF is effective in long term period and can be used widely and efficiently in clinic as a painless alternative treatment method.

Keywords: Pulsed Magnetic Field, Extracorporeal Shock Wave Therapy, Achilles Tendon, Tendon Biomechanics, Tendon Healing

1. GİRİŞ

Tendonlar hücre dışı matriks içine yerleşmiş paralel dizimli kollajen fibrillerden oluşur. Bu organize yapıların görevi üzerlerine uygulanan kuvvetlere karşı koyma ve bu kuvvetleri kastan kemiğe iletimini sağlamaktır (1). Tendonun yapısında bulunan temel hücresel eleman tenoblastlardır. Bu özelleşmiş fibroblastlar dokuda tip I kollajen sentezinden sorumludur (2, 3). Gastroknemius ve Soleus kaslarının tendinöz kısımlarının birleşmesiyle oluşan aşil (achilles) tendonu bacağın arka kompartmanında bulunan vücudun en güçlü ve en büyük tendonudur (4).

Çeşitli faktörlere bağlı oluşan tendon yaralanmalarında; tendon normal yapısını ve biyomekanik özelliklerini kaybettiği için orijinal yapı tamamen geri kazanılamaz. Hasarın tamiri sonrasında tendonda fonksiyon kaybı, yapışıklık, yeniden kopma ve dejenerasyon gibi komplikasyonlar görülebilir. Bu komplikasyonlar tendonun orijinal sağlamlığına geri dönüşü geciktirmektedir. Tendon hasarı sonrasında rehabilitasyon uzun bir süreçtir ve eski fonksiyonuna dönüş yaklaşık 8-12 hafta sürmektedir. İyileşme sürecinde komplikasyonların fazla, tedavi sürecinin uzun olması sosyoekonomik kayıplara neden olmaktadır (5).

Tendon hasarlarının tedavi stratejilerinde inflamasyonun azaltılması, adhezyonun en aza indirilmesi ve tendon yapısının ve fonksiyonlarının eski haline döndürülmesi amaçlanır. Klinik uygulamalarda uygulanan tedavi yöntemleri, yaralanmanın durumuna bağlı olarak çoğunlukla cerrahi girişim yönünde gerçekleşir (6). Klinikte karşılaşılan en önemli tendon yaralanması kısmi yırtık veya rüptürdür. Bu gibi durumlarda cerrahi girişim kaçınılmaz bir sonuçtur. Cerrahi uygulamalarda en çok tercih edilen yöntem Kessler dikiş yöntemidir (7, 8, 9, 10). Bunun yanında, klinikte kullanılan Kakiuchi (1995), Motta (1997), Aoki (1998), Silfverskiöld ve May (1994) tarafından tanımlanmış cerrahi dikiş yöntemleri de vardır (11). Ancak cerrahi uygulamalar sonucunda adhezyon ve skar doku oluşumu nedeniyle tedavi başarısız olabilmektedir. Bu nedenle aralarında ekstrakorporeal şok dalga tedavisi (Extracorporeal Shockwave Therapy; ESWT) (12) ve pulslu manyetik alanlarında (PMA) bulunduğu alternatif tedavi yöntemleri üzerinde durulmaktadır.

PMA'nın hasarlı tendon üzerindeki iyileştirici etkileriyle ilişkili çalışmaların çoğu hücre kültürü ve genetik ölçümlerle (kollajen gibi moleküllerin sekresyonları) sınırlı olup kısıtlı da olsa biyomekanik özellikler yönünden incelenmiş ancak detaylandırılmamıştır. ESWT'nin; tendonla ilişkili yaralanmaların tedavi süreçlerinde gösterdiği başarı çeşitli moleküler, histolojik ve biyomekanik özellikler yönünden incelenmiştir. Ancak, biyomekanik göstergeleri PMA'da olduğu gibi sınırlı ve yetersizdir. Bu çalışmanın birinci aşaması ile ESWT ve PMA'nın tendon kalitesi, esnekliği ve dayanıklılığı üzerindeki etkileri biyomekanik özellikler yönünden değerlendirilecek, çalışmanın ikinci aşamasında ise PMA ve ESWT uygulamalarından elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak, ESWT cihazına göre maliyeti çok daha düşük olan PMA'nın klinik açıdan yeterliliği; biyomekanik, histolojik ve immünohistokimyasal sonuçlarla değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

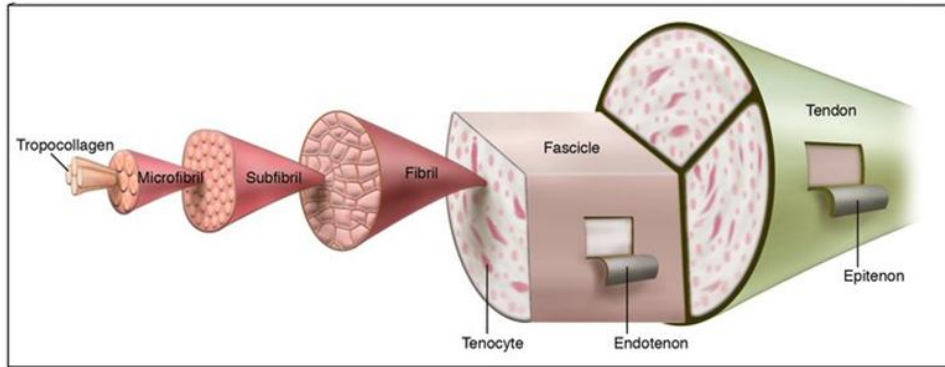
2.1. Aşil Tendon Mitolojisi

Aşil (Grekçe; Achilleus, Fransızca; Achille), eski Yunan şairlerinden Homeros'un Truva Savaşını anlatan İlyada adlı eserinde (Yaklaşık olarak M.Ö. 800) anlatılmaktadır. Ölümlü bir baba olan Pleus ile bir tanrıça olan Thetis'in oğlu olan yarı insan yarı tanrı bir karakterdir. Annesi Thetis oğlunu ölümsüzlük nehri olarak bilinen Styx'de yıkarken elini suya değdirmemesi öğütlediği için, onu sol topuğundan tutup suya batırmıştır. Yıkanırken Aşil'in topukları suya değmediği için yalnızca oradan vurulunca öleceğine inanılmaktadır. Birçok farklı efsane anlatılsada en çok anlatılana göre Aşil Truva savaşında Truvalı prens Paris tarafından sol topuğundan zehirli okla vurularak öldürülmüş ve bu yüzden ayak topuk tarafında bulunan tendona "Aşil Tendonu" adı verilmiştir (13, 14).

2.2. Tendonun Yapısı ve Histolojisi

Tendonlar kasta oluşan kuvveti kemiğe ileten sıkı fibröz yapılardır. Ayrıca eklemlerin hareketini sağlar ve eklem stabilitesini artırır. Tendonun yapısı hiyerarşik bir düzen gösterir: Fasiküller fibrillerden, fibriller mikrofibrillerden ve mikrofibriller tropokollajenlerden oluşur (Şekil 2.1) (1, 15, 16). Prolin ve lizin hidroksilasyonundan sonra peptid zincirleri yeteri uzunluğa ulaştığında sarmal prokollajenler oluşmaya başlar. Prokollajenler ekstrasellüler boşluğa çıktıktan sonra burada çeşitli enzimlerle işlenerek tropokollajenlere dönüştürülür. Tropokollajenler triple heliks oluşturarak tendon fibrillerini oluştururlar. Oluşan fibriller çapraz bağlanarak tendon fiberlerini meydana getirirler. Kollajen fibrilleri 100-500 nm çapında olup kıvrımlı ya da tendonun uzamasını %1-3 oranında kolaylaştıran sinüzoidal yapı olarak ışık mikroskobu altında görülen, tendon boyunca belirgin olan büyük liflerle sarılmıştır. Kollajen fibrilleri bir araya gelip kollajen fiberlerini oluşturarak endotenon ile sarılır. Kollajen fiberleri ve fibroblastlar demetler halinde bir araya gelip fasikülleri oluşturarak epitenon ile sarılır ve tendon paketlerini meydana getirir. Endotenon vasküler, lenfatik ve nöral iletim kökleri içerir (17, 18). Bazı tendonlar (eklem etrafındaki tendonlar) tendon kılıfı denilen bir yapı ile çevrelenir. Bu kılıf; tendonun kayganlaşması ve kayma sürtünmesini

azaltılması için sinovial hücreler ile kaplıdır (17, 19, 20). Aşıl tendonu ise; en yüzeyel kısmında paratenon ile çevrelenerek tendon dokusunun yapısı tamamlanmış olur. Paratenon gevşek bağ doku olmasından dolayı kan damarları endotenon ve epitenon içerisine girer ve burada damarlanmaya yol açar (3, 21, 22). Paratenon; yapısında sinovial hücreler bulunan iç ve dış olmak üzere iki tabakadan oluşmaktadır. İç tabaka tendon ile devamlılık gösterirken dış tabaka etraf yumuşak dokular ile devamlılık gösterir (23, 24). Paratenon genel olarak tendon kayması, kanlanması ve iyileşmesinde görev alır (17, 21).Tendonun yapısında bulunan temel hücresel elemanlar %90-95 oranında tenosit ve tenoblastlardır ve bu özelleşmiş fibroblastlar dokuda tip I kollajen sentezinden sorumludur (3, 19, 20, 25).



Şekil 2.1. Tendonun yapısı (26)

Tendonlar paralel dizilimli fiberler olarak bilinen kollajenöz yoğun bağlantı dokularıdır. Nadiren damarlanan bu dokular; fibröz dokulardan oluşmaktadır ve yaklaşık olarak toplam vücut proteinlerinin üçte birini oluşturmaktadır (27). Diğer bağlantı dokuları gibi tendonlar fibroblastlardan ve bol miktarda ekstrasellüler matriksten oluşmaktadır. Genel olarak hücresel materyal yaklaşık olarak %20'sini ve ekstrasellüler matriks ise %80'nini oluşturmaktadır. Ekstrasellüler matriksin %70'ini su ve %30'unu da katı maddeler (Kollajen, ground substance, az miktarda elastin) oluşturmaktadır. Tendon kuru ağırlığının %70'i kollajenden (%95 tip I Kollajen, %5 Elastin) oluşur (1, 15). Tip I kollajenden sonra yapıda en çok bulunan tip III kollajendir (28). Bu fiberler tendonun elastikiyet, direnç ve esneklik gibi biyomekanik özelliklerinden sorumludur. Bunların yanında az miktarda da olsa tendonda tip II, IV,

V, VI kollajen vardır (29). Tip III kollajen genelde epitenon ve endotenonda yer alır. Tendon iyileşme sürecinde kollajen lif çapı daha küçük olduğundan tendonun gerime karşı dayanıklılığı azdır. Tip III kollajen; iyileşmenin erken dönemi ve yeniden şekillenme sürecinde artarken, tip I kollajenin yapımının artması tip III kollajenin azalmasına neden olur ve ekstrasellüler matriksin fibril yapıları içinde yüksek derecede organize olur (22, 27, 28). Tip V kollajen ise diğer kollajen tipleriyle çapraz bağlantı kurar ve tendon fibril yapılarının özelliklerini düzenler (22, 29).

Kollajen: Kollajen molekülü fibroblastlar tarafından hücre içinde prekürsör (prokollajen) olarak sentezlenir. Daha sonra kollajene dönüşmesi için ekstrasellüler ortama salınır. Tendonda en çok bulunan tip I kollajen 3 polipeptid zincirden oluşur. Bu zincirler sarmal halde birleşerek triple-heliks yapısını oluşturur. Ramachandran çalışmalarına göre; Kollajen molekülünün üçte ikisi glisin (%33), proline (%15) ve hidroksiprolin (%15) amino asitlerinden oluşmaktadır (27).

Elastin: Tendonların mekanik özelliği sadece kollajen fiberlerin özelliklerine ve yapısına bağlı değildir aynı zamanda tendondaki elastin oranına bağlıdır. Nachemson ve Evans (1968) de bazı ligamentlerde %50 oranında elastin olduğunu bulmuşlardır. Bu ligamentler vertebralar arasında bağlantı görevi gören özelleşmiş yapılardır. Ve spinal sinir köklerinin hareketten dolayı oluşan ön yüke karşı (preload) koruma görevi üstlenmiştir (27).

Ground Substance: Tendonlardaki bu yapı proteoglikanların (PGs) yanında yapısal glikoproteinler, plazma proteinleri ve çeşitli küçük moleküllerden oluşur. Tendon yapısında jel benzeri bir materyal üreterek kayganlığa yardımcı olur. Buna ek olarak kollajen mikrofibrilleri arasında yapıştırıcı benzeri bir madde gibi davranarak; tendonların kollajenöz yapısının stabil kalmasına yardım edebilir ve bu yapıların kuvvete karşı dayanıklılığına katkıda bulunabilir. Bunun yanında tendonda çok az bulunmasından dolayı biyomekanik özelliği için öneminin ne kadar olduğu önemli sorulardan bir tanesidir (27).

Fibroblast: Fibroblastların sayısı yara iyileşmesi sırasında artar ve kollajen lifleri matrikste fibronektin ile birikmeye başlar. Büyüme sırasında veya hasarı takiben fibroblastlar jel benzeri ground substance maddesi ve tropokollajenin sentezlenmesini başlatır. İlk olarak çapraz bağlantıları eksik ve küçük fibriller içeren tip III kollajen hızlı bir şekilde sentezlenir. Daha sonra bu fibriller tip I kollajen ile yer değiştirir (27).

2.3. Aşil Tendon Anatomisi

Aşil tendonu vücudun en güçlü ve en büyük tendonudur. Bacağın arka yüzeyel bölgesinde bulunur. Gastroknemius (m. Gastrocnemius) ve soleus (m. Soleus) kaslarının tendinöz kısımlarının birleşmesiyle oluşur (4). Bu kaslar ve aşil tendonu ayak bileğine ana plantar fleksiyonunu oluşturur. Aşil Tendonu bacağın orta mesafelerinde proksimalde gastroknemius kasına yapışık bir şekilde başlar. Başlangıç yeri geniş ve yassıdır. Tendonun kalkaneus'ta (calcaneus) sonlandığı bölgenin birkaç cm proksimalinde gastrocnemius kası soleus kası ile kaynaşır. Bu bölgede bu her iki kastan gelen tendonlar birleşerek tek bir tendon haline gelir (13). Aşil tendonu distale ilerledikçe aksiyel planda yuvarlaklaşır ve kalkaneusa bağlanma bölgesinin birkaç cm proksimalinde düzleşir. Aşil tendon lifleri distale uzanırken 90°'lik bir spiral oluştururlar. Bu düzen ile; tendonda uzama-kısalma uygun halde oluşur ve tendon hareketi boyunca depolanan enerjinin salınmasına yardımcı olur (30).

Aşil tendonu paratenon tarafından çevrelenmektedir. Paratenon iki tabakadan meydana gelmektedir. Bu iki tabakanın yapısında sinovial hücreler bulunur. İç tabaka tendon ile devamlılık gösterir ve dış tabaka etraf yumuşak dokular ile devamlılık gösterir. Patatenon tendon kayması, kanlanması ve iyileşmesinde görev alır (21, 22).

2.4. Aşil Tendon Biyomekaniği

Aşil tendonu gastroknemius ve soleus kaslarından elde edilen gerilmeyi kalkaneusa ileten özelleşmiş yapıdır. Bu kasların tendonları; ayakta durma, postural kontrol, yürüme, koşma ve sıçrama aktivitelerinde aktiftirler. Tendonlar sadece kasılan kasların yarattığı gerimi kemiklere iletmekle kalmaz, aynı zamanda deforme olup daha sonra tekrar orijinal uzunluklarına dönebilirler. Tendon dinlenim halinde iken fasiküller dalgalar şeklinde seyreder. Gerildiği zaman (yüklenildiğinde) kollajen lifleri düz hale gelir. Tendon rotasyonu aşil tendon patolojilerinde önemli rol oynar. Dönmüş kollajen lifler tendon içinde yüksek stres oluşumuna neden olur (31). Kopmaların en sık olduğu bölge aşil tendon içinde yaklaşık olarak tendonun kalkaneusa yapışma yerinin birkaç cm proksimalindedir (32, 33).

Tendonlar kendine özgü mekanik özellikleri olan viskoelastik yapılardır. Eklem hareketi boyunca kas kasılmasından kaynaklanan yüksek gerim kuvvetlerine

karşı koyabilecek kadar güçlü bir yapıdır. Tendonların mekanik davranışını incelemek ve analiz etmek, oluşan hasarın mekanizmasını anlamamızı sağladığı gibi tendon hakkında önemli bilgiler de verir. Tendonlar normal ve aşırı yüklerde belirli gerim kuvvetlerine kadar çalışmayı sürdürür. Yük tendonda hasara yol açtığına, hasarın derecesi yük miktarı ve uygulama sıklığından etkilenir (27). Önceki çalışmalar uygun mekanik yüklerin tendonun matriks proteini ve kollajen sentezi gibi yapım süreçlerine katkı sağladığını göstermiştir. Ayrıca aşırı yüklenmenin matriks degradasyonu gibi yıkım süreçlerine yardım ederek tendona zarar verdiği bildirilmiştir. Tendonun immobilizasyonu veya kullanılmaması yıkım etkilerine neden olduğu bilinmektedir. Tendon hasarlarının iyileşmesi için adezyonun azaltılması ve hemostazın oluşması için uygun aralıklarla mekanik yükün uygulanması gereklidir (Çizelge 2.1) (34).

Çizelge 2.1. Yük seviyelerine karşı tendonda meydana gelen olaylar. (*34 James H., Wang C., yaptıkları çalışmadan uyarlanmıştır.)

Yük Seviyesi	Tendon Üzerindeki Etkisi
Düşük	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ Gerim kuvveti • ↓ Boyu • ↓ Kollajen yapımı • ↓ Yapım aktiviteleri • ↑ Yıkım aktiviteleri
Orta	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Gerim Kuvveti • ↑ Kollajen sentezi • ↓ Kollajen degradasyonu • ↓ Adezyon (Yapışıklık) • ↓ İnflamasyon araçları (PGE2) • ↑ Tenositlerde TSCs' nin farklılaşması (Tendon kök hücresi)
Yüksek	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ Gerim kuvveti • ↓ Kolljen organizasyonu • ↑ Miyofibroblastlar • ↑ İnflamasyon araçları • ↑ TSCs'nin farklı hücrelere farklılaşması (adiposit, osteosit, kondrosit) • ↑ Ödem

Tendonların mekanik özellikleri genellikle belirli bazı metodlarla belirlenir. Germe metodunda izole edilen tendonların gerime karşı uzama miktarı ölçülerek farklı bölgelerden (Toe, Linner, Failure) oluşan Yük-Deformasyon eğrisi elde edilir (Şekil 2.2.A). Eğrideki bölgeler örnekler arasında farklılık gösterir ve çoğunlukla örnekler arasındaki boyutsal farklılıklardan kaynaklanır. Bu nedenle stres (tendon kuvveti / kesit

alanı) ve strain (tendon uzaması / orijinal uzunluğu) değerine normalize edilerek Stres-Strain eğrisi elde edilir (Şekil 2.2.B).

Stres-Strain eğrisini elde edebilmek için tendonun CSA'nı (cross-sectional area; kesit alanı) gereklidir. CSA'nın hesaplanmasında farklı yöntemler kullanılmaktadır. Ultrasonografi, MR, tomografi gibi tıbbi görüntüleme cihazları ile yapılabildiği gibi formülizasyon yöntemleri ile de yapılabilmektedir (35, 36, 37, 38). Formülizasyon yönteminde dikdörtgensel yaklaşım aşıl tendon dışında diğer tendonlarda (fleksör tendon) yaygın olarak kullanılmaktadır (38, 39). Ker RF (1981), Cui L ve ark. (2009), Brown SHM ve ark. (2010) kadavra tendonlarında genellikle tendonun ağırlığını, enini, boyunu ve yoğunluğunu içeren formülü kullandıklarını belirtişlerdir (Denklem 2.1) (40, 41).

Denklem 2.1. Tendon Kesit Alanı

$$A_T = \frac{W_T}{l_{ext} \cdot \rho_T}$$

A_T : Kesit alanı (CSA) (mm^2)

W_T : Tendonun yaş ağırlığı (g)

l_{ext} : Dinlenim halindeyken tendonun external uzunluğu (mm)

ρ_T : Tendon dokusunun yoğunluğu ($\rho_T=1,12 \times 10^{-3} \text{ g/mm}^3$) (40,41)

Aşıl tendon gibi elips şeklindeki tendonlarda kesit alanı genişlik (D) ve kalınlık (T) parametrelerini içeren formülle hesaplanmaktadır (Denklem 2.2) (42, 43, 44).

Denklem 2.2. Elipsoid yaklaşıma göre tendon kesit alanı.

$$CSA = \left(\frac{D \times T}{4} \right) \cdot \pi$$

CSA: Kesit Alanı (mm^2)

D: Genişlik (mm)

T: Kalınlık (mm)

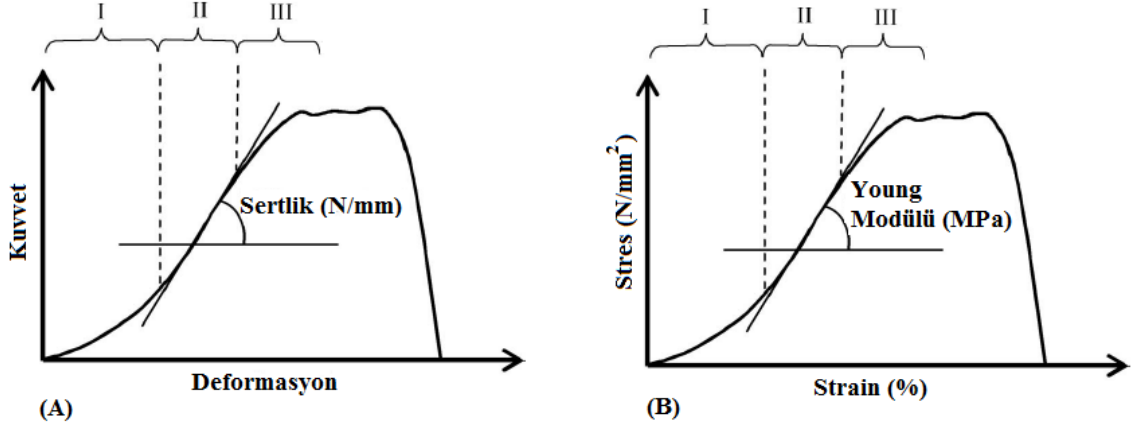
Yük-Deformasyon eğrisi tendonun yapısal özelliklerini, Stres-Strain eğrisi ise tendonun intrinsik materyal özelliklerini gösterir. Yük-deformasyon eğrisinden elde edilen parametreler; sertlik, maksimum kopma kuvveti, depolanan enerji ve maksimum deformasyondur. Stres-Strain eğrisinden elde edilen en yaygın parametreler ise ultimate stres (MPa), ultimate strain (%) ve young modülüdür (GPa). Yük-Deformasyon eğrisinde lineer bölgenin eğiminden sertlik (stifness) (Şekil 2.2.A), Stres-Strain eğrisinde lineer bölgenin eğiminden ise young modülü elde edilir (Şekil 2.2.B).

DL Butler ve ark. (1978), FR Partington ve ark. (1963), DH Elliott ve ark. (1965), MB Bennet ve ark. (1986), RE Shadwick ve ark. (1990) yaptıkları çalışmalarda Tendonların gerime karşı uzama miktarını gösteren Yük-Deformasyon eğrisinde çeşitli bölgeler belirlemiştir (Şekil.2.2) (24, 27, 33, 45).

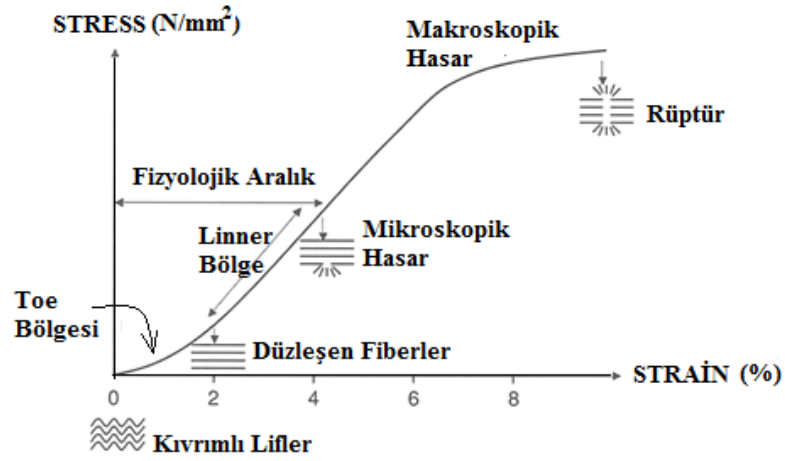
Tendonların etkili bir şekilde çalışabilmesi için yüksek gerim kuvvetlerine sınırlı uzama ile karşı koyabilmeleri gerekmektedir. Dinlenim halindeki tendonlar kollajen fibrillerin kıvrılmasına bağlı olarak dalgalı bir biçime sahiptir. Dalgalı durum tendon %2 seviyesinde gerildiği zaman kaybolur. Bazı kaynaklarda bu uzamanın interfibriller kaymalardan ve interfibriller jelin (ground substance) geriminden kaynaklandığı bildirilmektedir. Tendonun gerim kuvvetlerine karşı ilk tepkisi liflerin düz hale gelmesidir (Şekil 2.3). Bu durum temel olarak kollajenin elastik özelliklerine bağlıdır. Yük-Deformasyon ile Stres-Strain eğrilerinin başlangıcını oluşturur. I. Bölge Toe-Region (Uç Bölge) olarak adlandırılır.

Kademeli bir şekilde artan kuvvete karşı dokunun sertliği ve uzama artar. Uzama genellikle dokunun orijinal uzunluğunda oluşan deformasyonun yüzdesi olarak bilinen strain ile tanımlanır. Strain oranı arttığında (%1,5-4) lineer bölge oluşur. Bu doğrusallıktan dolayı bu bölge II. Linner Bölge (Linear Region) olarak adlandırılmıştır. II. bölgede dokuda uzamanın daha fazla olması nedeniyle eğrinin eğiminde ani bir artış gözlenir. Woo ve ark. (1994) büyük strainlerde eğrinin linner regionu takiben failure regionda aniden sonlanabildiğini ve dokuda geri dönüşümsüz değişiklikler olabileceğini bildirmişlerdir (27). Bu da Yük-Deformasyon eğrisinde Uç Bölge olarak adlandırılır. Tendondaki gerilme %4'ten fazla değilse lifler elastik özellik göstererek başlangıç durumlarına geri dönerler. Tendondaki %4-8 arasındaki gerilmelerde ise kollajen lifleri birbirleri üzerinden kayarak çapraz bağlantılar arasında kopmalar başlar. Kollajenin üçlü heliks molekülleri arasındaki bağlantıların kopmasına bağlı olarak kollajen lifleri deforme olur. Gerilme seviyesi %8'den fazla olduğunda ise lifler gerim kuvvetlerine

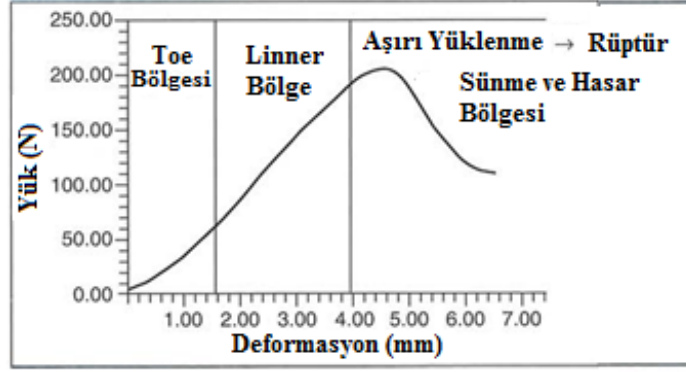
karşı koyamadığından makroskopik kopmalar görülür (21). Genellikle aşırı yüklenme yada rüptür görülen bu bölge kopma bölgesi (Failure Region) olarak adlandırılır (Şekil 2.3).



Şekil.2.2 Tendon germe testinden elde edilen tipik eğriler (A) Yük-Deformasyon (B) Stres-Strain I, 'Toe' Region; II, 'Linner' Region; III, 'Failure' Region (33).



Şekil 2.3. Uygulanan yüke karşı tendon liflerinin davranışı (16).



Şekil 2.4. Yük-Deformasyon eğrisinin bölgeleri (20)

2.4.1. Biyomekanik Parametreler

Maksimum kopma kuvveti (ultimate load veya ultimate force; F_U) tendonun kopma anında gözlenen kuvvet değeridir ve dokunun yapısal açıdan genel bütünlüğünü yansıtır.

Sertlik (stiffness; S) veya yapısal rijidite (structural stiffness): önemli bir ekstrinsik parametre olmakla birlikte, tendonun mineral fazı ile yakından ilişkilidir. Uygulanan kuvvete karşı tendonun gösterdiği direnci yansıtır.

Depolanan enerji (work to failure; U): Tendonun kopuncaya kadar depoladığı enerji olarak tanımlanır ve tendonun kopma eğilimi hakkında bilgi verir.

Maksimum deformasyon (ultimate displacement; d_U): tendonun kopma anına kadar dokuda oluşan deformasyon miktarıdır ve tendonun kopabilirliği ile ilişkilidir.

Dokunun organ boyutunda elde edilen en önemli veri maksimum kopma kuvveti ve sertliktir.

Maksimum Stres (ultimate stress; σ_U): Maksimum dayanım da denir. Maksimum dayanım tendonun geometrik özelliklerinden etkilenmezken, maksimum kopma kuvveti tendonun büyüklüğü ile ilişkilidir.

Denklem 2.3. Stres parametresinin hesaplanması

$$\text{Stres} = \frac{\text{Maksimum Kuvvet (Fu)}}{\text{Kesit Alanı (CSA)}} \left(\frac{N}{mm^2} \right)$$

Maksimum strain (ultimate strain; ϵ_U): Tendonun koptuğu anda gözlenen strain değeridir. Kopabilirlik ile ters ilişkilidir. Zayıf tendonlarda strain değeri küçüktür.

Denklem 2.4. Strain parametresinin hesaplanması

$$\text{Strain} = \frac{\text{Uzama Miktarı } (\Delta L)}{\text{Orjinal Uzunluk } (L_0)} \left(\frac{\text{mm}}{\text{mm}} \right)$$

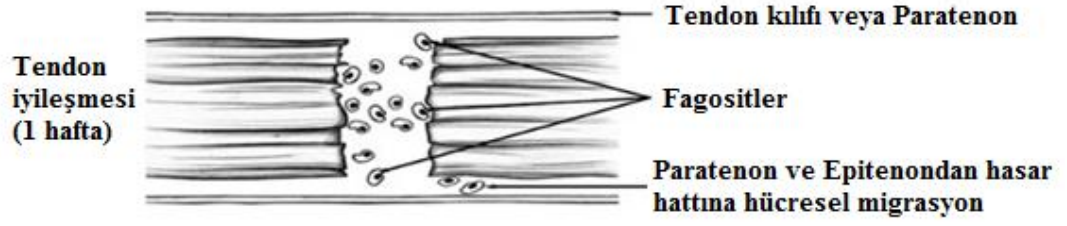
Dayanıklılık (toughness; u) veya strain enerjisi olarak tanımlanır ve tendonun kopması için gereken enerji miktarını ifade eder. Dayanıklılık tendon biyomekaniği açısından önemli bir parametredir. Dayanıklılığı yüksek bir tendon kopmaya karşı daha çok direnç gösterir ve deformasyon (esneme) yeteneği daha yüksektir.

Young modülü (elastik modulus; E): Esneklik katsayısı dokunun intrinsik sertliğini (intrinsic stiffness) ifade eder ve tendonun uygulanan gerilmeye karşı kalıcı bir hasar oluşmadan ne kadar deforme olabileceğini gösterir (45, 46, 47).

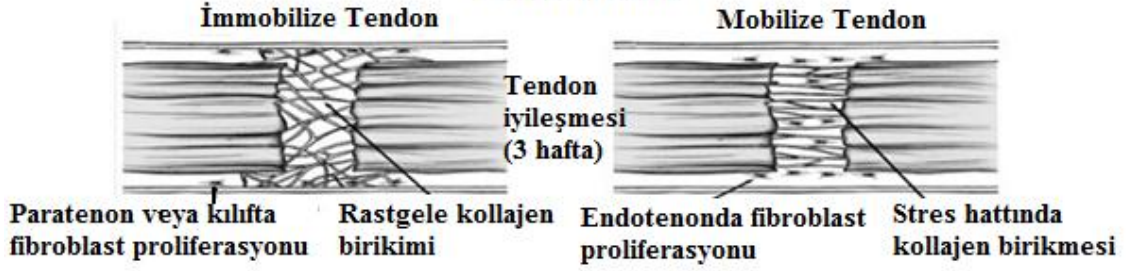
2.5.Tendon İyileşmesi

İnsan tendonunun yapısı ve kimyasal bileşenleri sıçan, köpek, tavşan ve maymun gibi hayvan tendonları ile benzerlik gösterdiği için tendon iyileşme süreçleri deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Tendon yapısı herhangi bir sebepten dolayı hasar gördüğünde iyileşme ve skar oluşum süreçleri başlamaktadır. Hasardan sonra tendon normal fonksiyonlarını yerine getirmesi için tendon fiberlerinin ve tendon ile çevre dokuları arasındaki kayma mekanizmasının yeniden şekillendirilmesi gereklidir (18, 48). Hasarlı bölgede skar doku formasyonunun devamlılığı, onarımın ilk aşamasında gereklidir. Ancak tendonda hasardan dolayı oluşan mekanik uyarı eksikliği; skar dokunun proliferasyonuna ve zararlı adezyonlara neden olarak tendonun normal fonksiyonlarını engellemektedir. Hasarlı bölgenin stabilitesi gerekli olmasına rağmen, hareketlilikte iyileşme sürecinde çok önemlidir. İyileşen tendonda mekanik yüklenme sonucunda oluşan hareket cerrahi sonrası oluşan adezyonun azalmasına ve tendon dayanıklılığın artmasına yardımcı olur (Şekil 2.5).

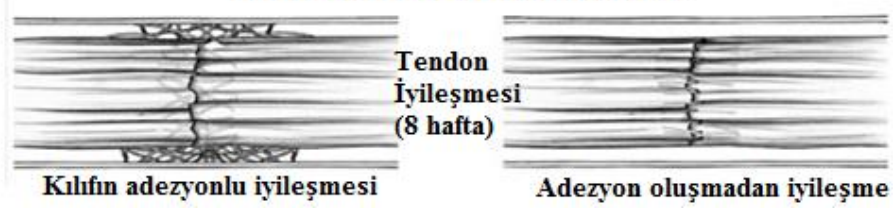
A. INFLAMASYON



B. ONARIM

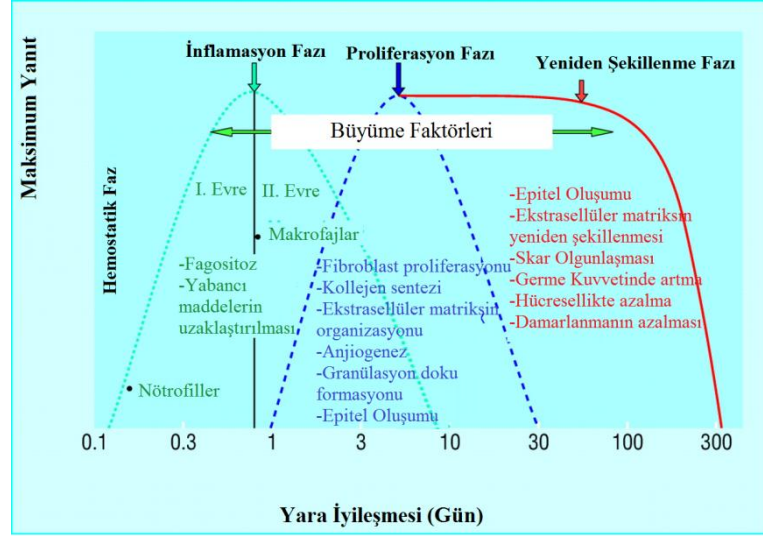


C. YENİDEN ŞEKİLLENME



Şekil 2.5. Tendon iyileşme süreçleri (49).

Tendon hasarından sonra vücutta oluşan ardışık belirgin olaylar veya fazlar hücresel ve biyokimyasal süreçleri başlatmaktadır. Tendon tamiri 3 aşamada (doku inflamasyonu, hücre proliferasyonu, ve yeniden düzenlenme) gerçekleşir (Şekil 2.6) (21,50-56).

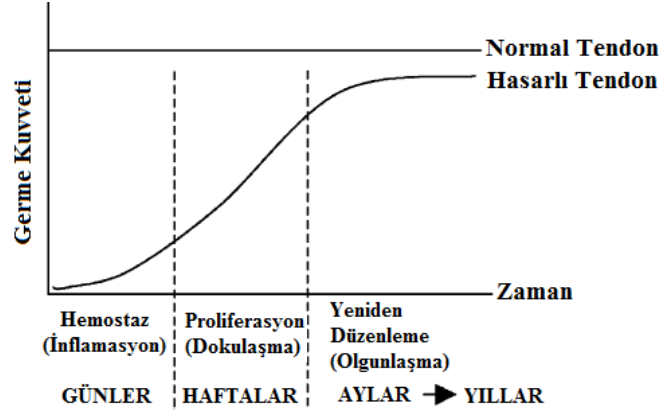


Şekil 2.6. Tendon iyileşme evrelerinde gelişen hüresel olaylar (57).

İnflamasyon Evresi: Tendon kılıfındaki kan damarlarının hasar görmesi hematoma formasyonuna neden olur. Oluşan pıhtı sonucunda çevre dokulardan çeşitli kemotaksik faktörler (vazodilatör, proinflatör moleküller), eritrositler, trombositler, nötrofiller, monositler ve makrofajlar inflamasyon hücrelerine doğru hareket ederler. Daha sonra fibroblastlar çeşitli ekstrasellüler matriks bileşiklerini sentezlemeye başlar. Bu evre boyunca anjiogenik faktörler salınır, vasküler ağ oluşmaya başlar ve hasar bölgesinin stabilitesi sağlanır (18, 58, 59).

Proliferasyon Evresi: Yara bölgesinde devam eden iyileşme ve fibroblastların hızlı proliferasyonu; kollajen, proteoglikanlar ve diğer ekstrasellüler matriks bileşenlerinin sentezinden sorumludur. Büyük bir miktarı tip III kollajenden oluşan bu bileşenler; ilk olarak ekstrasellüler matrikste dağınık biçimde düzenlenir. Proliferasyon evresinin sonunda tamir edilen doku; hüresel açıdan bol ve büyük miktarda su içerir (18, 59).

Yeniden Düzenleme Evresi: Hasardan 6-8 hafta sonra başlar. Bu evrede hüresellik, matriks, tip III kollajen sentezi azalırken, tip I kollajen sentezi artar. Tip I kollajen fiberleri; tendon ekseni boyunca uzunlamasına organize olmasından ve yeniden oluşan dokunun mekanik gücünden sorumludur. Bu evre boyunca kollajenin yapısal birimleri arasındaki etkileşim tendona daha yüksek oranda sertlik ve daha büyük gerim kuvveti kazandırır. Ancak tamir edilen doku asla normal tendonun karakteristik özelliklerine ulaşmaz (Şekil 2.7) (18, 20, 59).



Şekil 2.7. Germe kuvvetinin zamanla değişimi *(Uyarlama; Gomez, M., 1995. The physiology and biochemistry of soft tissue healing. In: Griffin, L., (Eds.), Rehabilitation of the Injured Knee, 2nd Edition. Mosby Company, St. Louis, MO, pp. 34-44; with permission.) (20).

Tendon iyileşmesi iki süreçte gerçekleşir;

- 1- İntrensik iyileşme: sinoviyal sıvı destekli olarak tendonun kendi kendine iyileşmesidir. Endotenon ve epitenon tenositlerinin proliferasyonu sayesinde gerçekleşir. Ayrıca bu kılıfların intratendinöz kan damarlarından sağlanan kanlanma ve adezyon formasyonu da görev alır.
- 2- Ekstrinsik İyileşme: Çevre doku ve sinoviyumdan hücre migrasyonu ve granülasyon (onarıcı doku) destekli iyileşmedir. Bu süreçte fibroblastlar ve inflamatuvar hücreleri periferden veya external dokulardan iyileşme bölgesine göç ederek tamir ve yenilenmeye yardımcı olur (18, 20, 58, 60).

İyileşme sürecinde bu iki durumdan biri genelde daha baskın olur. Ektrinsik iyileşme genelde yapışıklıkların oluşmasından sorumlu tutulur. Yapışıklık oluşması; travmanın şiddeti, cerrahi travma, tendonun vaskülarizasyon sisteminin bozulması, tendonda immobilizasyon ve tendon kılıfının hasarına bağlıdır (61). Hasar sonrası sinoviyal kılıfın devamlılığının sağlandığı ve tendona mobilizasyon uygulandığı durumlarda intrinsik iyileşme baskın gelir ve tendon yapışıklılığı en aza indirgenir (61). Ektrinsik mekanizmanın intrinsik mekanizmadan daha önce aktif olduğu bilinmektedir. İntrensik mekanizma kollajen fiberlerin yeniden düzenlenmesinden ve fibriller devamlılığın sürdürülmesinden, ekstrinsik mekanizma ise hasarlı bölgede adezyon formasyonunun başlaması, su oranının artması, kollajen matriks düzeninin bozulması ve hücrel olayların yüksek oranda gerçekleşmesinden sorumludur (18).

2.5.1. Tendon İyileşmesinde Moleküler Mekanizma

Tendon onarımında hücresel yanıtın düzenlenmesinde ve aktivasyonunda, çeşitli büyüme faktörleri rol almaktadır. Bu faktörler hücre yüzeyinde bulunan spesifik reseptörlere bağlanarak hücre içinde belirli sinyalleşme olaylarını aktive ederler. Bu sinyalleşme olayları spesifik düzenleyici genlerin transkripsiyonuna yol açan bir kaskad sistemi ile başlamaktadır. Tendon mobilizasyonu ile yaralanma hattında lokalize olan hücreler tarafından yeniden şekillenme evresinde büyüme faktörleri salınır (18). Tendon iyileşmesinde görev alan önemli büyüme faktörlerinin görevleri ve iyileşme süreçlerine etkileri Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Tendon iyileşme evrelerinde etkili olan büyüme faktörleri (18)

İyileşme Fazı	Aktivite ve Görevleri	Büyüme Faktörleri
İnflamasyon	Fibroblastlar ve inflamasyon hücrelerinin hasarlı bölgede iyileşmeyi uyarması	IGF-1
	Hücre göçünün düzenlenmesi	TGF- β
	Diğer büyüme faktörlerinin (IGF-1) ekspresyonu, kollajen, hyalüran ve fibronektin sentezini uyarır, kollajenaz aktivitesini arttırır	PDGF
	Anjiogenez (Kan Damarlarının Oluşumu)	VEGF bFGF
Proliferasyon	Hücre Proliferasyonu (DNA Sentezi), hücreSEL büyüme, çoğalma ve hücreSEL farklılaşmada uyarıcı	IGF-1 PDGF TGF- β bFGF, GDF-5 GDF-6 GDF-7
	Ekstrasellüler matriks bileşenlerinin ve kollajen sentezinin uyarılması, anjiogenezi, Uyarma, proliferasyonu ve motiliteyi arttırarak neovaskülarizasyonu hızlandırır	IGF-1 PDGF bFGF
	Hücre-Matriks etkileşiminin uyarılması	TGF- β bFGF
	Tip-III Kollajen sentezi	TGF- β GDF-5 GDF-6 GDF-7
Yeniden Düzenleme	Ekstrasellüler matriksin düzenlenmesi	IGF-1
	Hücre proliferasyonunun son bulması	TGF- β
	Tip-I Kollajen sentezi	TGF- β GDF-5 GDF-6 GDF-7

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 (İnsülin-Like Growth Factor-1; IGF-1), Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta (Transforming Growth Factor β ; TGF- β), Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (Platelet-derived growth factor; PDGF), Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF), Fibroblast Büyüme Faktörleri (Fibroblast Growth Factors; FGF), Büyüme Farklılaşma Faktörü-5-6-7 (Growth Differentiation Factor; GDF-5-6-7), Fibroblast Büyüme Faktörü (Fibroblast Growth Factor; bFGF)

2.6. Aşil Tendon İyileşmesinde Kullanılan Tedavi Yöntemleri

Tendon yırtıklarının tedavisi üzerinde literatürde henüz görüş birliğine varılamamıştır. Riaz J.K. Khan ve ark. (2005) tedavi sonrası tendonun hareket sınırları, güç ve fonksiyonel seviye yönünden incelenmesinde konservatif ve cerrahi tedavilerin aynı sonucu verdiğini belirtmişlerdir (62). Aşil tendonu, diğer tendonlara göre daha yüksek streslerle ve ani gerim kuvvetleriyle karşılaşmasından dolayı insan vücudunda en sık travmaya uğrayan ve en sık yırtılan tendondur (63).

Yaralanma veya cerrahi sonrasında tendonlarda iyileşmeyi, fonksiyonu hızlandırmak ve yapışıklık oluşumunu azaltmak için uygulanan çeşitli ajanların etkisi araştırılmaktadır. Bu ajanlar ilaçlar ve mekanik bariyerler olmak üzere iki kategoride sınıflanmaktadır. Peritendinöz yapışıklıkların azaltılmasına yönelik çeşitli ilaç (steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçlar [(NSAİD) (indometazin, ibuprofen, COX-2 selective (rofecoxib)], hyaluronik asit, 5-flurourasil, insan amniyotik sıvısı, kortikosteroid (kortizon), triamcinolone, vitamin-A, vitamin-E, β -karoten, TGF- β inhibitörleri) çalışmaları vardır (64-74). İlaç çalışmalarının dışında deneysel hayvanlarda farklı frekans ve güç yoğunluğunda uygulanan Ultrason (75-78), Pulsu Elektromanyetik Alan (PMA) (79-82) ve Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavisi (ESWT) (83-87) gibi yöntemler de bulunmaktadır.

2.6.1. Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavisi (ESWT) Yönteminin Tendon Hastalıklarında ve Yaralanmalarında Kullanılması

ESWT, ingilizce adıyla “Extracorporeal Shock Wave Therapy”, türkçe tercümesiyle “Vücut dışından Uygulanan Şok Dalga Tedavisi” veya kısaca “Şok Tedavi”; spark gap teknolojisi ile vücut dışında oluşturulan şok dalgalarının elipsoid şeklindeki bir çelik çanak vasıtasıyla vücudun istenilen bir bölgesinde odaklanmasına dayanan yeni bir “non-invaziv” tedavi şeklidir.

Şok Dalga Tedavisinde Ultrasonik, elektromanyetik ve piezoelektrik enerji prensibine dayanan düşük enerjili şok dalgaları ile elektro-hidrolik enerji prensibine dayanan yüksek basınç ve yüksek enerjili çok kısa bir süre içerisinde (1 μ s) uygulama imkanı veren yüksek enerjili cihazlar kullanılmaktadır (88, 89). Klinik uygulamalarda yüksek enerjili cihazların yüksek miktarda enerji uygulama olanağı vermeleri, daha az sayıda tedavi seansı ile daha yüksek başarı oranı sağlamaları açısından avantajlıdır.

Ayrıca Sems A ve ark. dalgaların dokuya iletiminin daha iyi olmasını uygulama bölgesine sürülen su veya jelin sağladığını bildirmişlerdir (90).

ESWT klinikte uzun süre kaynamayan kırıklarda (91-95), kalsifiye omuz tendonitlerinde (96-99), dirsek lateral epikondilitlerde (100-103), plantar fasit (ayak tabanında plantar fasiadaki ince doku inflamasyonu (104) (105-108) ve aşil tendonitlerinde (109-115) tedavi etkisi göstermektedir.

Wang CJ ve ark. ESWT'nin kaynamayan kırıkların tedavisinde %80 (95), Chen HS, Ko JY, Wang CJ ve ark. ise klinik tendon bozukluklarında %90 başarı sağladığını bildirmişlerdir (116).

1980'lerin ortalarında hayvanlarda yapılan çeşitli ortopedik hastalıklarla ilgili çalışmalarda; tesadüfen osteoblastik yanıtın gözlemlenmesi, ESWT'nin potansiyel bir uygulama olarak ilgi odağı olmasına yol açmıştır. Daha sonraki 10-15 yılda ise ESWT'nin bazı ortopedik hastalıkların (uzun süre kaynamayan kırıklar, kalsifiye omuz tendonit, dirsek lateral epikondilit, plantar fasit, aşil tendonit (91-115) tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. İlk kez 1988 yılında Almanya'da kemik kırıkları şok dalga tedavisi yöntemi ile başarıyla tedavi edilmiştir (88). Valchanow ve Michailow kemik kırıklarının iyileşmesinde ESWT'nin %85 oranında başarılı olduğunu göstermişlerdir (117). Wang ve ark. 2001 ve 2002 yıllarında omuz kalsifik tendinit tedavisinde başarı oranının %47-70 oranında olduğunu rapor etmişlerdir (88). Daha sonra epikondilit ve topuk dikeninin de başarıyla tedavi edildiğine dair çalışmalar yayınlanmıştır. Şok dalga tedavisinin yumuşak dokular üzerindeki önemi zamanla daha da artmıştır (89). 2001'den bu yana fasyopati, epikondilit ve omuzun kalsifik tendiniti tedavisinde ESWT'nin ne derece etkili olduğuna dair çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Rompe ve ark. (118) ESWT'nin doza bağımlı etkisini tavşan aşil tendonları üzerinde araştırmışlar ve Orhan ve ark. (87) sıçan aşil tendonları üzerinde yapılan çalışmalarını ile tendon iyileşmesi ve yapışıklık oluşumunu değerlendirmişlerdir.

2.6.1.1.Şok Dalgasının Fiziksel Özellikleri:

Şok dalgası fiziksel terim olarak; akustik enerjinin pozitif fazdan negatif faza hızlı, kısa ve bağımsız tek dalga şeklinde dalgalanmasıdır (119). Şok dalgaları; enerjinin yüksek-voltaj kondansatörü (yoğunlaştırıcı) tarafından kıvılcım şeklinde ateşlenmesiyle oluşturulur ve eliptik yansıtıcı kullanılarak hasarlı bölgeye odaklanır. Geçici bir basınç

değerinde olan bu dalgalar, aniden ortam basınç değerinden maksimum basınca ulaşan ve uzayda üç boyutlu yayılan yüksek genlikli belirli karakteristik özelliğe sahip ses dalgalarıdır. Dalga ilk olarak 10 ns'den (nanosaniye) daha kısa bir zamanda yaklaşık 100 MPa'lık (500 Bar) yüksek basınç değerine ulaşır. Bunun takibinde negatif yönde yaklaşık 10 MPa düşük basınç genliğine, 10 µs gibi kısa bir süreye ve 16-20 MHz frekans aralığına sahiptir.

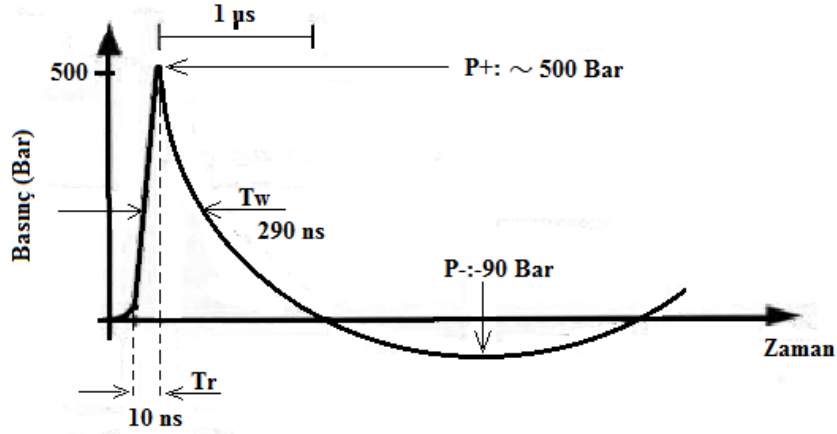
Basınç dalgası, hızlı bir şekilde minimum değerinden en yüksek pozitif basınç (P+) olarak da adlandırılan en yüksek değerine yükselir ve sonra mikrosaniyeler içinde gitgide hızlanarak sıfır ve negatif (P-) basınç değerlerine düşer (Şekil 2.8) (12).

Pozitif Pik Basıncı (P+): Şok dalgasının pozitif yöndeki dalganın maksimum ve kararsız basınç noktasını gösterir. Değeri 5-120 MPa arasında değişiyor.

Negatif Pik Basıncı (P-): Şok dalgasının ikinci fazı olan negatif yöndeki dalganın maksimum basınç noktasını gösterir. P- değeri P+ değerinin %10-20'si kadar değere ulaşır.

Yükselme Zamanı (Tr): Şok dalgasının maksimum basınç değerinin %10-90'ı kadar artmasında oluşan aralık. Tr, birkaç (ns) nanosaniyeden (ms) milisaniyeler değerlerine kadar çeşitlilik gösterir.

İmpuls Genişliği (Tw): Basınç genliğinin %50'sini aştığı zaman aralığını gösterir (şok dalgasının ilk fazının exponansiyel olarak azaldığı kısma denk gelmektedir). Tw süresi, 200-500 ns aralığında değişmektedir (12, 116).



Şekil 2.8.Elektrohidrolik sistemde oluşturulmuş tipik şok dalgası. T_w : İmpuls Genişliği
 T_r : Yükselme Zamanı (116)

Çoğu fiziksel etkiler, enerji içeriğine bağlıdır. Bu nedenle klinik uygulamalar için şok dalga enerjisi önemli bir parametre olduğu düşünülmektedir. Şok dalga alanındaki enerji; basınç alanında her biri belirli lokalizasyonda bulunan, basınç/zaman fonksiyonu üzerindeki zaman integrali alınarak hesaplanır. Örneğin odaklanan alanda enerji;

Denklem 2.5. Şok dalgasının etki ettiği alanda oluşan enerji (12)

$$E = \frac{1}{\rho \cdot c} \int (\int (P^2(t, A)) dt) dA$$

E: Enerji (mj)

A: Şok dalgasının oluştuğu bölgenin alanı

ρ : Yayıldığı ortamın yoğunluğu

c: Yayılma hızı

P: Basınç

t: Zaman

Her bir bölgedeki yoğunlaştırılmış şok dalga enerjisi için önemli bir başka parametre ‘‘Enerji Akış Yoğunluğu’’dur. Her bir karedeki enerjinin ölçüsüdür ya da her

şok dalgasında 1 mm² alana iletilen maksimum akustik enerji miktarıdır ve enerji birimi milijoule/milimetre² (mJ/mm²)'dir (12, 88, 120). Aşağıdaki deklemlerle hesaplanabilir;

Denklem 2.6. Şok dalgasına ait enerji akış yoğunluğu (12)

$$ED = \frac{dE}{dA} = \frac{1}{\rho \cdot c} \int (\int P^2(t) dt)$$

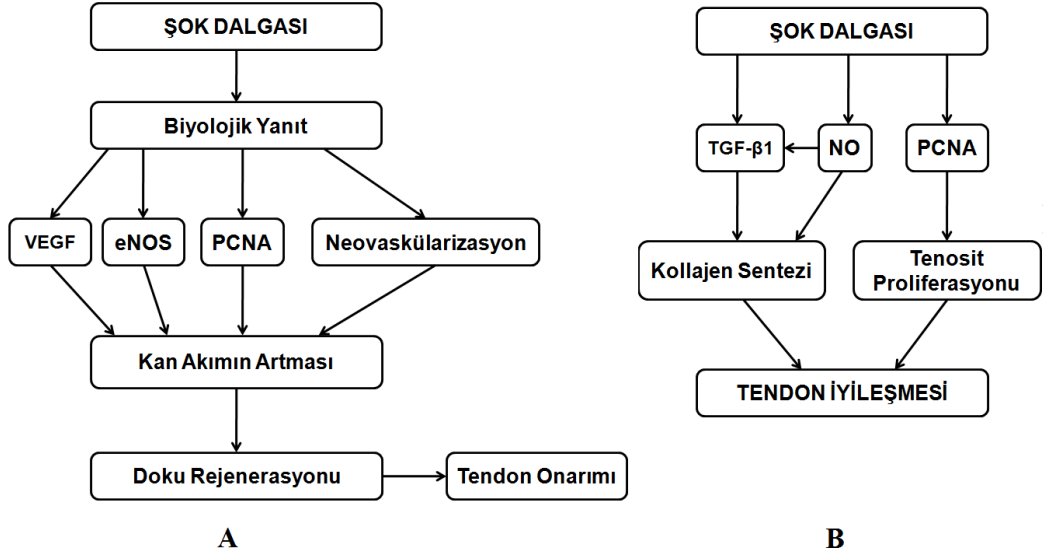
ED: enerji akış yoğunluğu (mj/mm²)

ESWT'de yaygın olarak düşük, orta ve yüksek enerjili olmak üzere enerji akış yoğunluğu mJ/mm² ile ifade edilen akustik dalga enerjileri kullanılır. Literatürde enerji akış yoğunlukları ile ilişkili net bir fikir birliği bulunmamaktadır (121). Rompe ve ark. enerji yoğunluğu 0,08 mJ/mm²'a kadar olan enerjiyi 'düşük enerji', 0,08-0,28 mJ/mm² aralığını 'orta enerji' ve 0,28-0,60 mJ/mm² aralığını ise 'yüksek enerji' olarak değerlendirmişlerdir. Ayrıca 0,10-0,12 mJ/mm² enerji aralığının tolere edilebilir değerler olduğunu, 0,12 mJ/mm² den büyük enerjilerinde lokal veya genel anestezi altında uygulanması gerektiğini bildirmişlerdir (121). Mainz, enerji yoğunluğu 0,08-0,27 mJ/mm² aralığını 'düşük enerji', 0,28-0,59 mJ/mm² aralığını 'orta enerji' ve 0,60 mJ/mm² ve üzerini ise 'yüksek enerji' olarak tanımlamıştır. Kassel enerji yoğunluğu 0,12 mJ/mm² altını 'düşük enerji', 0,12 mJ/mm² üzerini ise 'yüksek enerji' olarak tanımlamıştır (122). Ek olarak uygulamalarda kullanılan 4 Bar basıncın enerji akış yoğunluğu cinsinden yaklaşık 0,18 mJ/mm² karşılık geldiği bildirilmektedir (122, 123). İlk geliştirilen şok dalga sistemlerinde enerji düzeyleri genellikle voltaj (kV; kilovolt) değerleri olarak gösterildiği, 14 kV'un 0,18 mJ/mm² enerji akış yoğunluğuna karşılık geldiği bildirilmektedir (120).

2.6.1.2. Şok Dalgasının Etki Mekanizması

Şok dalgalarının iki temel etkisi vardır. Primer etkisi; mekanik kuvvetin direkt oluşumu ile tedavi edilecek noktada yararlı pulsun enerji konsantrasyonunun maksimum olduğu durum, ikincil etkisi; kavitasyon ile mekanik kuvvetin indirek olarak iletilmesi durumudur ve negatif etkilere veya dokuda hasara neden olabilmektedir (88).

Şok dalgalarının biyolojik dokular üzerindeki etki süreçleri tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda araştırmacılar şok dalga uygulamalarının tendon ve ligamentlerde fizyolojik ve patolojik yanıtlara neden olabileceğini belirtmişlerdir. Hücrel yanıtla neden olabileceği de tartışılmaktadır. Fakat mekanik-dönüşüm yollarının etkisinin karmaşık olduğu kesin olarak bilinmektedir (121). Kliniklerde litotripsi (böbrek taşı parçalama) uygulamalarında kullanılan şok dalgaları biyolojik dokuların parçalanmasına neden olmadığı, mikroskopik olarak dokularda hücre içi hasara ve extrasellüler yanıtla neden olabileceği bilinmektedir. Şok dalga tedavisinin muskuloskeletal (iskelet-kas) problemlerin terapötik mekanizmaları ve çeşitli dokulardaki (kemik, kırık, tendon, ligament) spesifik biyolojik etkileri tam olarak anlaşılamamıştır (88). Direk iletilen kuvvet ve kaviteasyon denilen indirek iletilen kuvvet; trabeküler mikrokırıklara veya hücre içi aralık oluşmasına, hematoma formasyonu ve lokal hücre ölümlerine neden olmaktadır. Şok dalga tedavisinin kabul edilen diğer etkileri; tendinopatiden dolayı oluşan ağrıyı yüksek uyarı seviyesinde analjezi etkisine yol açarak dindirmeye yardımcı olmaktadır. Son zamanlarda yapılan hayvan deneylerinin sonuçları şok dalga tedavisinin tendon-kemik kavşağında neovaskülarizasyona neden olduğunu göstermektedir. Neovaskülarizasyon; anjiogenez- aracılı büyüme ve proliferasyon faktörleri olan, eNOS (Endotelial Nitrik Oksit Sentezi), VEGF (Damar Endotelial Büyüme Faktörü) ve PCNA (Proliferatif Hücre Çekirdek Antijeni) kan damarlarının gelişmesine ve doku yenilenmesine yardımcı olmaktadır (Şekil 2.9) Ayrıca fibroblastlar tarafından salınan NO (Nitrik Oksit) seviyesi şok dalgasının uygulama süresi ile farklılık göstermektedir. Şok dalga uyarısı gen ekspresyonlarını düzenleyen fibroblastların mekanik ortamının önemli bileşenlerinde önemli rol almaktadır. Böylece tendon fibroblastları tarafından üretilen NO karşılıklı olarak fibroblastların fonksiyonlarına bir yanıt olarak düzenleyebilmektedir. Literatürde NO'nin kollajen sentezini nasıl etkilediği konusunda net bir bilgi bulunmamaktadır. Yapılan araştırmalarda büyüme faktörü olan TGF- β 1 ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Chang ve ark. yaptığı bir çalışmada yara iyileşmesi süresince kollajen üretilmesi ve depolanmasının uyarılmasında TGF- β 1'in sıklıkla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca; Vodovotz ve ark. NO'nin TGF- β 1 aktivasyonuna neden olabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar NO'nin kollajen üretimini ve sekresyonunu arttırabildiği ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin ekspresyonlarını uyarabildiğini göstermiştir (121).



Şekil 2.9. Şok dalga tedavisinin etki mekanizması (88, 121).

2.6.1.3. Şok Dalgası Tedavi Prensipleri

Tedavi seansı: Tendon hastalıkları ve tendon insersiyö bozukluklarında 1-2 haftalık aralıklarla, 3-5 seans şok dalga tedavisi yapmak genellikle yeterlidir.

Doz: Şok dalga tedavisi süresince, her hasta ağrının şiddetini farklı hisseder. Bu yüzden, herbir hasta ve endikasyon için doğru dozu bulmak önemlidir. Tedaviye maksimum ağrı noktasında başlanması önerilir. Duyarlı hastalara düşük frekansla başlamak gereklidir. Genelde, tedavi düşük enerji düzeylerinden (yaklaşık 1,8-2 bar basınç) başlar ve hasta bu enerji düzeylerini tolere edebiliyorsa aşamalı olarak artırılır. Tendon hastalıkları ve tendon insersiyö bozukluklarında uygulanan tedavi basıncı genellikle 2-3,5 Bar arasındadır. Ağrılı noktaların tedavisinde ise genellikle 12-15 Hz frekans ile 1200-2400 atım sayısı aralığı kullanılır (90).

2.6.2. Pulsu Manyetik Alanın (PMA) Tendon İyileşmesinde Kullanılması

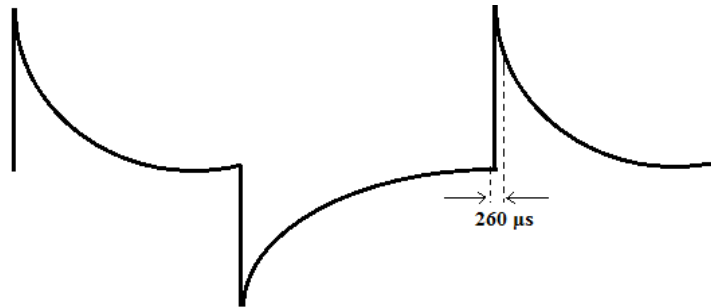
2.6.2.1. Manyetik Alan

Uzayda iki nokta arasında bir potansiyel fark oluştuğunda serbest yükler elektriksel kuvvetlerin etkisiyle hareket ederler. Serbest yüklerin bu hareketine “elektrik akımı” adı verilir. Bir iletken üzerinden elektrik akımı geçirildiğinde, iletkenin çevresinde elektrik alan ve manyetik alan (MA) oluşur. Bu alanların bileşimi elektromanyetik alan (EMA) olarak adlandırılır. Güneş, yıldızlar, yıldırım doğal MA

kaynaklarıken elektrikli ev aletleri, kablolar ve telekomünikasyon cihazları vb. insan yapımı MA kaynaklarıdır.

MA'nın şiddet, frekans ve dalga formu olmak üzere üç temel bileşeni bulunur. MA şiddeti Gauss (G) ya da Tesla (T) birimleriyle ölçülür ($1 \text{ T} = 10^4 \text{ G}$) ve eğer zamanla değişim gösteriyorsa AC, göstermiyorsa sabit (statik) MA olarak adlandırılır. Çevresel MA, $0-10^{20}$ Hz frekans aralığındaki AC MA'dan oluşur. Bu frekans aralığı elektromanyetik spektrum olarak da bilinir. Elektromanyetik spektrumun $0-300$ Hz aralığı oldukça düşük frekanslı (ELF) alanlar olarak tanımlanır. Bunun yanında, spektrumda 10^6-10^{10} Hz aralığında radyo dalgaları, $10^{10}-10^{12}$ Hz aralığında mikrodalgalar, $10^{12}-10^{15}$ Hz aralığında kızılötesi, 10^{15} Hz frekansta görünür ışık, $10^{15}-10^{16}$ Hz aralığında ultraviyole ışınları, 10^{16} Hz ve üstündeki frekanslarda ise X-ışınları ve gamma ışınları bulunur (46, 47, 123).

MA'nın en az şiddet ve frekans bileşenleri kadar önemli bir unsurda dalga şeklidir. MA dalga formu, kare ve üçgen gibi temel dalga şekilleri olabildiği gibi puls katarları (belirli aralıklarla kesilen MA yayılımı) şeklinde de olabilir. ELF alanlar noniyonize ve dokuda anlamlı ısı artışına neden olmayan radyo dalgalarıdır. ELF PMA'nın terapötik etkileriyle ilgili çalışmalarda asimetrik, bifazik, kuasi-rektangular veya kuasi-triangular dalga formları tercih edilir. FDA (United states food and drug administration) kırıkla ilgili hastalıkların tedavisinde etkin ve güvenli dalga şekli olarak kuasi-rektangular ve kuasi-triangular dalga formlarını (Şekil 2.10) önermektedir (46, 123, 124).



Şekil 2.10. Pulsu manyetik alan (PMA) sistemi tarafından üretilen kuasi-triangular MA.

2.6.2.2. Pulslu Manyetik Alanın (PMA) Biyolojik Etkileri

EMA etkisinin yumuşak doku üzerine etkisi hala çok az bilinmektedir ve yeterince anlaşılamamıştır. Tendon ve yumuşak doku iyileşmesinde EMA etkilerini değerlendiren sonuçları birbirinden farklı deneysel çalışmalar vardır. Bu çalışmalarda tendon iyileşmesine önemli etkisi olan inflamasyon ve kollajen yapımı incelenmiştir. Birçok çalışmada düşük frekanslı ve pulslu manyetik alan'ın kollajen yapımını arttırdığı saptanmıştır. Pulslu manyetik alanın klinikte kırıkların, spinal füzyon (kaynaşma) ve kronik yaraların tedavisinde (125, 126, 127) kullanılmasına rağmen, PMA'nın tendon ve ligament tamirinde kullanıldığı bazı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edildiği rapor edilmiştir (79, 128, 129, 130). Robotti E. ve ark. ve Lee ve ark.'nın yapmış oldukları bir çalışmada elektromanyetik alanın; kollajen ve/veya kollajen yapımında görevli hücreleri etkileyebildiğini deri, tendon ve ligament gibi yumuşak dokularda deneysel olarak olumlu yanıtlara neden olduğunu bildirmişlerdir (129).

Greenough CG., Frank ve ark. ve Lin ve ark.'nın puslu elektromanyetik alanların birçok yumuşak dokunun iyileşmesini etkilediğini bildiren çalışmalarını rapor etmiştir. Ayrıca, tavşan diz ligamentlerin deneysel tedavisinde kollajen içeriğini, kuvvetini ve olgunlaşmasını arttırdığını bildirmişlerdir (128). Ratlarda yapılan çalışmalarda Siskin ve ark., Wilson ve Jagadeesh pulslu elektromanyetik alanın aksonal rejenerasyon oranını arttırdığını, Raji ve Bowden ise kol fksiyonlarında iyileşmenin arttığını ve tedavi edilen deney hayvanlarında tamir edilen sinir bölgesinde toplam kan damarlarının kesit alanlarında önemli bir artış olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmalarda; tedavi edilen deney hayvanlarında iyileşme bölgesi ile çevre dokuları arasında oluşan adezyon miktarının önemli derecede daha az olduğunu göstermişlerdir. Diğer çalışmalarda araştırmacılar pulslu elektromanyetik alanın vasküler dokular üzerindeki etkilerini rapor etmişlerdir. Ottani ve ark. ratlarda PMA'nın damar formasyonunu arttırarak cerrahi deri yaralarının iyileşme oranını arttırdığını göstermişlerdir. Bu sonuçlar; Ieran ve ark. ve Stiller ve ark.'nın yapmış oldukları venöz ülserin iyileşmesinde etkili olduğunu gösteren klinik deneylerle desteklenmiştir (128).

2.6.2.3. Pulslu Manyetik Alanın (PMA) Etki Mekanizması

Klinik olarak tendon komplikasyonlarında kullanılan ESWT gibi PMA'nında hücresel bazda ve çeşitli büyüme faktörlerine etki ederek tendon iyileşmesine katkı

sağladığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Tendon iyileşmesi intrinsik olarak; epitenon ve endotenon tenositlerinin proliferasyonu aracılığıyla veya ekstrinsik olarak; tendonu çevreleyen kılıf ve sinovyumdan hücrelerin göçü şeklinde gerçekleşmektedir (21). Bazı çalışmalarda elektromanyetik alanın hem kollajenin kendisini hemde kollajen üreten hücreleri etkilediği gösterilmiştir (79, 82).

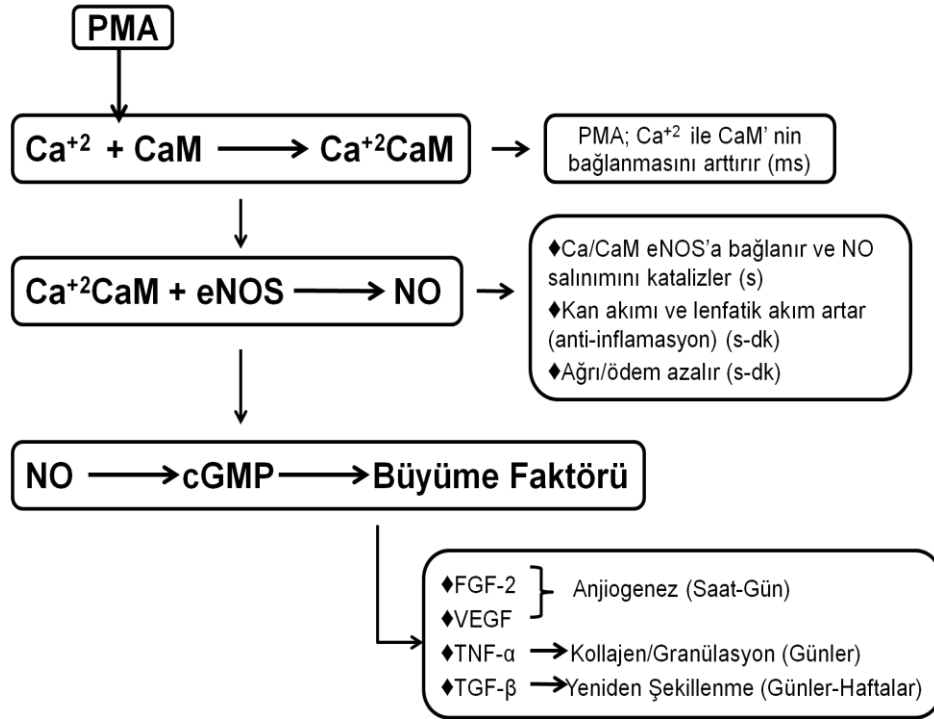
Strauch B ve ark. ve Pilla AA.'nın PMA'nın biyolojik uyum ve biyolojik dokularla etkileşimlerinin biyofiziksel mekanizmaları etkin bir şekilde çalışıldığını belirtmişlerdir (131). Çalışılan ilk model psikokimyasal yaklaşımla olmuştur. PMA'nın dalga formunun hücre membranındaki elektrokimyasal bioetkileri üzerine çalışmalar yapılmıştır (132).

Yapılan çalışmalarda PMA'nın büyüme faktörlerinin üretimine etkili olduğu ileri sürülmüştür (133). Ca^{+2} iyonu ile karakterize enzim sistemi üzerine odaklanmışlardır. Araştırmacılar PMA'nın elektriksel etkilerini 1990'ların başında araştırmaya başlamışlar ve intrasellüler kalsiyum üzerine, özellikle Ca^{+2} ile kalmodulin (CaM) arasındaki bağlantıya etkili olduğunu ve bu bilgiyi kullanarak doku iyileşmesinde CaM bağımlı kaskadların görev aldığını ileri sürülmüşlerdir (134). Yapılan bir çalışmada PMA'nın Ca^{+2} miktarını arttırdığını ve CaM ile bağlanma kinetiğine etki ettiği bildirilmişlerdir (135). Diğer çalışmalarda canlı hücrede serbest Ca^{+2} 'nin PMA'dan etkilendiği bildirmişlerdir (136, 137). Bu çalışmalarla PMA'nın fizyolojik etkileri Ca^{+2} 'nin CaM'e bağlanmasını içeren kaskatlarla ilişkili olduğu söylenebilir.

Son zamanlarda yapılan çoğu çalışmalar PMA'nın yolaklar üzerindeki etkilerini araştırmak üzere Ca/CaM bağımlı nitrik oksit (NO) kaskadları üzerinde yoğunlaşmıştır. Böylece PMA'nın bu sistem içerisindeki etkinliği ve fonksiyonları daha iyi anlaşılmıştır (138). Nitrik oksit (NO), çeşitli izoformları biçiminde nitrik oksit sentetaz (NOS) vasıtasıyla sentezlenir (139). Doku hasarı oluştuğunda uyarılabilir nitrik oksit sentetaz (inducible nitric oxide synthase; iNOS) tarafından büyük miktarda NO üretilir. Bu kaskadda NO serbest radikalinin dokudaki seviyesi sürekli olarak fazla olması proinflamasyona (hasarlı kan damarlarında ağrı ve şişliğin oluşması) neden olmaktadır (140)

Uyarılabilir nitrik oksit sentetazın (iNOS) aksine endotelial ve nöronal nitrik oksit sentetaz izoformları (sırasıyla; eNOS ve nNOS) kan ve lenfatik damarların ani basınç değişimleri gibi küçük (kısa süreli) basınçlarda bile NO üretir (141, 142). NO da

büyüme faktörü ürününe dönüşen siklik guanozin monofosfat (GMP) üretimine yol açar (143). eNOS ve nNOS kaskadları Ca/CaM bağlantısına bağımlı iken iNOS kaskadı CaM'a bağımlı değildir. PMA Ca/CaM bağlantılarını hızlandırmada ve doku tamirinin tüm fazlarında (ağrı, hasarlı bölgenin şişmesi, kan damarlanma miktarı, doku rejenerasyonu ve yeniden şekillenmesinde) etkili olabilir (139, 140).

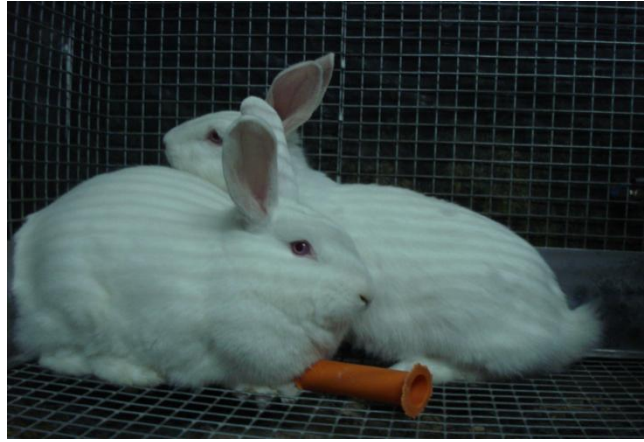


Şekil 2.11. Pulsu manyetik alanların etki mekanizması
(*131; Strauch B ve ark'nın (2009) yaptığı çalışmasından uyarlanmıştır)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Modelinin Oluşturulması ve Kullanılan Deney Hayvanlar

Aşıl tendonuyla ilgili çalışmalarda hayvan modelleri oldukça sık kullanılmaktadır. Genellikle deneysel tendon çalışmaları; boyutları ve uygulanacak cerrahi teknik açısından uygun olan tavşan, köpek, koyun gibi hayvanlarda yapılmaktadır. Bu çalışmada Aşıl tendon cerrahisinde yöntemin uygulanması ve deney hayvanlarının daha kolay elde edilebilmesi açısından tavşan tercih edildi. Çalışmamızda özel bir merkezde üretilen, kütleleri $2,4\pm 0,3$ kg olan 8-9 haftalık 50 adet dişi New Zelanda cinsi tavşan kullanıldı (Şekil 3.1). Tavşanlar; Mersin Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında oda sıcaklığı ortalama 22-24 °C, bağıl nem oranı %55-60 olacak şekilde 12 saat karanlık-12 saat aydınlık olan bir ortamda barındırıldı. Tavşanlar deney süresi boyunca standart yem ile beslendi.



Şekil 3.1. New Zelanda cinsi tavşanlar

3.2. Grupların Oluşturulması ve Deney Protokolü

Bu çalışma tez projesi olarak planlandı ve Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HAYDEK) (31/12/2012 tarihin de 2012/59 sayılı karar ile) onayından sonra başlatıldı. Deneyler Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı ve Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında'nda gerçekleştirildi. Tavşanlar biyomekanik ve immünohistolojik olmak üzere her grupta 25 tavşan olacak şekilde 2 ana gruba ayrıldı. Her ana grup K (kontrol), SH (sham), TI

(Tendon Hasarı), TI+ESWT (Tendon Hasarı+Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavisi), TI+PMA (Tendon Hasarı+Pulsu Manyetik Alan) olmak üzere 5 alt gruba (her alt grupta 5 tavşan) rasgele ayrıldı.

3.2.1. Gruplara Uygulanan Cerrahi Prosedür

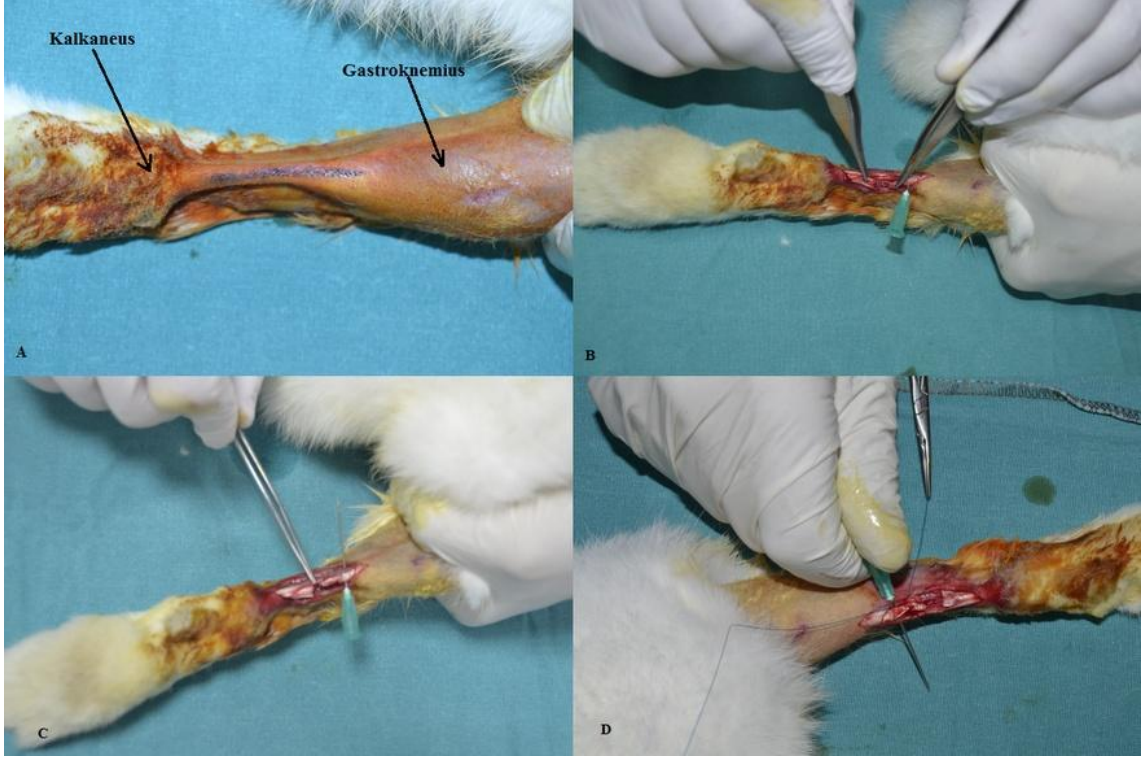
Cerrahi işlemler Mersin Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi Laboratuvarı'nda, steril şartlarda ve genel anestezi altında yapıldı. Anestezi, intraperitoneal olarak 40 mg/Kg ketamin (ketamine hydrochloride, Ketalar®; EWL Eczacıbaşı Warner Lambert İstanbul-Turkey) ve 5 mg/Kg ksilazin (Rompun, ®Bayer ,Türkiye) karışımı kullanılarak uygulandı. Anestezi derinliği göz kapaklarının hareketiyle sürekli olarak izlendi.

- K Grubu (Kontrol grubu; n=5): K grubundaki tavşanlara herhangi bir işlem yapılmadan deney süresi boyunca normal yaşam döngüsüne bırakıldı.
- SH Grubu (Sham grubu; n=5): Bu gruptaki tavşanların ayak median bölgesi tıraşlandı (Oster Golden A5, America). Aşil tendon; proksimalde gastroknemius kası ile distalde kalkaneus kemiği arasında kalan bölgede, longitudinal olarak, bistüri ile deride 4 cm kesi yapılarak açığa çıkarıldı (Şekil 3.2.A). Tendon işlem boyunca belirli aralıklarla izotonik NaCl çözeltisi ile ıslatılıp nemli kalması sağlandı. Aşil tendonun etrafını saran kılıfa (paratenon) yine aynı şekilde kesi yapıldı. Tendona herhangi bir cerrahi işlem yapılmadan deri tekrar 3/0 ve 5/0 monofilament emilebilen suture (Caprosyn™, Covidien ve Ethicon Vicryl) ile kapatıldı (Şekil 3.2.B). Yara bölgesine enfeksiyonu önlemek amacıyla batikon ile iyice temizlendikten sonra Terramycin Aerosol Spray uygulandı (Şekil 3.2.C). Daha sonra gazlı bez ile kapatılarak iyileşmeye bırakıldı (Şekil 3.2D).

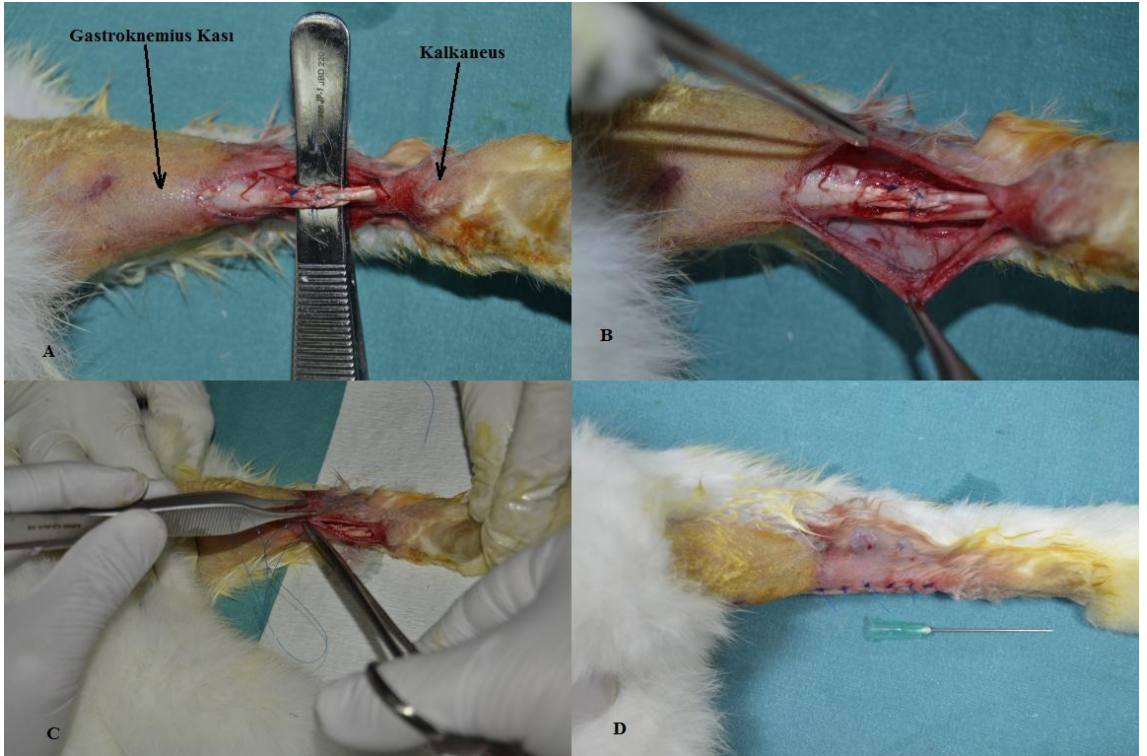


Şekil 3.2. A) Aşil Tendonu hattı boyunca derinin ve tendonu saran paratenonun insize edilmesi, B) Derinin primer sutur ile kapatılması, C) Yara hattına herhangi bir enfeksiyon riskine karşı ilaç uygulaması, D) Yaranın gazlı bez ile kapatılması

- TI Grubu (Tendon hasarı grubu; n=5): Bu gruptaki tavşanların aşil tendonu SH grubunda olduğu gibi (Şekil 3.3.A) açığa çıkarıldıktan sonra kalkaneus kemiğinden yaklaşık 15 mm proksimalden tendona deneysel hasar uygulandı (Şekil 3.3.B). Tendona kesi işlemi yapılırken ve etrafındaki dokulardan izole edilirken, çevrede bulunan damar ve sinir dokularının zedelenmemesine (Travmatik cerrahi bir işlem olmamasına) özen gösterildi. Deneysel hasar uygulandıktan sonra aşil tendonu kalkaneus ve gastroknemius hatları ucuca getirilerek (Şekil 3.3.C) kesi hattına 4/0 Prolen emilemeyen suture ile Modifiye Kessler cerrahi yöntem uygulandı (Şekil 3.3.D) (7-10, 144, 145). Daha sonra kesi hattını güçlendirmek amacıyla 6/0 prolene emilemeyen suture (Doğsan, Propilen) ile running suture tekniği uygulandı (Şekil 3.4.A ve 3.4.B) (7, 146). Tendona uygulanacak işlem bittikten sonra deri 3/0 ve 5/0 monofilament emilebilen suture (Caprosyn™, Ethicon) ile kapatıldı (Şekil 3.4.C ve 3.4.D). Deri yüzeyine yara hattı boyunca enfeksiyonu önlemek amacıyla Terramycin Aerosol Spray uygulandı. Daha sonra gazlı bez ile kapatılarak immobilizasyondan sonra iyileşmeye bırakıldı.



Şekil 3.3. A) Tendon kesi hattının longitudinal olarak belirlenmesi, B) Tendona deneysel hasar işleminin uygulanması, C) Aşil tendonunun kalkaneus ve gastroknemius hatlarının ucuca yaklaştırılması, D) Aşil tendonu kesi hattına Modifiye kessler dikişinin uygulanması.



Şekil 3.4. A) Modifiye Kessler dikiş uygulandıktan sonra Aşil tendonunun görünümü, B) Dikiş hattının running suture ile güçlendirilmesi, C) İşlem sonrası deri hattının dikilmesi, D) Deri kapatıldıktan sonra yara hattının temizlenmesi, enfeksiyona karşı ilaç uygulaması ve immobilizasyona hazırlanması.

- TI+PMA Grubu (Tendon Hasarı+Pulslu Manyetik Alan grubu; n=5): Bu gruptaki tavşanlara TI grubundaki cerrahi işlemler uygulandıktan sonra yeterince havalandırılmış plastik kutu içerisine teker teker yerleştirilen tavşanlar; 15 Hz, 260 µs, 1 mT şiddetinde, 1 saat/gün, 4 hafta (28 gün) pulslu manyetik alana maruz bırakıldı.
- TI+ESWT Grubu (Tendon Hasarı+Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavisi grubu; n=5): Bu gruptaki tavşanlara TI grubundaki cerrahi işlemler uygulandıktan sonra 4 hafta boyunca toplam 3 doz ESWT uygulandı. Deri insizyonunun iyileşmesi beklendi. Operasyon sonrası 6. günde birinci doz (3 bar, 15 Hz, 300 atım 0,12 mJ/mm²), 13. günde İkinci doz (5 bar, 15 Hz, 500 atım, 0,14 mJ/mm²), 20. günde Üçüncü doz (5 bar, 15 Hz, 500 atım, 0,14 mJ/mm²) uygulandı. 28. günde deney sonlandırıldı.

3.2.2. İmmobilizasyon Yöntemi

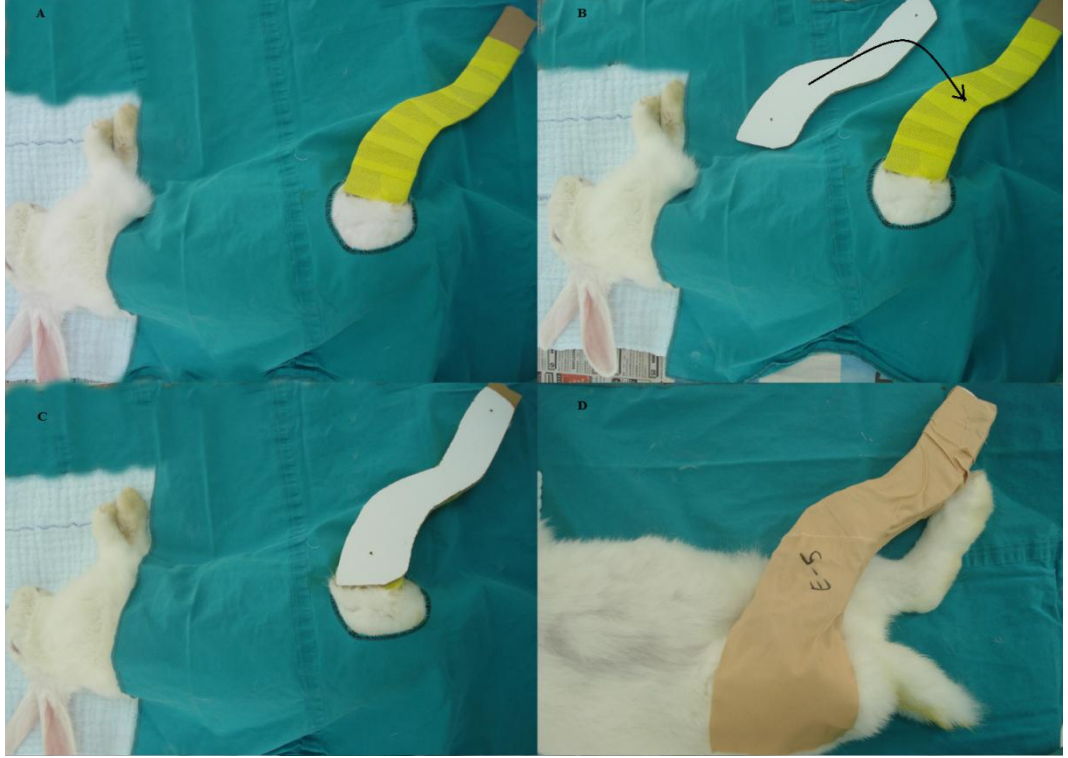
Deneye başlamadan önce immobilizasyon yöntemi ile ilgili yaptığımız pilot çalışmalarda 10 adet New Zelanda cinsi tavşan kullanıldı. Tavşanlar; literatürde belirtildiği şekilde ayak farklı açılarda fleksiyonda iken 2 inç sentetik alçı (Nemoa™ Cast, T&L Co, Ltd. Medical Div.) ile immobilize edildi (Şekil 3.5.A) (147, 148). Doğal yaşam döngüsüne bırakıldı (12/12 aydınlık/karanlık, 22-24°C oda sıcaklığı, %50-60 bağıl nem).

Uygulanan her açıda tavşanın 2., 3. en fazla 5. günde alçıyı çıkardığı (Şekil 3.5.B), bunun sonucunda işlem yapılan tendonda rüptüre yada iki tendon ucu arasında gap oluştuğu gözlemlendi. Tavşanların alçıyı çıkarmaması için alçı sıkıldığında ayağın nekroza olduğu, hayvanın beslenmesinin kesildiği gözlemlendi. Bu nedenle deney sonlandırıldı.



Şekil 3.5. Klinikte uygulanan alçı yöntemi ile tavşan ayağında immobilizasyon oluşturulması ve tavşanın alçıyı izole etmesi.

Bu nedenlerle veteriner kliniklerinde çok sık kullanılan ve bizim modifiye ettiğimiz bir yöntem ile immobilizasyon uygulandı. Bu yöntem; klinikte kullanılan atel ile benzerlik göstermektedir. Tavşan ayağının istediğimiz pozisyonda durmasını sağlayacak şekilde karton ve tahta parçaları hazırlandı. Karton ve tahta parçası (Alta karton üstte tahta olacak şekilde) ayağın lateral kısmına yerleştirildikten sonra ayak parmak ucundan bacağın en üst kısmına kadar setabant ile sarıldı (Şekil 3.6.A-D). Böylece ayak istenilen fleksiyon açısında sabitlenmiş oldu. Setabant üzerine bez flaster sıkıca yapıştırılarak güçlendirme işlemi yapıldı. Setabant ve flaster tüylere sıkıca yapıştığı için deney boyunca ateli çıkaramadıkları gözlemlendi. Yapılan pilot çalışmanın sonucunda bu yöntemin güvenilebilir olduğu ve deney hayvanlarına immobilizasyon yöntemi olarak uygulanabileceği gözlemlendi.



Şekil 3.6. A) Tavşan ayak hatlarına uygun kesilen karton parçasının ayak lateral kısmına yerleştirilmesi ve setabant ile sabitlenmesi, B) Tavşanın ayağını fleksiyona getirmesini engellemek için daha sert cismin kartona uygun kesilmesi, C) Sert cismin karton üzerine yerleştirilmesi, D) Ayağın flaster ile sabitlenmesi.

3.3. Yüksek Frekanslı Radyal ESWT Cihazı

Bu çalışmada Ortopedi kliniklerinde kullanılan ESWT'nin tendon iyileşmesi ve yapışıklık oluşumu üzerindeki etkisini incelemek amacıyla Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi Ve Travmatoloji Anabilim Dalında bulunan yüksek frekanslı radyal ESWT [Masterpuls® MP200 ve Energy II (Storz Medical 2007 model, İsviçre)] cihazı kullanıldı (Şekil 3.7). ESWT cihazı; kontrol ve kompresör ünitesi ile aplikatör el tabancasından (15 mm şok dalgaları ileten odaksal uç) oluşmaktadır.



Şekil 3.7. Masterpuls® MP200 ve Energy II (Storz Medical 2007 model, İsviçre) yüksek frekanslı radyal ESWT cihazı. Teknik özellikleri ise; frekans 1-21 Hz, uygulama basıncı 1-5 bar, atımın en yüksek basıncı 18.5 MPa ve Atım Süresi 200-2000 μ s'dir.

3.3.1. Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavisi (ESWT) Uygulaması

TI+ESWT (tendon hasarı+ekstrakorporeal şok dalga tedavisi) grubunda bulunan tavşanlara ESWT uygulayabilmek için tendonun hasarlandığı bölgede, atelde diktörtgen biçiminde bir nokta açıldı. Her uygulamadan sonra açılan bölge flaster ile kapatıldı.

Tavşanların insizyon bölgesi her gün kontrol edildi. Yara iyileşmesinin tamamlandığı 6. günde Tavşanlar uygun pozisyonda sabit duruma getirildikten sonra uzman eşliğinde 4 hafta'da (28 gün) 3 doz ESWT uygulandı (Şekil 3.8). ESWT uygulanırken aplikatör el tabancasının uç kısmına jel sürülerek iletimin daha iyi olması sağlandı.



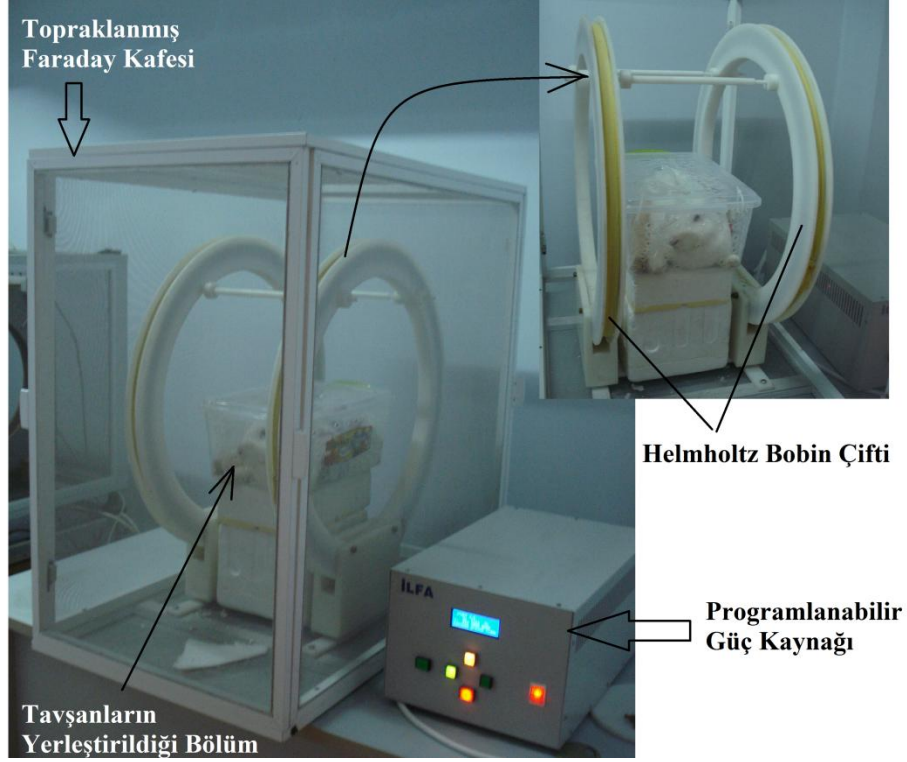
Şekil 3.8. ESWT uygulaması

3.4. Pulsu Manyetik Alan (PMA) Sistemi

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan Pulsu Manyetik Alan (İlfa Elektronik San. Tic. Ltd. Şti) sistemi kullanıldı (şekil 3.9). Homojen PMA; Helmholtz bobin çiftinden elde edildi (Çizelge 3.1). Bobinler, PIC16F877A mikroişlemcisi içeren ve programlanabilen (değişik frekans (0-100 Hz), genlik (0-10 mT) ve dalga süresine (0-2500 μ s) sahip özelliklerde PMA üretebilen) bir güç kaynağı ile beslendi. PMA sistemi çevreden gelebilecek gürültüleri önlemek amacıyla 90x90x55 cm ölçülerinde topraklanmış faraday kafesi içine yerleştirildi (Şekil 3.9).

Çizelge 3.1. Helmholtz bobin çiftinin genel özellikleri

Özdirenç* (ρ ; $\Omega.m$)	$1,72 \times 10^{-8}$
İletken çapı (mm)	2,5
Sarım sayısı	50
Bobin çapı (cm)	60
Bobinler arası nesafe (cm)	30
R (Ω)/Bobin	0,78
R_T (Ω)/Bobin çifti	1,56
Endüktans (mH)	8,8
*Helmholtz bobin çiftinin iletken unsurları bakır telden imal edilmiştir. Ω : Ohm, H: Henry	



Şekil 3.9. Pulsu manyetik alan (PMA) sisteminin genel görünüşü

3.4.1. Pulsu Manyetik Alanın (PMA) Uygulanması

TI+PMA (Tendon Hasarı+Pulsu Manyetik Alan) grubunda yer alan tavşanlar 4 hafta (28 gün) günde 1 saat manyetik alana (15 Hz, 260 μ s, 1 mT) maruz bırakıldı. PMA uygulaması; deney hayvanlarını, sistemi ve çalışanları herhangi bir olası etkileşimlerden korumak amacıyla ayrı bir odada ve uygun ortam şartlarında yapıldı.

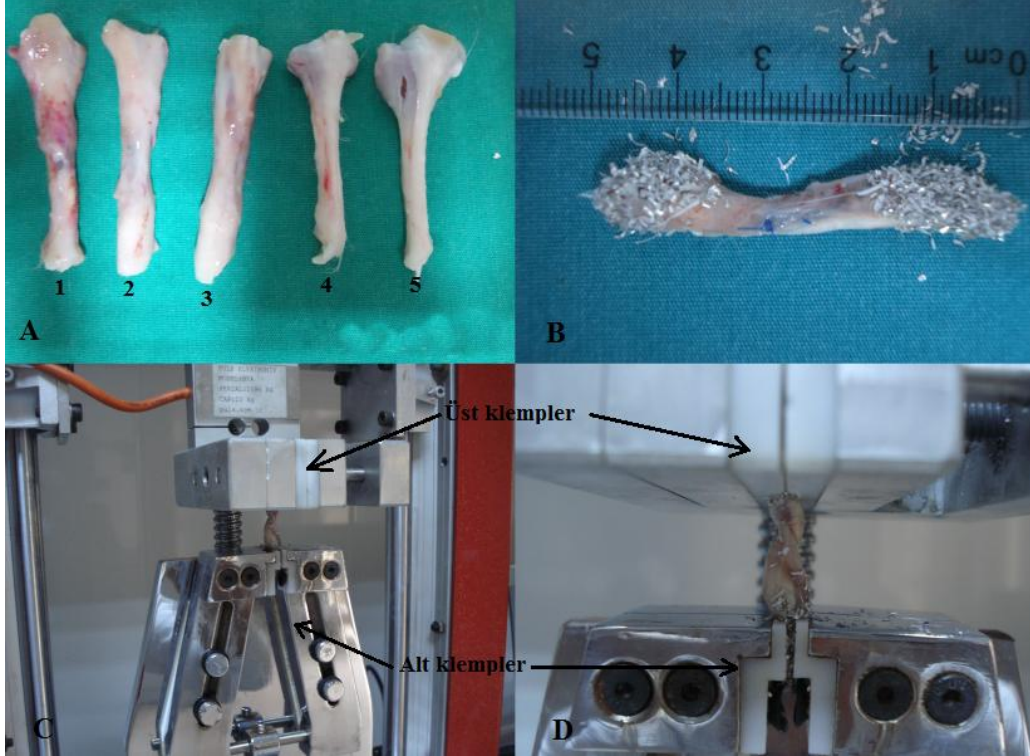
Tavşanlar yeteri kadar havalandırılmış plastik kutu içinde ve her kutuda 1 tavşan olacak şekilde Helmholtz bobin sistemi merkezine yerleştirildi. Tavşanlara; deney süresi boyunca PMA, zamansal uygulama farklılıklarından doğabilecek olası fizyolojik etkileri azaltmak için her gün aynı saat diliminde uygulandı. Her uygulama öncesinde ve 1 saatin sonunda bobinler arası manyetik alanın değeri Hall-Efect Proba bağlı Teslametre (Sypris Model 6010) ile ölçüldü. Sistemin manyetik alan değerinin, uygulama boyunca $1\pm 0,05$ mT olmasına dikkat edildi.

Çalışma, 4 hafta (28 gün) sonunda Mersin Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında sonlandırıldı. Tavşanlara genel anestezi altında ötenazi yapıldı. Daha sonra tavşanların sağ aşil tendonları; gastrokinemius kasına bağlı kısım (insertio) ile kalkaneus kemiğine bağ yaptığı kısımdan (origo) 4,6 cm uzunluğunda izole

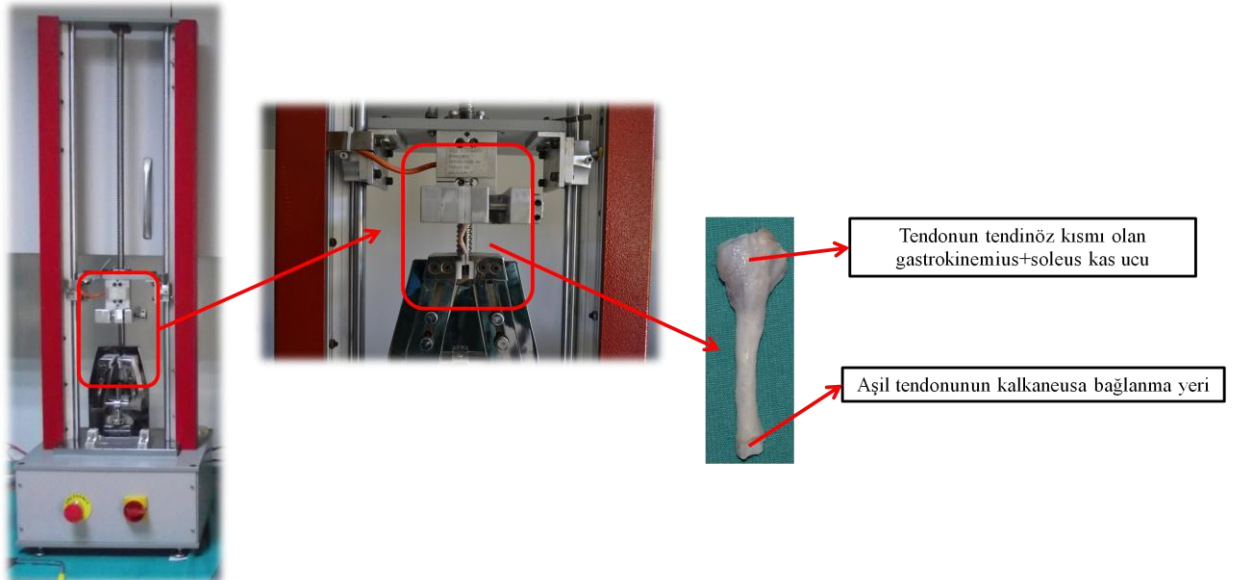
edildi. Kurumasını engellemek amacıyla serum fizyolojik solüsyonla ıslatılmış gazlı bezlere sarıldı. Oda sıcaklığında bekletildi. Biyomekanik çalışma aynı gün içerisinde tendonlar taze iken yapıldı.

3.5. Tendon Biyomekaniği Ölçüm ve Analizleri

Tavşanlardan izole edilen aşil tendonların biyomekanik ölçüm ve analizleri; Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan germe hızı 0-250 mm/dk olan ve maksimum 200 N'a kadar ölçüm yapabilen özellikte load cell sahip Germe-Test Cihazı (İlfa Elektronik San.Tic.Ltd.Şti) ile yapıldı. Biyomekanik teste başlamadan önce tendonların; ilk boyları yaklaşık eşit ($L \sim 4,6$ cm) olacak şekilde ayarlandı. Genişlik (D; mm) ve kalınlıkları (T; mm) digital kumpas ile kütleleri (A; g) ise hassas terazi ile ölçüldü. Daha sonra tendonun klemplere daha sıkı tutunmasını sağlamak ve sünmesini engellemek amacıyla; tendonun her iki ucuna alüminyum tozları serpiştirildi (Şekil 3.10.B) (149). Tendonlar Germe-Test cihazına gastroknemius kas ucu üst klemplere, kalkaneus ucu ise alt klemplere gelecek şekilde yerleştirildi (150). Daha sonra klempler arası mesafe eşit ve 2,2 cm, germe hızı 10 mm/dk olacak şekilde ayarlandı (145, 151).



Şekil 3.10. izole edilen aşil tendonların biyomekanik testler için hazırlanması. A) 1,2,3. Tendonlar TI oluşturulmuş tendonlar, 4, 5. Tendonlar K grubuna ait tendonlar. B) Biyomekanik test sırasında tendonların sünmelerini engellemek için kullanılan alüminyum tozunun tendon uçlarına sürülmesi. C-D) Tendonların Germe-Test cihaza yerleştirilmesi.



Şekil 3.11. Germe Test Cihazı (İlfa Elektronik) ve tendonun klemlere tutturulması (150).

Germe testi sonunda cihazda kaydedilen Yük-Deformasyon verileri LoggerPro yazılımına (V 3.8.3, Vernier Software & Technology, Orlando, FL, USA) aktarılarak değerlendirildi. Test sonunda yük-deformasyon eğrisi çizdirilerek; maksimum kuvvet (F_U ; N), maksimum deformasyon (d_U ; mm), kopuncaya kadar depolanan enerji (U; mj) ve sertlik (S; N/mm) parametreleri direkt olarak elde edildi (Şekil 2.2.A). Ayrıca maksimum kopma dayanımı (σ_U ; MPa), maksimum strain (ϵ_U ; mm/mm), maksimum stres (maksimum çekme dayanımı, σ_U ; MPa) esneklik katsayısı (E; MPa) ve dayanıklılık (u; MPa) parametreleri Stres-Strain eğrisi elde edilerek hesaplandı (Şekil 2.2.B).

Tendonların kesit alanı (CSA; cross-sectional area)'nı elips modeline göre kalınlık ve genişliği içeren Denklem 2.2'de verilen denklem kullanılarak hesaplandı (42, 43, 44).

$$CSA = \left(\frac{D \times T}{4} \right) \cdot \pi$$

CSA: Kesit Alanı (mm^2)

D: Genişlik (mm)

T: Kalınlık (mm)

3.6. Histolojik Ölçümler

3.6.1. Işık Mikroskopik Doku Takibi ve İmmunohistokimyasal İşaretleme

1. Işık mikroskobu için dokular fikse edildikten sonra akarsuda yıkandı.
2. Artan derecelerde alkollerden geçirildi (%70, 80, 90, 96).
3. Ksilol ile şeffaflandırma işlemi yapıldı.
4. Ksilol + sıvı parafin karışımında bekletildi.
5. Dokular sıvı parafine gömüldü.
6. Mikrotomlaadeziv lamlara $5\mu\text{m}$ kalınlığında kesitler alındı.
7. Kesitler deparafinizasyon işlemi için 60°C etüvde 1 saat bekletildikten sonra oda ısısında 3×10 dakika ksilolden geçirildi.

8. Rehidratasyon işlemleri için derecesi giderek azalan alkol serilerinden geçirilerek distile suya alındı.
9. Fiksasyon ve parafine gömülmekten kaynaklanan antijen maskelenmesini ortadan kaldırmak için tripsin (pH:7,6) içinde 37 °C'de (Bio-Optica Milano Spa®) 30 dakika muamele edildi.
10. Bu işlemden sonra taze hazırlanmış fosfatlı tuz tamponu (PBS) ile 3x5 dakika yıkandı.
11. Endojenperoksidaz aktivitesinin yok edilmesi için distile suda %12,5'lük olarak hazırlanmış hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 10 dakika inkübe edildi.
12. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
13. Nonspesifik antikor bağlanmasını ve bundan dolayı oluşabilecek zemin boyamasını engellemek için Novocastra TM Protein Block ile 8 dakika inkübe edildi.
14. Dokuların üzerindeki protein blok uzaklaştırıldı ve yıkama yapılmadan PBS içinde %0,5'lik sığır serum albumin (BSA) ile sulandırılmış anti-laminprimer antikor (Abcam ab11575) 1/25 dilüsyonunda damlatıldı. Kesitler nemlendirilmiş kapalı bir kap içinde oda ısısında 1 gece inkübe edildi.
15. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
16. Biotin ile bağlanmış polivalansekonder antikor (Scytek®) damlatılarak oda ısısında 10 dakika bekletildi.
17. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
18. Streptavidinperoksidaz enzim solüsyonu ile 10 dakika inkübe edildi.
19. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
20. Peroksidazsubstratı olan diaminobenzidin (DAB) damlatıldı ve boyanma yoğunluğu mikroskop altında kontrol edilerek 3-5 dakika inkübe edildi.
21. Distile suda 5 dakika yıkandı.
22. Hematoksilen ile 5-10 saniye zıt boyama yapıldı.
23. Akarsuda berraklaşana kadar yıkandı.
24. Kesitler derecesi artan alkollerden geçirilerek dehidrate edildi.
25. Ksilolden 3x5 dakika geçirildi.
26. Entellan ile kapatıldı.

Negatif kontrol amacıyla ayrılan kesitlere primer antikor içermeyen % 0,5 PBS-BSA damlatıldı. Daha sonra protokole aynı şekilde devam edildi. Dokular, ışık mikroskobu (Olympus®BX50 OlympusGmbH, Almanya) ile incelendi, aynı mikroskoba eklenmiş dijital kamera (Nikon®Coolpix5000, NikonCorp. Tokyo, Japonya) ile fotoğrafları çekildi.

3.7. İstatistiksel Yöntemler

Çalışmada Tavşanların aşil tendon hasarını ayrıca PMA ve ESWT'nin hasarlanmış aşil tendonların iyileşmesi üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla K, SH, TI, TI+PMA ve TI+ESWT grupları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Çalışmada elde edilen sonuçlar ortalama \pm SD ve ortalama (min; max) değerler olarak verildi. Her gruptaki veri dağılımının normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro-Wilks testi ile belirlendi. Normallik testi sonuçlarına göre normal dağılan ikiden fazla grup ortalaması için Tek Yönlü Varyans Analizi, normal dağılmayan ikiden fazla grup ortalamasını karşılaştırmak için Kruskal-Wallis yöntemi kullanıldı. Aralarında fark çıkan grupların hangi gruplardan kaynaklandığı post-hoc Tukey testi ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ olarak alındı. İstatistiksel değerlendirmelerde MedCalc (V.12.5.0, MedCalc Software, Ostend, Belgium), grafiklerin çizilmesinde ise SPSS (V 11.5.1, Lead Technologies, Inc., Chicago, IL, USA) ve Statistica 8.0 Demo (Stat Soft Inc., Tulsa, OK, USA) paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Genel Bulgular

4.1.1. Vücut Kütlesi Bulguları

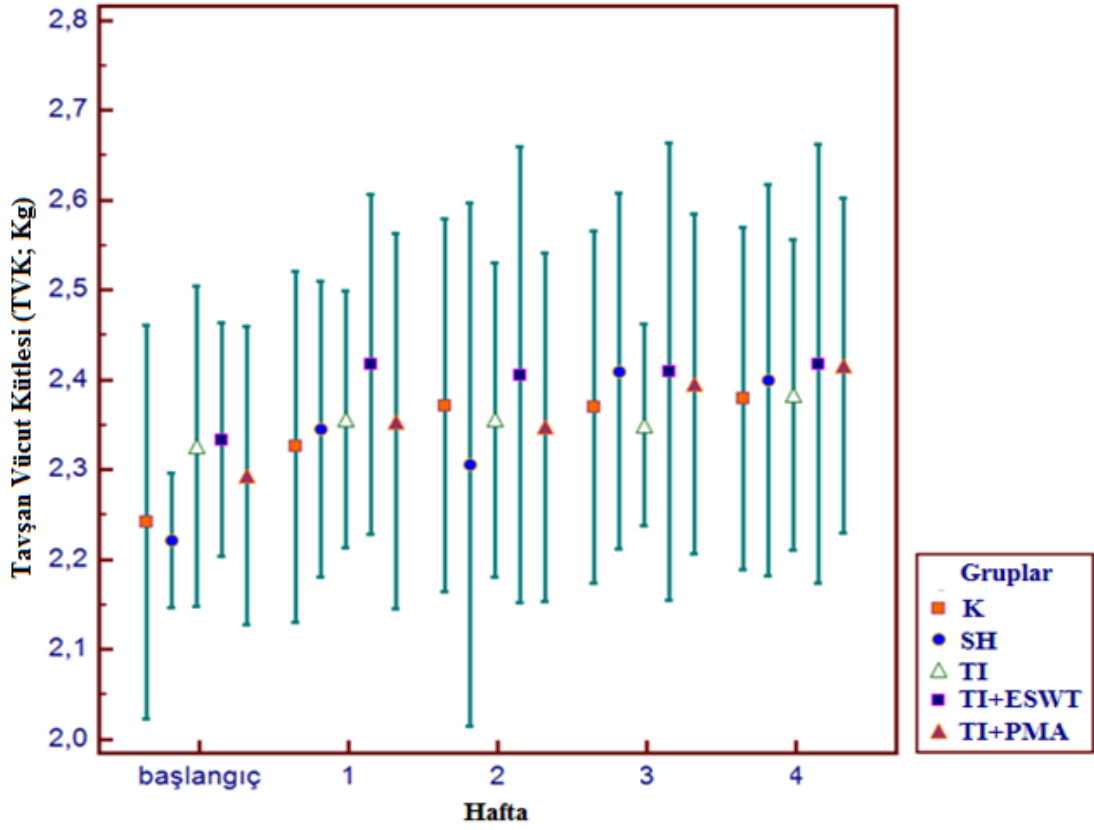
Çalışma kapsamında tavşanların vücut kütleleri (kg) ve 4 hafta (28 gün) boyunca 7 günlük periyotlarla ölçüldü. Bu süreçte tavşanların vücut kütlelerindeki değişimler Şekil 4.1’de, kütle ortalamaları Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Tavşanların başlangıç kütleleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Ayrıca gruplar arasında başlangıç kütlelerinde gözlenen bu ilişkinin deney süresince sabit kaldığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, grupların periyotlar arasındaki kütle değişimleri (gözlenen artış ve azalışlar) incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan tavşanların deney süresince vücut kütle ortalamaları \pm SD değerleri

Tavşan Vücut Kütlesi (Kg)*	Gruplar				
	K (N=5)	SH (N=5)	TI (N=5)	TI+PMA (N=5)	TI+ESWT (N=5)
Başlangıç	2,242 \pm 0,18	2,222 \pm 0,06	2,326 \pm 0,14	2,294 \pm 0,13	2,334 \pm 0,10
1.Hafta	2,326 \pm 0,16	2,346 \pm 0,13	2,356 \pm 0,12	2,354 \pm 0,17	2,418 \pm 0,15
2.Hafta	2,372 \pm 0,17	2,306 \pm 0,23	2,356 \pm 0,14	2,348 \pm 0,16	2,406 \pm 0,20
3.Hafta	2,370 \pm 0,16	2,410 \pm 0,16	2,350 \pm 0,09	2,396 \pm 0,15	2,410 \pm 0,20
4.Hafta	2,380 \pm 0,15	2,400 \pm 0,17	2,384 \pm 0,14	2,416 \pm 0,15	2,418 \pm 0,19

K: Kontrol , SH: Sham, TI: Tendon Hasarı , TI+PMA: Tendon Hasarı+Pulsu Manyetik Alan, TI+ESWT: Tendon Hasarı+Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavi. *Tabloda tavşanların haftalık (7 gün) kütle ortalamaları verilmiştir.



Şekil 4.1. Grupların tavşan vücut kütlesi ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5): Kontrol, SH (N=5): Sham, TI (N=5): Tendon Hasarı, TI+PMA (N=5): Tendon Hasarı+Pulsu Manyetik Alan, TI+ESWT (N=5): Tendon Hasarı+Ekstrakorporeal Şok Dalga Terapi. Deney süresince grupların tavşan kütlesi ortalamaları arasında anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p>0,05$).

4.1.2. Tendon Kütlesi Bulguları

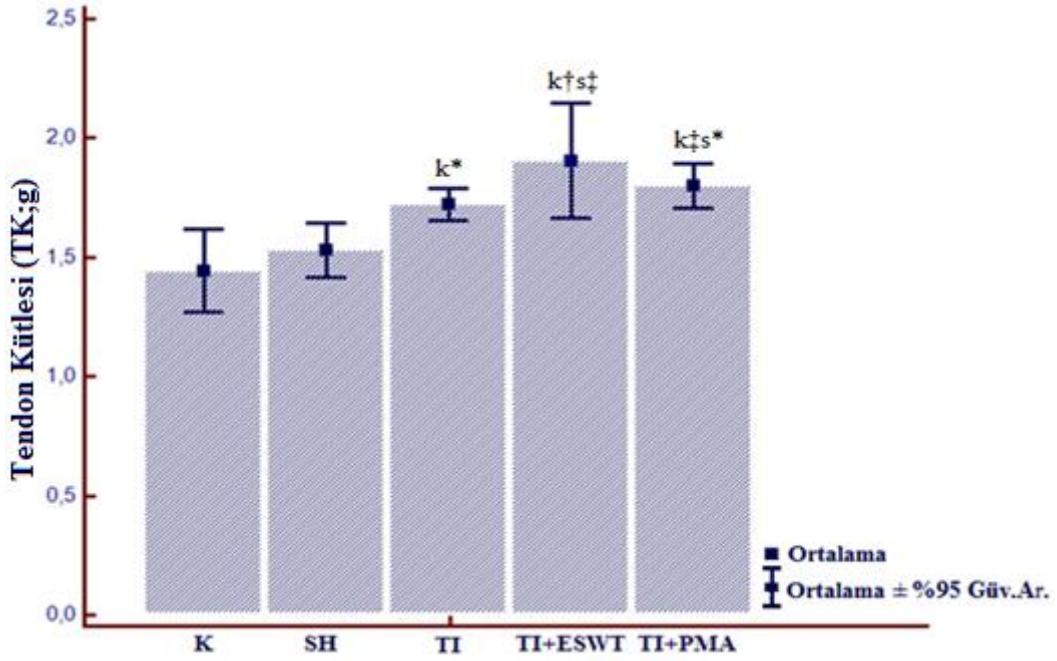
Tavşanların sağ ayağından izole edilen aşil tendonlar hassas terazi ile tartılmış ve sonuçlar gram (g) cinsinden ifade edilmiştir. Tavşanların aşil tendon kütlesi ortalamaları Çizelge 4.2’de ve ortalamalardaki değişimler Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

Yapılan istatistiksel analizlerde TI, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait aşil tendon kütlelerinin K grubuna göre önemli derecede arttığı ve bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0,05$, $p<0,001$, $p<0,0001$). Ayrıca, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait tendon kütleleri SH grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede bir artış olduğu ve bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0,05$) ($p<0,001$).

Çizelge 4.2. Grupların aşil tendon kütle ortalamaları \pm SD değerleri ve anlamlılık düzeyleri

Gruplar	N	Aşil Tendon Kütle (g)
K	5	1,4424 \pm 0,141
SH	5	1,5316 \pm 0,093
TI	5	1,7222 \pm 0,067 ^{k*}
TI+PMA	5	1,7998 \pm 0,074 ^{k‡s*}
TI+ESWT	5	1,9062 \pm 0,196 ^{k†s‡}

^k K Grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma. [‡] p<0,001, [†] p<0,0001, ^{*} p<0,05. Tabloda yalnız istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.



Şekil 4.2. Grupların aşil tendon kütle ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5): Kontrol, SH (N=5): Sham, TI (N=5): Tendon Hasarı, TI+PMA (N=5): Tendon Hasarı+Pulsu Manyetik Alan, TI+ESWT (N=5): Tendon Hasarı+Ekstrakorporal Şok Dalga Terapi. ^kK Grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma. [‡] p<0,001, [†] p<0,0001, ^{*} p<0,05. Tabloda yalnız istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.

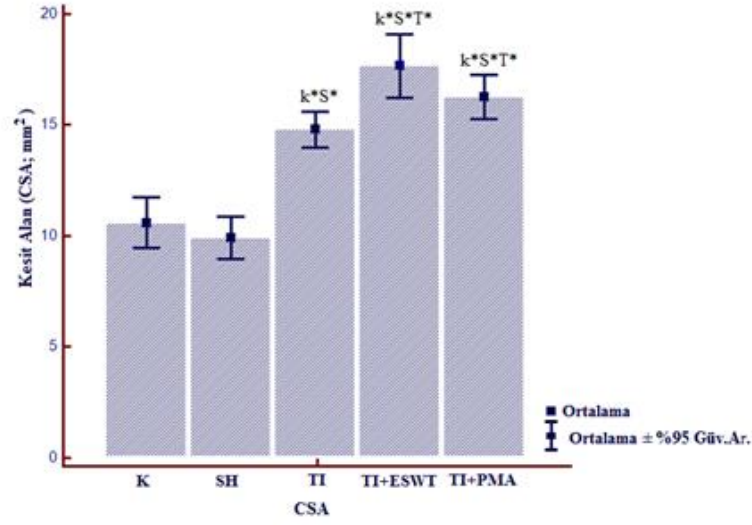
4.2. Geometrik Bulgular

Çalışmada tavşanların sağ aşil tendonlarına ait ilk uzunluk (L_0 ; mm), germe test cihazına yerleştirildikten sonra klemler arasında kalan tendon uzunluğu (L ; mm), tendon genişliği (D ; mm), tendon kalınlığı (T ; mm) ve tendon kesit alanı (CSA; cross sectional area; mm^2) geometrik parametreler olarak değerlendirilmiştir. Aşil tendonlarına ait geometrik parametrelerin ortalamaları ve standart sapmaları Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Grupların geometrik parametrelerinin ortalamalarında gözlenen değişimler Şekil 4.3, 4.4, 4.5'te verilmiştir. K ve SH grubu CSA ortalama değerleri karşılaştırıldığında herhangi bir fark saptanmamıştır ($p>0,0001$). Yapılan istatistiksel analizlerde TI, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait aşil tendon CSA ortalamaları K ve SH grubuna göre önemli derecede arttığı ve bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0,0001$). Ayrıca TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait aşil tendon CSA ortalamaları TI grubuna göre önemli derecede arttığı ve bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0,0001$). TI+PMA ve TI+ESWT arasındaki fark ise anlamlı bulunmamıştır. TI, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait aşil tendon genişlik ve kalınlık ortalamaları K ve SH grupları ile karşılaştırıldığında önemli derecede artış olduğu gözlenmiştir ($p<0,0001$). Ayrıca yapılan istatistiksel analizlerde TI+ESWT grubuna ait aşil tendon genişlik ve kalınlık ortalamaları TI grubuna göre önemli derecede arttığı gözlenmiştir ($p<0,001$). TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait aşil tendon genişlik ve kalınlık ortalamaları arasında önemli bir fark bulunmamıştır.

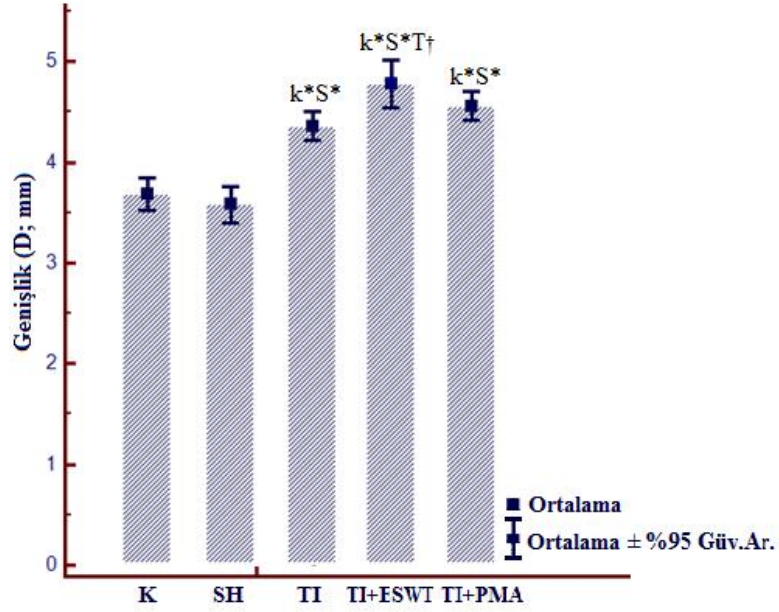
Çizelge 4.3. Grupların geometrik parametreleri \pm SD değerleri ve anlamlılık düzeyleri

Geometrik Parametreler	Gruplar				
	K (N=5)	SH (N=5)	TI (N=5)	TI+PMA (N=5)	TI+ESWT (N=5)
CSA (mm ²)	10,59 \pm 0,92	9,91 \pm 0,77	14,80 \pm 0,65 ^{k*S*}	16,27 \pm 0,80 ^{k*S*T*}	17,66 \pm 1,15 ^{k*S*T*}
D (mm)	3,68 \pm 0,13	3,58 \pm 0,15	4,36 \pm 0,11 ^{k*S*}	4,56 \pm 0,11 ^{k*S*}	4,78 \pm 0,19 ^{k*S*†}
T (mm)	3,66 \pm 0,21	3,52 \pm 0,13	4,32 \pm 0,08 ^{k*S*}	4,54 \pm 0,11 ^{k*S*}	4,70 \pm 0,12 ^{k*S*†}
L _o (mm)	46	46	46	46	46
L (mm)	22	22	22	22	22

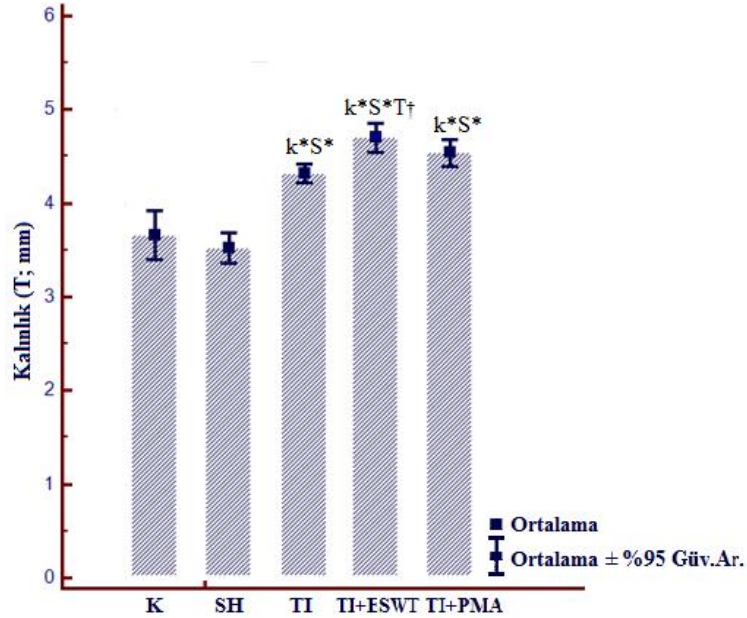
CSA :Kesit alanı, D: Aşıl tendon genişliği, T: Aşıl tendon kalınlığı, L_o: İzole edilen aşıl tendonunun ilk uzunluğu, L: Aşıl tendonunun Germe-test cihazına yerleştirildikten sonra klempler arasındaki uzunluğu. ^k K grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma, ^T TI grubu ile karşılaştırma, * p<0,0001, † p<0,001. Tabloda yalnızca istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.



Şekil 4.3. Grupların kesit alan ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5): Kontrol, SH: Sham , TI (N=5): Tendon Hasarı, TI+PMA (N=5): Tendon Hasarı+Pulslu Manyetik Alan, TI+ESWT (N=5): Tendon Hasarı+Ekstrakorporeal Şok Dalga Terapi. ^k K grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma, ^T TI grubu ile karşılaştırma, * p<0,0001. Tabloda yalnızca istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.



Şekil 4.4. Grupların aşil tendon genişlik ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5): Kontrol , SH: Sham , TI (N=5): Tendon Hasarı, TI+PMA (N=5): Tendon Hasarı+Pulsu Manyetik Alan, TI+ESWT (N=5): Tendon Hasarı+Ekstrakorporal Şok Dalga Terapi. ^k K grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma, ^T TI grubu ile karşılaştırma, * $p<0,0001$ † $p<0,001$. Tabloda yalnızca istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.



Şekil 4.5. Grupların aşil tendon kalınlık ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5): Kontrol, SH: Sham, TI (N=5): Tendon Hasarı, TI+PMA (N=5): Tendon Hasarı+Pulsu Manyetik Alan, TI+ESWT (N=5): Tendon Hasarı+Ekstrakorporal Şok Dalga Terapi. ^k K grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma, ^T TI grubu ile karşılaştırma, * $p<0,0001$ † $p<0,001$. Tabloda yalnızca istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.

4.3. Tendon Biyomekaniği Bulguları

Çalışmada tavşanların sağ aşil tendonları biyomekanik ölçüm ve analizler için kullanılmıştır. Biyomekanik analizlerde tendonun yapısal karakterini yansıtan; maksimum kopma kuvveti, maksimum deformasyon, sertlik ve depolanan enerji değerleri yük-deformasyon eğrisinden direkt olarak ölçülürken, materyal özelliklerini yansıtan; maksimum çekme dayanımı, maksimum strain, esneklik katsayısı ve dayanıklılık değerleri Yük-Deformasyon eğrisi ve kesit alanı kullanılarak çizilen Stres-Strain eğrisinden ölçülmüştür. Biyomekanik parametrelere ait ortalamalar Çizelge 4.4'te ve biyomekanik parametrelerde gözlenen değişimler Şekil 4.6-4.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Grupların Aşıl Tendon biyomekanik parametrelerinin ortalama değerleri (minimum; maksimum) ve anlamlılık düzeyleri

Tendon Biyomekaniği Parametreleri	Gruplar				
	K (N=5)	SH (N=5)	TI (N=5)	TI+PMA (N=5)	TI+ESWT (N=5)
	Median [Min;Max]	Median [Min;Max]	Median [Min;Max]	Median [Min;Max]	Median [Min;Max]
F _U (N)	101,80 [76,20;111,90]	81,10 [71,10;104,60]	29,07 [24,02;31,56]* ^{kS}	38,53 [36,79;46,43]* ^{kST}	38,58 [29,69;40,82]* ^{kST}
S (N/mm)	26,67 [13,23;39,31]	11,36 [7,34;56,21]	6,81 [4,35;12,72]* ^{kS}	6,98 [5,46;14,43]* ^{kS}	13,88 [5,23;15,90]
U (mJ)	390,80 [304,80;455,60]	395,80[201,80;414,30]	99,63 [68,60;140,90]* ^{kS}	143,30[78,20;189,40]* ^{kS}	118,80[99,1;147,80]* ^{kS}
E (MPa)	124,90 [64,85;145,30]	54,54 [36,90;271,80]	13,91 [11,74;38,81]* ^{kS}	14,96 [12,74;23,66]* ^{kS}	22,89 [8,29;24,35]* ^{kS}
u (MPa)	0,71 [0,52;0,79]	0,80 [0,41;0,88]	0,14 [0,11;0,21]* ^{kS}	0,24 [0,14;0,35]* ^{kST}	0,18 [0,15;0,30]* ^{kS}
σ _U (MPa)	8,41 [7,50;11,00]	8,42 [7,12;10,87]	1,73 [1,33;2,08]* ^{kS}	2,47 [2,21;2,91]* ^{kST}	1,89 [1,45;2,00]* ^{kSP}
	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD	Ort±SD
ε _U (mm/mm)	0,11±0,02	0,17±0,10	0,27±0,24	0,29±0,10	0,27±0,10
d _U (mm)	5,56±0,78	8,72±4,96	7,16±1,66	10,32±3,44	8,89±3,42

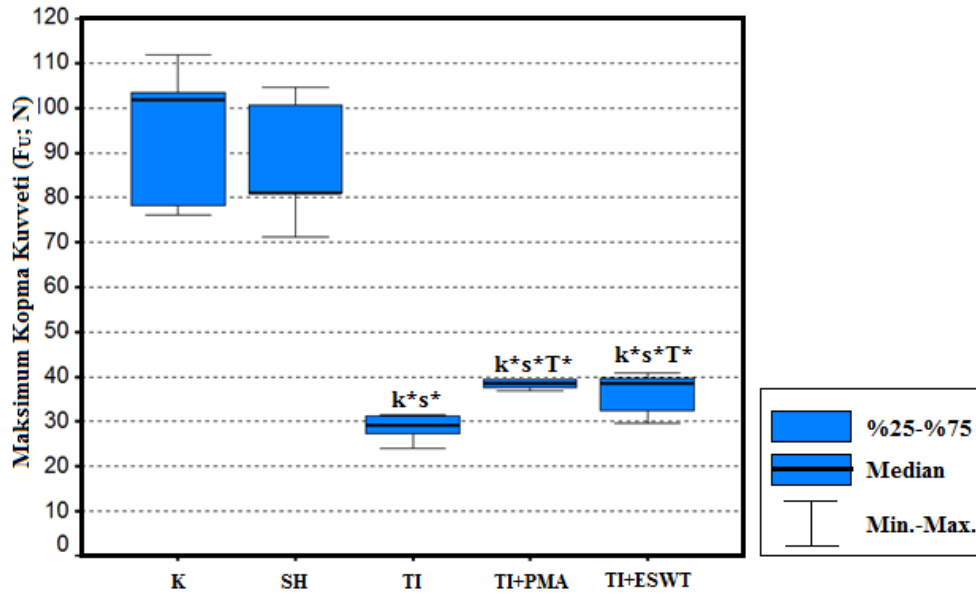
F_U: Maksimum kopma kuvveti, S: Sertlik, U: Kopuncaya kadar depolanan enerji, E: Esneklik katsayısı (young modülü), u: Dayanıklılık, σ_U : Maksimum çekme dayanımı (maksimum stres), ε_U: Maksimum strain, d_U: Maksimum deformasyon, ^k K grubu ile karşılaştırma, ^S SH grubu ile karşılaştırma, ^T TI grubu ile karşılaştırma, ^P TI+PMA grubu ile karşılaştırma. * p<0,05. Tabloda yalnız istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.

- A) Maksimum Kopma Kuvveti (F_U ; N): Yapılan istatistiksel analizlerde, TI, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait F_U ortalamaları; K ve SH grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı gözlenmiştir ($p<0,05$). TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait F_U ortalamaları; TI grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,05$), TI+PMA ve TI+ESWT grupları karşılaştırıldığında benzer olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.6).
- B) Sertlik (S; N/mm): TI ve TI+PMA gruplarına ait S ortalamaları ile K ve SH gruplarına ait ortalamalar karşılaştırıldığında anlamlı derecede azalma gözlenirken ($p<0,05$), SH grubuna göre TI+ESWT grubuna ait S ortalamalarında gözlenen artış anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait S ortalamaları TI grubu ile karşılaştırıldığında gözlenen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.7).
- C) Tendonda Kopuncaya Kadar Depolanan Enerji (U; mj): Yapılan istatistiksel analizlerde, TI, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait U ortalamaları K ve SH grupları ile karşılaştırıldığında gözlenen azalış anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bununla birlikte, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait U ortalamaları TI grubuna göre artarken, bu artışın anlamlılığa çok yakın olduğu saptanmıştır. TI+PMA grubuna ait U ortalaması TI+ESWT grubuna göre belirgin bir şekilde arttığı fakat anlamlı olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.8).
- D) Esneklik katsayısı (young modülü) (E; MPa): Yapılan istatistiksel analizlerde, TI, TI+PMA ve TI+ESWT grupların ait E ortalamaları K ve SH grupları ile karşılaştırıldığında gözlenen azalış anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bununla birlikte, TI grubuna göre, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait U ortalamalarında gözlenen artış anlamlı değildi. TI+PMA ve TI+ESWT grupları U ortalamaları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.9).
- E) Dayanıklılık (u ; MPa): Yapılan istatistiksel analizlerde, TI, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait u ortalamaları K ve SH grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca, TI+PMA grubuna ait u ortalamaları TI grubu ile karşılaştırıldığında önemli derecede artış olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Bununla birlikte, TI+PMA grubu ile TI+ESWT grubuna ait u ortalamaları karşılaştırıldığında belirgin bir artış olduğu fakat bu artışın anlamlı olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.10).
- F) Maksimum çekme dayanımı (maksimum stres) (σ_U ; MPa): TI, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait σ_U ortalamaları K ve SH gruplarına göre azaldığı ve bu azalmanın anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). TI+PMA grubuna ait σ_U

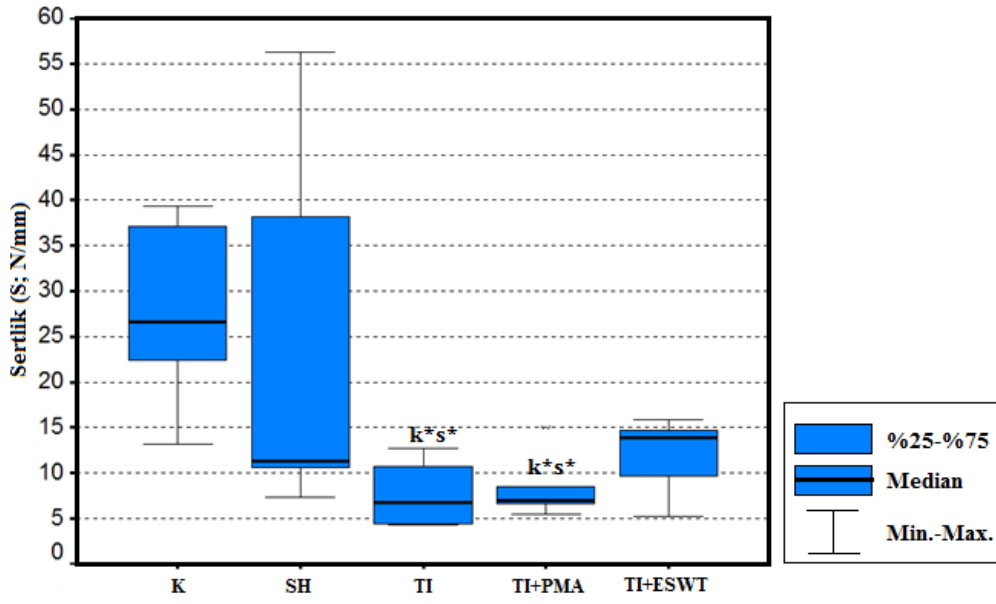
ortalamları TI ve TI+ESWT grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.11).

G) Maksimum Strain (ϵ_U ; mm/mm): K, SH, TI, TI+PMA ve TI+ESWT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. TI, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarında ϵ_U ortalamalarının benzer değerler olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.12).

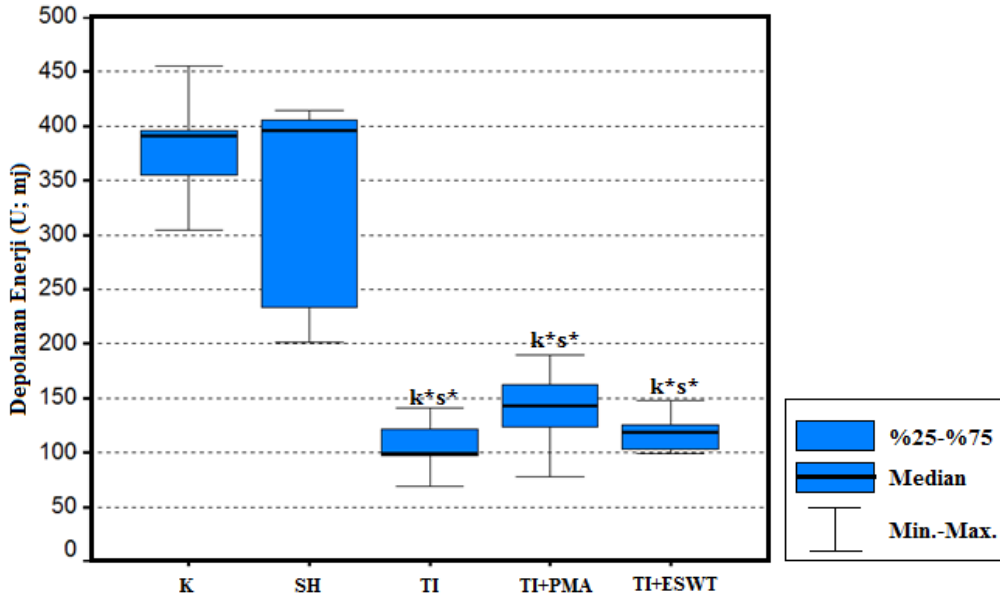
H) Maksimum Deformasyon (d_U ; mm):, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait d_U ortalamaları ile K, SH, TI grupları, TI+PMA grubu ile de TI+ESWT grubuna ait d_U ortalamalar karşılaştırıldığında gözlenen artışın anlamlı olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.13).



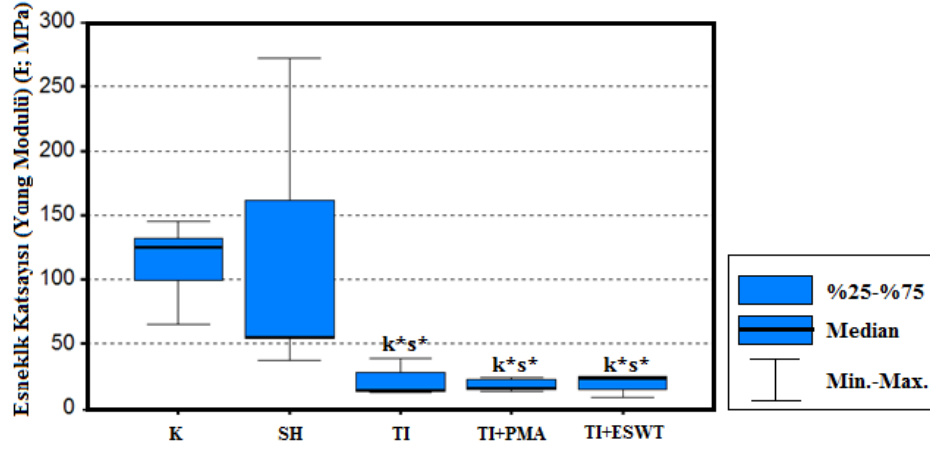
Şekil 4.6. Grupların maksimum kopma kuvvetleri ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5), SH (N=5), TI (N=5), TI+PMA (N=5), TI+ESWT (N=5). ^k K grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma, ^T TI grubu ile karşılaştırma, * $p<0,05$. Tabloda yalnızca istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.



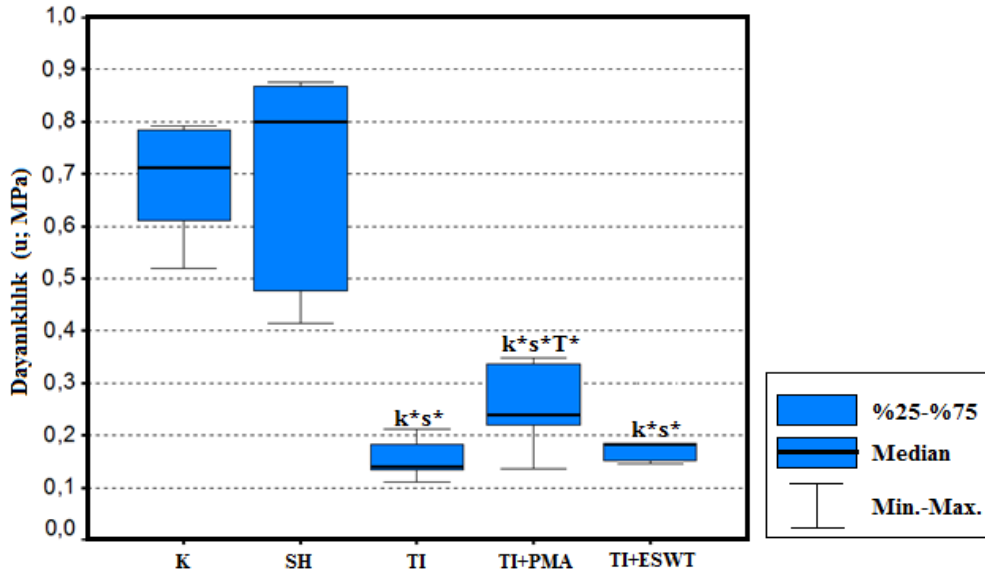
Şekil 4.7. Grupların sertlik ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5), SH (N=5), TI (N=5), TI+PMA (N=5), TI+ESWT (N=5). ^k K grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma, * p<0,05. Tabloda yalnızca istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.



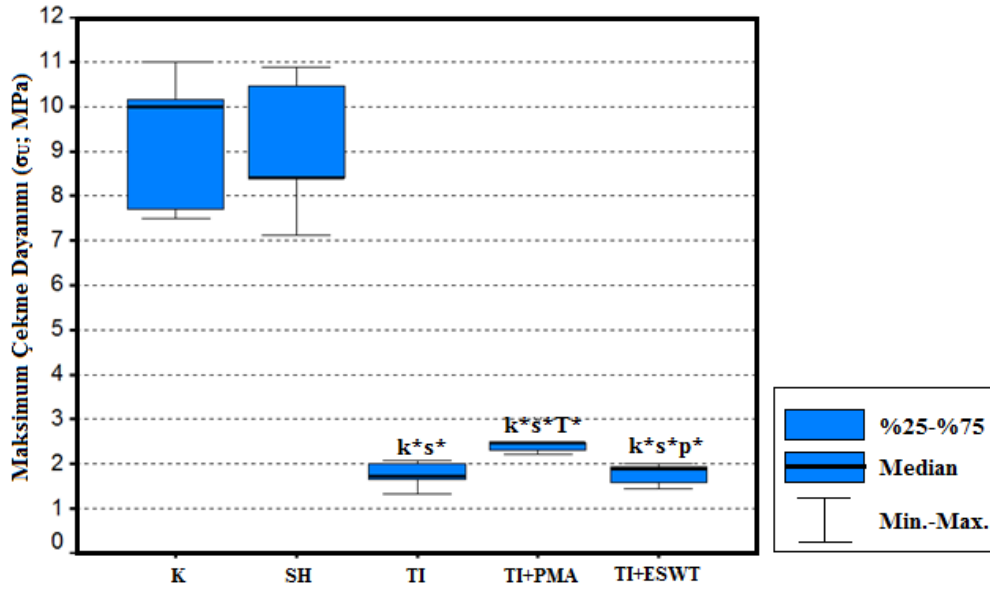
Şekil 4.8. Grupların depolanan enerji ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5), SH (N=5), TI (N=5), TI+PMA (N=5), TI+ESWT (N=5). ^k K grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma, * p<0,05. Tabloda yalnızca istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.



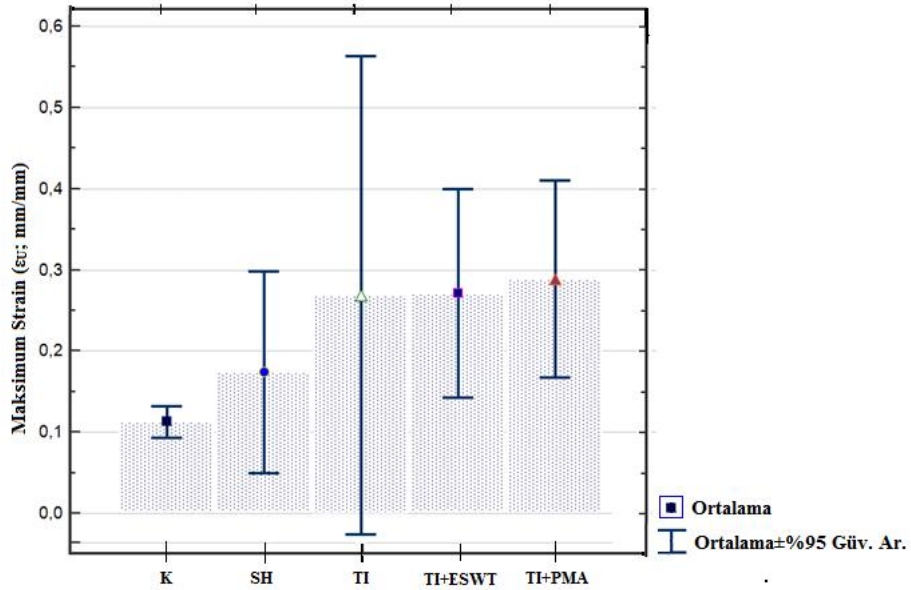
Şekil 4.9. Grupların esneklik katsayıları (young modülü) ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5), SH (N=5), TI (N=5), TI+PMA (N=5), TI+ESWT (N=5). ^k K grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma, * p<0,05. Tabloda yalnızca istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.



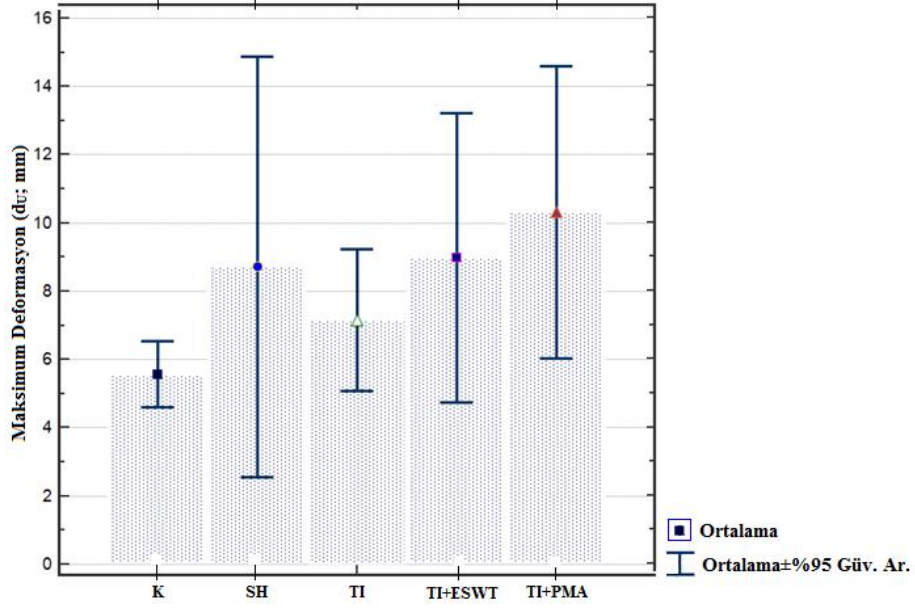
Şekil 4.10. Grupların dayanıklılık ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5), SH (N=5), TI (N=5), TI+PMA (N=5), TI+ESWT (N=5). ^k K grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma, * p<0,05. Tabloda yalnızca istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.



Şekil 4.11. Grupların maksimum çekme dayanımı (maksimum stres) ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5), SH (N=5), TI (N=5), TI+PMA (N=5), TI+ESWT (N=5). ^k K grubu ile karşılaştırma, ^s SH grubu ile karşılaştırma, ^T TI grubu ile karşılaştırma, ^p TI+PMA, * $p < 0,05$. Tabloda yalnızca istatistiksel olarak anlamlı karşılaştırmalar verilmiştir.



Şekil 4.12. Grupların maksimum strain ortalamaları \pm SD değerleri. K (N=5), SH (N=5), TI (N=5), TI+PMA (N=5), TI+ESWT (N=5).



Şekil 4.13. Grupların maksimum deformasyon ortalamaları ± SD değerleri. K (N=5), SH (N=5), TI (N=5), TI+PMA (N=5), TI+ESWT (N=5).

4.4. Histolojik Bulgular

Çalışmada Neovaskülarizasyonu doğrulamak amacıyla endotelial anjiojenik markerlar olan damar endotelial büyüme faktörü (VEGF), endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) işaretleme yoğunluğu açısından ve immünohistokimyasal görüntüleme ile kollajen liflerin organizasyonunun durumu değerlendirilmiştir. Histolojik markerlara ait işaretleme yoğunluğu Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'da ve histolojik olarak gözlenen değişimler Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'te verilmiştir.

Grupların işaretleme yoğunlukları karşılaştırıldığında deney gruplarında sırasıyla K ve SH gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p=0,008$, $p=0,007$).

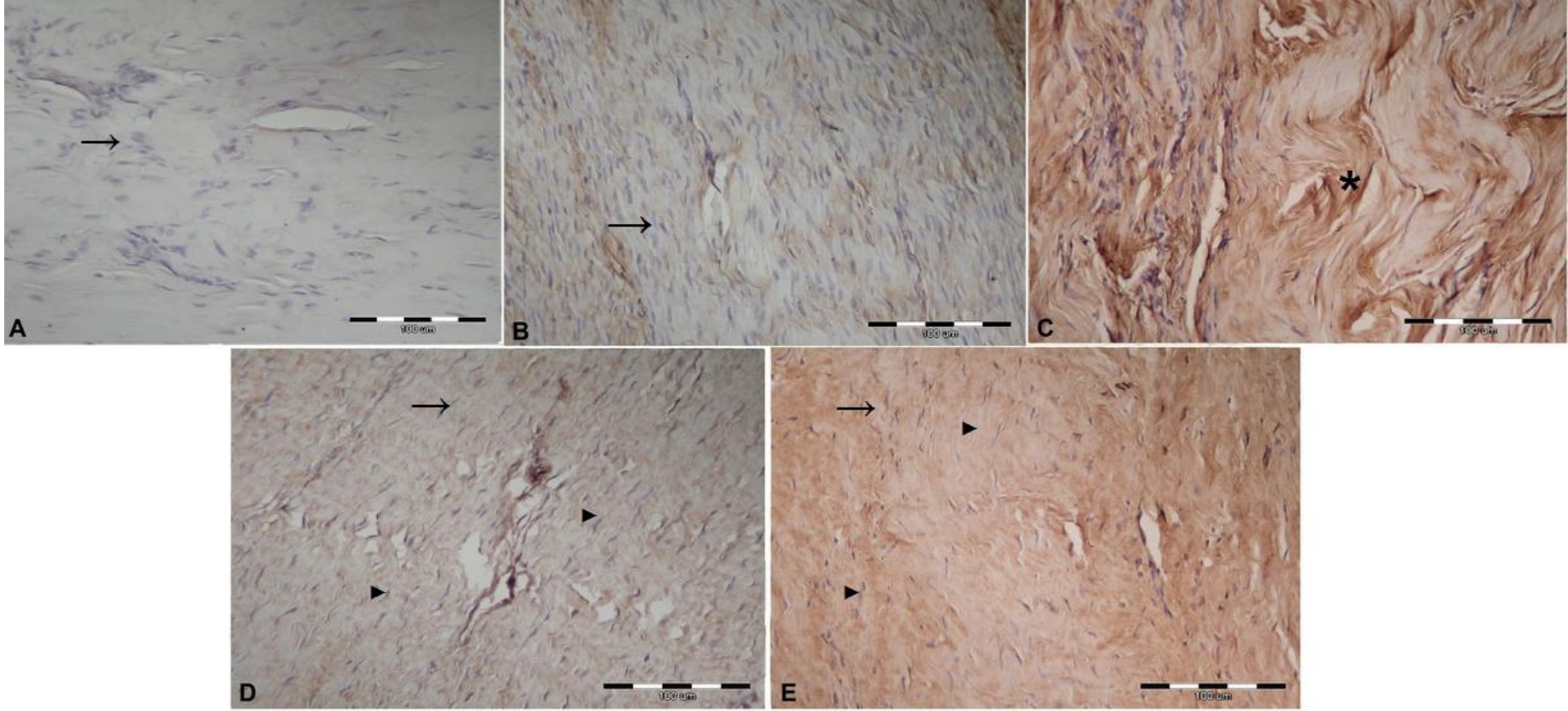
Ayrıca; TI+PMA grubu ile TI karşılaştırıldığında herhangi bir fark gözlenmezken, TI+ESWT grubunda önemli derecede azalma ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p=0,008$). TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait işaretleme yoğunluğu karşılaştırıldığında TI+ESWT grubunda azalma olduğu gözlenmiştir ($p=0,008$).

Çizelge 4.5. Gruplara ait Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) işaretleme yoğunluğu

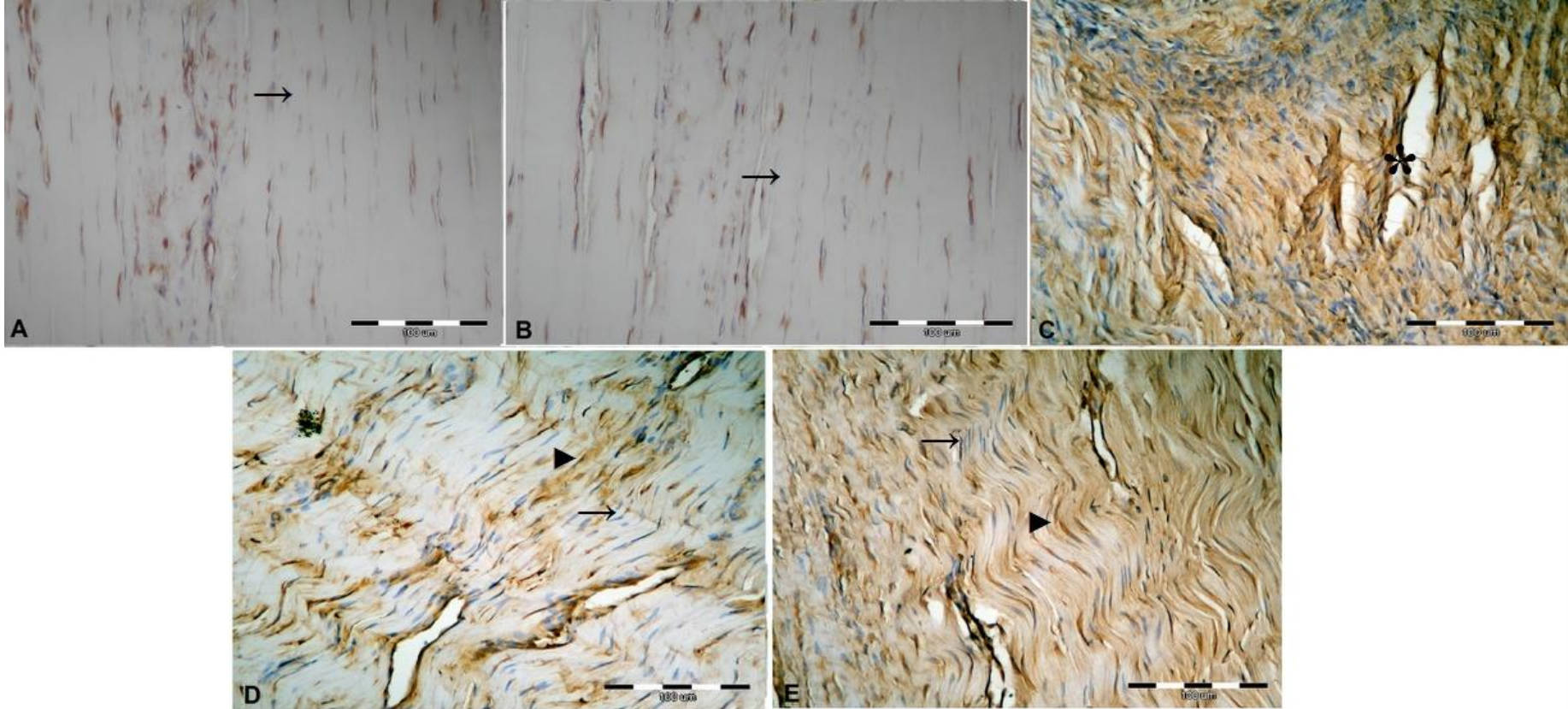
VEGF	K	SH	TI	TI+ESWT	TI+PMA
Hiç İşaretleme Yok (0)	-	% 20 (N=1)	-	-	-
Yer Yer İşaretlenme Var (1)	% 100 (N=5)	% 80 (N=4)	-	% 60 (N=3)	-
Orta Düzeyde İşaretlenme Var (2)	-	-	-	% 40 (N=2)	% 20 (N=1)
Kuvvetli İşaretlenme Var (3)	-	-	% 100 (N=5)	-	% 80 (N=4)

Çizelge 4.6. Gruplara ait Endotelial Nitrik Oksit Sentetaz (eNOS) işaretleme yoğunluğu

eNOS	K	SH	TI	TI+ESWT	TI+PMA
Hiç İşaretleme Yok (0)	-	%20 (N=1)	-	-	-
Yer Yer İşaretlenme Var (1)	% 100 (N=5)	% 80 (N=4)	-	-	-
Orta Düzeyde İşaretlenme Var (2)	-	-	-	% 100 (N=5)	-
Kuvvetli İşaretlenme Var (3)	-	-	% 100 (N=5)	-	% 100 (N=5)



Şekil 4.14. A) K grubu, B) SH grubu, C) TI grubu, D) TI+ESWT grubu, E) TI+PMA grubu. Gruplara ait kollajen lif organizasyonu ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF) işaretleme yoğunluğu (* Fibröz doku yoğunluğu, → Homojen kollajen lifler, Hücresellik, ▶ Fibröz doku azalması) (x600).



Şekil 4.15. A) K grubu, B) SH grubu, C) TI grubu, D) TI+ESWT grubu, E) TI+PMA grubu. Gruplara ait kollajen lif organizasyonu ve Endotelial Nitrik Oksit Sentetaz (eNOS) işaretleme yoğunluğu (* Yoğun damarlanma, → Homojen Kollajen lifler, Hüresellik, ▶ Az damarlanma) (x600).

5. TARTIŞMA

Tendonlarda iyileşme mekanizmasını ve bazı tedavi yöntemlerinin etkinliğini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalarda genellikle deneysel tendon hasarı oluşturulmuş hayvan modelleri kullanılmaktadır. Klinikte ise hasarlı tendonu, doğrudan etkili olan ve minimum travma oluşturacak farklı dikiş yöntemleri (11, 144, 146, 152) ile onandıktan sonra iyileştirmek amacıyla ESWT kullanılmaktadır. ESWT uzun süre kaynamayan kırıklarda (91-95), kalsifiye omuz tendonitlerinde (96-99), dirsek lateral epikodilitlerde (100-103), plantar fasit (ayak tabanında plantar fasiadaki ince doku inflamasyonu (104)) (105-108) ve aşil tendonitlerinde (109-115) tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır.

Tendon hastalıkları ve hasarların tedavisinde kullanılan ESWT'nin uygulama dozu ve süresi ile ilgili net bir bilgi bulunmamaktadır. Dokular üzerinde zararlı etkiler oluşturmadan uygulanacak enerji düzeyleri üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. ESWT'nin olumsuz etkileri; yüksek enerji düzeyleri ve atım sayılarıyla ilişkilendirilmiştir. Klinik çalışmaların metaanaliz sonuçları ESWT'nin düşük dozlarda tendon iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermiştir (118, 153, 154) Maier ve ark. klinik çalışmalarda kullanılacak enerji akış yoğunluğunun $0,5 \text{ mJ/mm}^2$ den daha az olması gerektiğini bildirmişlerdir (83). Deneysel çalışmalar ESWT'nin ekstrasinovyal bir tendon olan aşil tendonu üzerine etkili olduğunu göstermiştir. Rompe ve ark. (118), enerji akış yoğunluğu $0,28 \text{ mJ/mm}^2$ değerine kadar tendon ve komşu dokularda önemli derecede hasar oluşturmadığını, Wang ve ark. (155) aşil tendon-kemik bileşkesine düşük enerjili şok dalgaları ($0,12 \text{ mJ/mm}^2$ ve 500 şok) uygulandığında, yeni damar oluşumunu hızlandırdığını, Orhan ve ark. (86); atım enerji yoğunluğu $0,15 \text{ mJ/mm}^2$ -1000 atım, $0,15 \text{ mJ/mm}^2$ -1500 aralıklarında histopatolojik değişikliklere rastlanmadığını bildirmişlerdir. Chao ve ark. (121) düşük atım ve enerji düzeylerinin (50 ve 100 atım, $0,36 \text{ mJ/mm}^2$) aşil tendonlarının primer tenosit kültürlerinde pozitif uyarıcı etki, buna karşı yüksek atım ve enerji düzeylerinde (250 ve 500 atımlı $0,68 \text{ mJ/mm}^2$) önemli derecede inhibitör etki oluşturduğunu, Berta ve ark. (156), yoğunluğu $0,22 \text{ mJ/mm}^2$ enerjiyi insan fibroblast hücre kültürlerine uyguladıklarında 6. günden 9. güne kadar hücre çoğalmasının arttığını bildirmişlerdir. Vetrano ve ark. (153), insan semitendinous tendon biyopsileriyle elde edilmiş tenosit kültürlerinde enerji düzeyi $0,14 \text{ mJ/mm}^2$ olan 1000 atımlık ekstrakorporeal şok dalga tedavisinin (1-12 günlük süreçte) hücre gelişimi ve kollajen sentezini arttırdığını

gözlemişlerdir. Rompe ve ark. (118), Perlick ve ark. (102), Wang ve ark. (155), Orhan ve ark. (87)'nin yapmış oldukları ESWT'nin tendon iyileşmesi üzerine etkileri ile ilişkili deneysel ve klinik çalışmalarda düşük doz ESWT'nin tendonlar üzerinde olumlu bir etkisinin olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmalar sonucunda ESWT'nin düşük dozlarda tendon üzerinde olumlu etkileri olduğu ayrıca, hayvan modellerinde ve insanlarda kas-iskelet sistemi hastalıklarında riskli olan cerrahi uygulamanın aksine iyileşmeye etkili, komplikasyonun minimum dokularında güvenle uygulanabilen non-invaziv bir tedavi yöntemi olduğu yönünde fikir birliğine varmışlardır (91,157).

Birçok farklı modellerde PMA'nın yumuşak dokuların iyileşmesini etkilediği yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Frank ve ark. ve Lin ve ark. yaptıkları tavşan çalışmalarında PMA'nın ligamentlerde kollajen bileşimini, kopma kuvvetini ve deneysel hasarın olgunlaşmasını arttırdığını bildirmişlerdir (158). Greenough CG. pulslu manyetik alanların kulak çemberindeki kan damarlarının gelişmesi üzerine etkilerini üç dalga şekli uygulayarak araştırmış çalışmanın sonucunda, pulslu manyetik alanın doku iyileşmesinde gözlenen bazı etkilerinin, vasküler büyümenin etkilenmesinde aracı olabileceğini bildirmişlerdir (158). Binder ve ark. süregelen rotator cuff tendiniti (Omuz Manşet Kaslarının iltihabı) olan 29 vaka üzerinde yaptıkları klinik bir çalışmada, 29 hastanın 19'da belirtilerde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda PMA tedavisinin rotator cuff ve diğer kronik tendon lezyonlarının tedavisinde yararlı olabileceği sonucuna varmışlardır (159).

Frank ve ark. (160) yaptıkları bir çalışmada, çok düşük frekanslı manyetik alan kullanarak cerrahi onarım sonrası 3 haftalık süreçte ligament iyileşmesinde artış tespit etmişlerdir. Aynı zamanda pulslu manyetik alana (PMA) maruz kalan dokuların kollajen içeriğinde ve kopma kuvvetinde artış, sertlikte düzelme tespit etmişlerdir (160). Lin ve ark. (161) tavşan ligament iyileşmesinde PMA'nın etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, PMA'nın ilk evrelerde iyileşmeyi hızlandırdığı, farklı alan şiddetleri deneyerek en etkili uygulamanın 15 Hz ve 50 Gauss olduğunu saptamışlardır. Tendon hasarlanmasından sonra uygulanan 10 Hz, 50 Gauss'luk manyetik alanın erken yenilenmeyi destekleyici ve uygulanan her şiddette gerilme kuvvetlerinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir (161). Lee ve ark. 17 Hz, 50 Hz ve 46 Hz PMA dalgalarının rat aşıl tendonlarında deneysel inflamasyonlar üzerine etkilerini araştırmışlardır. 17 Hz PMA, diğer gruplara göre inflamasyonun daha fazla azalmasına, daha iyi kollajen oluşumu sağlayarak tendonun histolojik normalitesine daha hızlı dönmesine sebep

olduğunu göstermişlerdir (79). Strauch ve ark. PMA'nın sıçan aşıl tendonlarının biyomekanik kuvvetleri üzerine etkilerini transeksiyon (enine kesme) ve onarımından 3 hafta sonra incelemişler onarılan bölgedeki gerilme (tensile) kuvvetlerinde belirgin bir artış ve doku iyileşmesinde yeri olan büyüme faktörlerinde Ca^{++} bağlanmasını artırdığını tespit etmişlerdir (82). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile bu çalışma uyumludur.

Yapılan hayvan deneylerinin dışında hücre kültürü çalışmalarında da PMA'nın tendon hücre bileşimi (fibroblast, tenosit..) ve tendonun dayanıklılığında önemli rolü olan kollajen bileşimi üzerine etkileri araştırılmıştır (162, 163, 164). Denaro V. ve ark.'nın insan tendonu tenosit hücrelerinde 0,4 mT şiddette ve 50 Hz frekanstaki PMA'nın etkilerini araştırdıkları çalışmada PMA'nın kollajen ile tenosit büyümesi üzerine etkili olmadığını bildirmişlerdir (163). Lee ve ark. fibroblast kültüründe yaptıkları çalışmada PMA'nın kollajen sentezini arttırdığını göstermişlerdir (129).

Murray JC. ve Farndale RW, tavuk tendon fibroblastları üzerine uygulanan değişik periyotlarda düşük frekanslı pulslu manyetik alanın protein ve kollajen sentezi üzerine etkilerini incelemişler, PMA uygulanmış hücrelerde total protein sentezinin arttığı, buna karşılık 6 gün uygulanmış kültürlerde kollajen birikimi total proteine göre daha fazla olduğunu görmüşlerdir. Bu sonuçlar, pulslu manyetik alanın kollajen üretimini arttırabileceğini göstermiştir (162). Ahmadian ve ark. 25, 50 ve 100 Hz frekanslarda PMA'nın rat derilerindeki kollajen sentezi üzerine etkilerini incelemişler, 25 Hz, 2 mT şiddetindeki manyetik alanın kollajen sentezini artırdığını, diğer şiddet ve frekanslarda önemli bir etkisinin olmadığını, 25 Hz, 4 mT şiddetindeki manyetik alanın kollajen artışına neden olduğunu göstermişlerdir (164).

Yukarıda belirtildiği gibi PMA'nın tendon iyileşmesi üzerine etkileri ile ilişkili farklı uygulama prosedürleri içeren çeşitli deneysel çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda farklı şiddet, frekans, puls ve uygulama sürelerinde uygulanan PMA'ların tendon iyileşmesi üzerine etkileri birbirinden farklı sonuçları içermektedir. Son yıllarda çeşitli dozlarda yapılan araştırma sonuçlarına göre tendon iyileşmesinde PMA'nın etkin bir değerinin bulunmadığı bildirilmektedir. Bununla birlikte bu çalışmalarda genellikle 2 mT ve altındaki manyetik alan şiddetlerinin kullanıldığı dikkati çekmektedir. Ayrıca, Uluslararası Non-İyonize Radyasyondan Korunma Komisyonu (ICNIRP) ve Amerika Hijyenistleri Derneği (ACGIH) günlük hayatta manyetik alana maruziyeti için 1 mT alan şiddetini üst sınır olarak belirlemiştir. Aynı zamanda Avrupa birliği de (EU) 1 mT

alan şiddetini insan sağlığı açısından güvenli üst sınır olarak tanımlamıştır (46). Bu çalışmadan önce yaptığımız ön çalışmada; tendon doku kültürüne daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınarak belirlenen farklı şiddet, frekans ve puls sürelerinde uygulanan PMA'ların tendon iyileşmesinde biyomekanik olarak en etkin değerinin 15 Hz, 260 µs, 1 mT şiddetindeki PMA olduğu gözlemlendi (165). Bu nedenle bu çalışmada frekans 15 Hz, süre 260 µs ve alan şiddeti 1 mT olarak belirlendi. Bu çalışmada, deneysel hasarlanmış tavşan aşıl tendonu klinikte uygulanan dikiş tekniği ile onarıldıktan sonra PMA'nın iyileşmeye etkisi araştırılmış ve klinikte yaygın olarak kullanılan ESWT ile karşılaştırılmıştır. Gruplar Biyomekanik ve Histolojik olmak üzere iki ana gruba her grupta K, SH, TI, TI+ESWT, TI+PMA olmak üzere beş alt gruba ayrılmıştır.

ESWT grubuna 28 gün (4 hafta) haftada bir doz olacak şekilde toplam 3 doz (1.doz: 3 bar, 15 Hz, 300 atım, 2.doz: 5 bar, 15 Hz, 500 atım, 3.doz: 5 bar, 15 Hz, 500 atım) ESWT, PMA grubuna ise 28 gün (4 hafta), günde 1 saat, 15 Hz, 260 µs süreli 1 mT şiddetinde PMA uygulandı. ESWT ve PMA'nın tendon esnekliği, kalitesi ve dayanıklılığı üzerindeki etkileri biyomekanik yöntemle araştırıldı. Neovaskülarizasyonu doğrulamak amacıyla endotelial anjiyojenik markerlar olan damar endotelial büyüme faktörü (VEGF), endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve endotel hücre çoğalmasını göstermek amacıyla da PCNA (Proliferatif Hücre Çekirdek Antijeni) immünohistokimyasal olarak belirlendi. Tendon iyileşmesi biyomekanik parametreler açısından değerlendirildi. Sonuçlar histolojik ve immünohistokimyasal verilerle desteklendi.

Çalışmada ESWT ve PMA'nın aşıl tendon iyileşmesi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla ESWT ve PMA grupları SH ve TI grupları ile Aşıl tendon iyileşmesi üzerine hangi yöntemin daha etkili olduğunu göstermek amacıyla da TI+PMA ve TI+ESWT grupları karşılaştırıldı.

Çalışma kapsamında tüm gruplara ait tavşanların vücut kütleleri 28 gün (4 hafta) boyunca her hafta ölçülmüş olup, grupların kütle ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Çizelge 4.1, Şekil 4.1). Ayrıca immobilizasyon uygulanan TI, TI+ESWT ve TI+PMA grupları ile K ve SH gruplarına ait haftalık kütle ortalamaları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar immobilizasyonun vücut kütlelerini etkilemediğini göstermektedir. Bütün gruplara ait tavşanların aynı ebatlarda ve hareketlerini kısıtlayan kafeslerde

barındırılmış olması tendon hasarı sonrasında uygulanan tedavi ve immobilizasyon yönteminin tavşanların kütle ortalamalarının etkilenmemesine neden olmuştur. Tendon hasarının oluşup oluşmadığını oluşan hasarın tedavisinde PMA ve ESWT'nin etkili olup olmadığını gözlemek için çalışma sonunda izole edilen aşil tendonlarına ait kütle ortalamaları ölçülmüştür. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda TI, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait aşil tendon kütle ortalamaları sırasıyla K grubuna göre önemli derecede arttığı saptanmıştır ($p<0,05$), ($p<0,001$), ($p<0,0001$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.2). Ayrıca, TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait aşil tendon kütle ortalamaları SH grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu ($p<0,05$) ($p<0,001$), TI grubu ile karşılaştırıldığında gözlenen artışın anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.2). Bu sonuçlar hasarlı ve tedavi gören grupların aşil tendon kütlelerinin arttığının göstergesidir. Hasarlı bölgede hızlı proliferasyona bağlı kollajen, proteoglikanlar ve diğer ekstrasellüler matriks bileşenlerinin sentezinin artması, tamir edilen dokunun hücresel açıdan zengin olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Grupların geometrik parametreleri incelendiğinde deney grupları kontrole göre, tedavi grupları TI grubuna göre artmıştır. Bu sonuçlarda hasarlı bölgede hücresel göçün ve dokulaşmanın olduğunu göstermektedir. Bunun yanında TI+PMA ve TI+ESWT gruplarına ait tendon kütleleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.2). Bu sonuç ESWT ve PMA'nın aşil tendon ağırlığını aynı derecede etkilediğini göstermektedir. Tedavi yöntemlerinden ESWT ve PMA'nın hücre göçünü etkileyerek yara bölgesinde proliferasyonu ve dokulaşmayı arttırdığı söylenebilir.

Biyomekanik analizlerde; bütün gruplara ait tendonların kalite ve dayanıklılığını belirleyen yapısal özellikler ile tendonun yapısal bütünlüğünü belirleyen materyal özellikleri belirlenmiştir. Bu çalışmada öncelikle tendonda hasarın oluşup oluşmadığını belirlemek amacıyla TI grubu ile K ve SH grupları karşılaştırılmıştır. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda TI grubuna ait maksimum kopma kuvveti, sertlik, kopuncaya kadar depolanan enerji, esneklik katsayısı (young modülü), dayanıklılık, maksimum çekme dayanımı (maksimum stres) ortalamalarının K ve SH grubuna göre önemli derecede azaldığı saptanmıştır (Çizelge 4.4, Şekil 4.6-4.13). Bununla birlikte maksimum strain ve maksimum deformasyonda değişim olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.12, 4.13). Bu sonuçlara göre dokunun yapısal bütünlüğünü en iyi yansıtan maksimum kopma kuvveti ile dokunun

yapısal özelliklerini belirleyen; tendonun kalitesi, dayanıklılığı (gücü) ile ilişkili olan maksimum deformasyon miktarı, sertlik ve depolanan enerjinin azalması hasarlı tendonların normal tendonlara göre daha güçsüz ve uygulanan yüke karşı gösterdiğini direncin önemli derecede azaldığını ve tendon bütünlüğünün mekanik açıdan bozulduğu söyleyebiliriz. Damarlanma markerları olan VEGF ve eNOS'un İmmünohistokimyasal yöntemle yapılan TI grubu işaretleme yoğunluğu kontrol gruplarına göre arttığı gözlemlendi (Çizelge 4.5, 4.6). İmmünohistokimyasal görüntüler incelendiğinde; Kontrol gruplarında hücresellik ve kollajen lifleri hem homojen dağılımlı hemde paralel dizilimli iken TI grubunda hücresellik azaldığı (belirli bölgelerde hücre birikimi mevcut), düzensizleştiği ve kollajen liflerinin organizasyonunun bozulduğu ayrıca hasar durumunda ortaya çıkan fibröz dokunun arttığı gözlemlendi (Şekil 4.14, 4.15). Geometrik bulgular, biyomekanik ve histolojik sonuçlar tendona uygulanan hasar yönteminin başarılı bir şekilde oluştuğunu göstermektedir.

PMA'nın tendon iyileşmesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla TI ve TI+PMA grupları karşılaştırılmıştır. TI+PMA grubuna ait tendonun yapısal özelliklerini yansıtan; maksimum kopma kuvveti ve materyal özelliklerini yansıtan; dayanıklılık, maksimum çekme dayanımı (maksimum stres) TI grubuna göre önemli derecede artmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.6, 4.10, 4.11). Bu sonuçlara göre PMA'nın tendonun genel bütünlüğünün ve yapısal özelliklerinin daha iyi, kopmalara karşı daha dirençli ve esneme (deformasyon) yeteneğinin daha yüksek olmasına katkı sağladığı söylenebilir. Ayrıca PMA tendonun materyal özelliklerini belirleyen biyomekanik parametreleri daha çok etkilenmiştir. Bu sonuca göre PMA'nın tendonun genel bütünlüğünü yansıtan kollajen organizasyonu ve fibrillerin devamlılığına etkili olduğunu ve tendonda intrinsik iyileşme sağladığı söylenebilir. Damarlanma markerları olan VEGF ve eNOS' n İmmünohistokimyasal yöntemle yapılan TI+PMA grubu işaretleme yoğunluğu TI grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. (Çizelge 4.5, 4.6). İmmünohistokimyasal görüntüler incelendiğinde; TI+PMA grubunda TI grubuna göre fibröz dokunun azaldığı ve kollajen liflerinin homojenliğinin yeniden sağlandığı ve kollajen organizasyonunun daha düzenli olduğu görülmektedir (Şekil 4.14, 4.15). Bu sonuçlara göre PMA'nın uzun dönemde yani yeniden şekillenme fazında etkili olabileceğini söyleyebiliriz.

ESWT'nin tendon iyileşmesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla, TI+ESWT grubu ile TI grubu karşılaştırılmıştır. TI+ESWT grubuna ait tendonun

yapısal özelliklerini yansıtan; maksimum kopma kuvveti önemli derecede arttığı gözlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.6). Sertlik, kopuncaya kadar depolanan enerji, esneklik katsayısı (young modülü), dayanıklılık, maksimum çekme dayanımı (maksimum stres), maksimum strain, maksimum deformasyon parametrelerinin arttığı fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.7-4.13). Damarlanma markerları olan VEGF ve eNOS'un İmmünohistokimyasal yöntemle yapılan TI+ESWT grubu işaretleme yoğunluğu TI grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlendi (Çizelge 4.5, 4.6). TI grubuna göre ESWT gruplarında fibrözis dokunun azaldığı ve kollajen liflerinin homojenliğinin yeniden sağlandığı gözlendi (Şekil 4.14, 4.15). Bu sonuçlara göre ESWT'nin erken iyileşme döneminde yani proliferasyon fazında iyileşmeye etkili olduğunu söyleyebiliriz.

Klinikte yaygın olarak kullanılan ESWT'nin tendon iyileşmesi üzerine etkilerini araştıran çok sayıda klinik ve deneysel hayvan çalışmaları bulunmaktadır. Bu çalışmada ESWT'nin etkileri ile PMA'nın etkilerini karşılaştırmak PMA'nın klinikte kullanılabilirliği göstermek amacıyla TI+ESWT ve TI+PMA grupları karşılaştırılmıştır. TI+PMA grubuna ait maksimum çekme dayanımı (maksimum stres) TI+ESWT grubuna göre önemli derecede artmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.11). Kopuncaya kadar depolanan enerji, dayanıklılık, maksimum çekme dayanımı (maksimum stres), maksimum strain ve maksimum deformasyonda artış, sertlik ve young modülünde azalma gözlendi (Çizelge 4.4, Şekil 4.8, 4.10-4.13). Fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi (Çizelge 4.4, Şekil 4.7). Ayrıca tendonun yapısal bütünlüğünü yansıtan en önemli parametrelerden biri olan maksimum kopma kuvveti birbirine çok yakın değerlerde olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (Çizelge 4.4, Şekil 4.6). Bu sonuçlar klinikte tendon iyileşmesinde ve tendon hastalıkları tedavisinde kullanılan ESWT'nin iyileşmeye olumlu ve iyileşmeyi hızlandırıcı etkileri olduğunu ve PMA ile benzer etkiler gösterdiğini ancak ESWT grubundaki tendonların PMA grubuna göre daha sert olduğunu göstermektedir. Damarlanma markerları olan VEGF ve eNOS'un İmmünohistokimyasal yöntemle yapılan TI+PMA grubu işaretleme yoğunluğu TI+ESWT grubuna göre anlamlı olarak arttığı gözlendi (Çizelge 4.5, 4.6). Bu sonuçlara göre ESWT'nin erken iyileşme döneminde yani proliferasyon fazında, PMA'nın ise uzun dönemde yani yeniden şekillenme fazında etkili olduğu söylenebilir.

Bu çalışmada kullandığımız PMA'nın klinikte hasarlı tendon tedavisinde kullanılan ESWT ile benzer etkileri göstermesi ağrısız ve kısa süreli olması nedeniyle

ileriki zamanlarda PMA'nın klinikte kullanılabileceği ayrıca erken iyileşme döneminde (proliferasyon fazında) etkili olan ESWT tedavisini takiben uzun dönemde (yeniden şekillenme fazında) etkili olan PMA'nın uygulanmasının iyileşme üzerine daha etkili olabileceği düşünölmektedir. Bu amaçla tendon iyileşmesinde her iki yöntemin birlikte kullanıldığı deneysel çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmada, deneysel olarak hasarlanmış tavşan aşil tendonunda 15 Hz frekans, 260 µs puls süresi ve 1 mT şiddetinde PMA'nın ve klinikte tendon iyileşmesinde yaygın olarak kullanılan ESWT'nin (28 günde 3 Doz: 1; 3 bar, 15 Hz, 300 atım, 2; 5 bar, 15 Hz, 500 atım, 3; 5 bar, 15 Hz, 500 atım) tendon iyileşmesi ve tendon yapısı, iyileşme kalitesi, esnekliği, dayanıklılığı üzerindeki etkileri biyomekanik açıdan değerlendirilmiştir. Ayrıca sonuçlar, histolojik ve immünohistokimyasal analizlerle desteklenmiştir. Bu çalışma PMA ve ESWT'nin aşil tendon iyileşmesi üzerine etkileri konusunda literatüre katkı sağlamak açısından ve PMA uygulamasının ağrısız ve kısa süreli olması nedeniyle klinikte ESWT kadar yaygın ve etkin bir biçimde kullanılmasını sağlamak açısından önemlidir.

Deneysel çalışmamızda elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde;

1. PMA'nın deneysel tendon hasarı oluşturulmuş tavşanlarda tendon biyomekanik özellikleri (yapısal ve materyal özellikler) üzerine olumlu etkileri olduğu saptanmıştır. Bu nedenle, 15 Hz frekanslı ve 1 mT şiddetindeki PMA'nın tendon iyileşmesinde ve tendon hasarı oluşturan durumlarda kullanılabileceği söylenebilir. PMA'nın ESWT ile karşılaştırılması sonucunda biyomekanik parametrelerin benzer olduğunu ayrıca ESWT ile PMA'nın iyileşmeye aynı düzeyde etkili olduğu ve alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı.
2. PMA'nın etki mekanizmasının tam olarak aydınlatılması için kollajen sentezinde önemli rol oynayan biyokimyasal ajanların analizi (hidroksiprolin, prolin...), çeşitli büyüme faktörleri üzerine etkileri ve hücre proliferasyonunda görevli mekanizmanın belirlenmesi konusunda çalışmaların yapılması önerilir.
3. Tavşan aşil tendonları çok büyük gerim kuvvetlerine dayanabildiği halde hasarlı tendonun iyileşmesi sırasında aşil tendon üzerine binen yükün en aza indirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle literatürde yer alan ve klinikte uygulanan alçı ile immobilizasyonun gerekli olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada klasik yöntemin tavşan deneylerine uygun olmadığını, tavşan aşil tendonu ile yapılacak çalışmalarda sentetik alçı veya normal alçı yerine atel biçiminde, sadece flaster ile yapıştırılan modifiye ettiğimiz yöntemin kullanılmasının daha uygun olacağı önerilir.

7.KAYNAKLAR

1. **O'Brien M.** Functional anatomy and physiology of tendons. *Clin Sports Med*, **1992**; 11(3):505-520.
2. **Lin TW, Cardenas L, Soslowky LJ.** Biomechanics of tendon injury and repair. *J Biomech*, **2004**;37(6):865-877.
3. **O'Brien M.** Structure and metabolism of tendons, *Scand J Med Sci Sports*, **1997**;7(2):55-61.
4. **O'Brien M.** The Anatomy of Achilles Tendon. *Foot Ankle Clinics*, **2005**;10(2):225-238.
5. **Adanaş C.** Tendon Pencere Defekti Modelinde Allojenik Mezenkimal Kök Hücre Uygulaması (Deneyisel Çalışma). Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, İzmir, **2009**.
6. **Yamamoto E, Hata D, Kobayashi A, Ueda H, Tangkawattana P, Oikawa M, Takehana K.** Effect of Beta-aminopropionitrile and Hyaluronic Acid on Repair of Collagenase-induced Injury of the Rabbit Achilles Tendon. *J. Comp. Path*, **2002**;126(2-3):161-170.
7. **Strick MJ, Filan SL, Hile M, McKenzie C, Walsh WR, Michael A, Tonkin MA.** Adhesion formation after flexor tendon repair: a histologic and biomechanical comparison of 2- and 4-strand repairs in a chicken model. *The Journal of Hand Surgery*, **2004**;29(1):15-21.
8. **Egemen O, Ozkaya O, Ozturk MB, Sen E, Akan M, Sakiz D, Aygit C.** The Biomechanical and Histological Effects of Diabetes on Tendon Healing: Experimental Study in Rats. *J Hand Microsurg*, **2012**;4(2):60-64.
9. **Fu C, Qu W.** Acute Achilles tendon rupture: Mini-incision repair with double-Tsuge loop suture vs. open repair with modified Kessler suture. **2014**; doi: 10.1016/j.surge.2014.03.010.
10. **Murrell GA, Lilly EG, Collins A, Seaber AV, Goldner RD, Best TM.** Achilles tendon injuries: a comparison of surgical repair versus no repair in a rat model. *Foot Ankle*, **1993**;14(7):400-406.
11. **Jielile J, Bai JP, Sabirhazi G, Redat D, Yilihamu T, Xinlin B, Hu G, Tang B, Liang B, Sun Q.** Factors influencing the tensile strength of repaired Achilles tendon: A biomechanical experiment study. *Clinical Biomechanics*, **2010**;25(10):789-795.
12. **Rompe JD.** Shock Wave Applications in Musculoskeletal Disorders. 1th Ed., Germany-Tübingen: Thieme by Gulde Druck, **2002**.
13. **Apaydın N, Ünlü S, Bozkurt M, Doral MN.** Functional anatomy and biomechanical aspects of the Achilles tendon. *TOTBİD Dergisi*, **2011**;10(1):61-68.

14. **Kachlik D, Musil V, Vasko S, Klaue K, Stingl J, Baca V.** Calcaneus, calcaneal tendon and retrocalcaneal bursa. Historical overview and plea for an accurate terminology. *Acta Chir Belg*, **2010**;110(2):255-260.

15. **Coomb RR, Klenerman L, Narcisi P, Nichols A, Pope FM.** Collagen typing in achilles tendon rupture. In proceedings of British Orthopaedic Research Society. *J Bone Joint Surg*, **1980**; B2(62):258.

16. **James H, Wang C.** Mechanobiology of tendon. *Journal of Biomechanics*. **2006**;39(2006): 1563–1582.

17. **Junquera LC, Contrapalos C.** EM of collagen and crossstriations. In: *Basic histology* 8rd edition. Los Altos, CA: Lange, 1995:88-117.

18. **James R, Kesturu G, Balian G, Chhabra AB.** Tendon: Biology, Biomechanics, Repair, Growth Factors, and Evolving Treatment Options. *J Hand Surg Am*, 2008;33(1):102-112.

19. **Jozsa L, Kannus P.** Human Tendons: Anatomy, Physiology, and Pathology. Human Kinetics, Champaign, IL. **1997**

20. **Lin TW, Cardenas L, Soslowsky L J.** Biomechanics of tendon injury and repair. *J Biomech*, **2004**;37(2004):865-877.

21. **Sharma P, Maffulli N.** Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *J Bone Joint Surg Am*, **2005**;87(1):187-202.

22. **Luscombe KL, Sharma P, Maffulli N.** Achilles tendinopathy. *Trauma*, **2003**;(5):215-225.

23. **Aparecida de Aro A, Vidal BC, Pimentel ER.** Biochemical and Anisotropical Properties of Tendons. *Micron*, **2012**;43(2-3):205–214.

24. **Goodman HJ, Choueka J.** Biomechanics of the Flexor Tendons. *Hand Clin*, **2005**;21(2):129–149.

25. **Buckwalter JA, Hunziker EB.** Healing of bones, cartilages, tendons, and ligaments: a new era. *Orthopaedic Lancet*, **1996**;348(2):18.

26. **Aslan H, Kimelman-Bleich N, Pelled G, Gazit D.** Molecular targets for tendon neof ormation. *J Clin Invest*, **2008**;118(2):439–444.

27. **Nordin M, Frankel VH.** Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System; Biomechanics Of Tendons And Ligaments. 3rd , Edition, USA: Lippincott Williams & Wilkins, **2001**:102-125.

28. **Woo SL, Debski RE, Zeminski J, Abramowitch SD, Saw SS, Fenwick JA.** Injury and repair of ligaments and tendons. *Annu Rev Biomed Eng*, **2000**;2:83–118.

29. **Wenstrup RJ, Florer JB, Cole WG, Willing MC, Birk DE.** Reduced type I collagen utilization: a pathogenic mechanism in COL5A1 haplo-insufficient Ehlers-Danlos syndrome. *J Cell Biochem*, **2004**;92:113–124.
30. **Karahan M, Erol B.** Asil Tendon Yarıktıklarına Yaklaşım. *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi*, **2004**;3(1-2):1-12
31. **Kuran FD,** Aşıl Tendon Kopmalarında Hiperbarik Oksijen Uygulamalarının Tendon İyileşmesi Üzerindeki Etkileri (Deneysel Çalışma), Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, İzmir, **2009**.
32. **Magaranis CN, Narici VN,** Biomechanics of Achilles Tendon, The Achilles Tendon, Maffulli N, Almekinders CL, Springer, Verlag-London, **2007**;17-25.
33. **Constantinos N, Marco M, Narici V, Nicola Maffulli N.** Biomechanics of the Achilles tendon, *Disability and Rehabilitation*, **2008**;30(20–22):1542–1547.
34. **James H-Wang C, Guo Q, Li B.** Tendon biomechanics and mechanobiology-a mini review of basic concepts and recent advancements, *J Hand Ther*, **2012**;25(2):133-140
35. **Santiago Reis AGM, Arantes Baccarin RY.** The cross-sectional area of the superficial digital flexor tendon of trained and untrained Thoroughbred racehorses, *Ciência Rura, Santa Maria*, **2010**;40(8):1786-1790.
36. **Magnusson SP, Beyer N, Abrahamsen H, Aagaard P, Neergaard K, Kjaer M.** Increased cross-sectional area and reduced tensile stress of the achilles tendon in elderly compared with young women. *Journal of Gerontology: Biological Sciences*, **2003**;58A(2):123–127.
37. **Kasashima Y, Smith RKW, Birch HL, Takahashi T, Kusano K, Goodship AE.** Exercise-induced tendon hypertrophy: cross-sectional area changes during growth are influenced by exercise. *Equine vet. J., Suppl*, **2002**;34(2002):264-268.
38. **Noguchi M, Kitaura T, Ikoma K, Kusaka Y.** A method of in-vitro measurement of the cross-sectional area of soft tissues, using ultrasonography. *J Orthop Sci*, **2002**;7(2):247–251.
39. **Cummings SH, Grande DA, Hee CK, Kestler HK, Roden CM, Shah NV, Razzano P, Dines DM, Chahine NO, Dines JS.** Effect of recombinant human platelet-derived growth factor-BB-coated sutures on Achilles tendon healing in a rat model: A histological and biomechanical study. *Journal of Tissue Engineering*, **2012**;3(1):1-10
40. **Cui L, Maas M, Perreault EJ, Sandercock TG.** In situ estimation of tendon material properties: Differences between muscles of the feline hindlimb. *Journal of Biomechanics*, **2009**;42(2009):679–685.
41. **Brown SHM, Hentzen ER, Kwan A, Ward SR, Fridén J, Lieber RL.** Mechanical Strength of the Side-to-Side Versus Pulvertaft Weave Tendon Repair. *J Hand Surg Am*, **2010**;35(4):540–545.

42. **Ribeiro de Oliveiraa R, Bezerraa MA, Santos de Lirac KD, Novaesc KA, Teixeirad MFHBI, Chavese C de C, Arruda de Moraesa SR.** Aerobic physical training restores biomechanical properties of Achilles tendon in rats chemically induced to diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, **2012**;26(2012):163–168.
43. **Dines JS, Weber L, Razzano P, Prajapati R, Timmer M, Bowman S, Bonasser L, Dines DM, Grande DP.** The effect of growth differentiation factor-5-coated sutures on tendon repair in a rat model. *J Shoulder Elbow Surg*, **2007**;16(5S):215-221.
44. **Buschmann J, Müller A, Feldman K, Tervoort TA, Fessel G, Snedeker JG, Giovanoli P, Calcagni M.** Small hook thread (Quill) and soft felt internal splint to increase the primary repair strength of lacerated rabbit Achilles tendons: Biomechanical analysis and considerations for hand surgery. *Clinical Biomechanics*, **2011**;26(2011):626–631.
45. **Kesava Reddy G, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS.** Glycation-Induced Matrix Stability in the Rabbit Achilles Tendon. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **2002**;399(2):174–180.
46. **Gürgül S.** Pulsu elektromanyetik alanın deneysel osteoporoz modeli oluşturulmuş sıçanlarda kemik doku üzerindeki etkilerinin biyomekanik, biyokimyasal, dansitometrik ve histomorfolojik özellikler yönünden incelenmesi. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin, **2012**.
47. **Gürgül S.** Manyetik alanın kemik formasyonu üzerindeki etkilerinin biyomekanik özellikler yönünden incelenmesi. Yüksek lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin, **2005**.
48. **Öztuna V.** Ortopedi ve Travmatolojide Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri (Temel ilkeler, Etik unsurlar ve Modeller). *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi*, **2007**;6(1-2):1-9.
49. **Berger RA, Weiss APC, Hurley R, Lazar T, Carter K, McLaughlin MA, Auten HH, Sallwasser K, Yanovitch A.** Hand Surgery, 1st Edition, Philadelphia/USA, Walsworth Publishing Company **2004**.
50. **Montgomery RD.** Healing of muscle, ligaments, and tendons. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)*, **1989**;4(4):304–311.
51. **Goodship AE, Birch HL, Wilson AM.** The pathobiology and repair of tendon and ligament injury. *Vet Clin North Am Equine Pract*, **1994**;10(2):323–349.
52. **Ingraham JM, Hauck RM, Ehrlich HP.** Is the tendon embryogenesis process resurrected during tendon healing? *Plast Reconstr Surg*, **2003**;112(3):844–854.
53. **Sharma P, Maffulli N.** Basic biology of tendon injury and healing. *Surgeon*, **2005**;3(5):309–316
54. **Voleti PB, Buckley MR, Soslowsky LJ.** Tendon Healing: Repair and Regeneration. *Annu Rev Biomed Eng*, **2012**;14:47–71.

55. **Forslund C.** BMP treatment for improving tendon repair studies on rat and rabbit achilles tendons, Thesis 2002, *Acta Orthop Scand* (Supple 308), **2003**.
56. **Beredjiklian PK.** Biologic aspects of flexor tendon laceration and repair. *J Bone Joint Surg*, **2003**;85A(3):539–550.
57. Enoch S, Grey JE, Harding KG, ABC of wound healing Recent advances and emerging treatments, Erişim: <http://www.bmj.com/content/332/7547/962.full.pdf+html>, Erişim Tarihi: 19.08.2014
58. **Sharma P, Maffulli N.** Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, **2006**;6(2):181-190.
59. Robi K, Jakob N, Matevz K, Matjaz V. The Physiology of Sports Injuries and Repair Processes, Erişim: <http://www.intechopen.com/books/current-issues-in-sports-and-exercise-medicine>, Erişim tarihi: 19.08.2014.
60. **Maffulli N, Moller HD, Evans CH.** Tendon healing: can it be optimised? *Br J Sports Med*, **2002**;36(5):315–316.
61. **Strickland JW.** Flexor Tendon Acute injuries. Operative Hand Surgery [Green DP. Edt] (4 th ed). Churchill and Livingstone, New York. **1999**; 1851-1851.
62. **Khan RJ, Fick D, Keogh A, Crawford J, Brammar T, Parker M.** Treatment of Acute Achilles Tendon Ruptures: A Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *J Bone Joint Surg Am*, **2005**;87(10):2202-2210.
63. **Daniel K. Lee.** A preliminary study on the effects of acellular tissue graft augmentation in acute achilles tendon ruptures. *The Journal of Foot & Ankle Surgery*, **2008**;47(1):8–12.
64. **Khanna A, Friel M, Gougoulas N, Longo UG, Maffulli N.** Prevention of adhesions in surgery of the flexor tendons of the hand: what is the evidence? *British Medical Bulletin*, **2009**;90(1):85–109.
65. **Temiz A, Ozturk C, Bakunov A, Kara K, Kaleli T.** A new material for prevention of peritendinous fibrotic adhesions after tendon repair: oxidised regenerated cellulose (Interceed), an absorbable adhesion barrier. *International Orthopaedics (SICOT)*, **2008**;32(3):389-394.
66. **Szabo RM, Younger E.** Effects of indomethacin on adhesion formation after repair of zone II tendon lacerations in the rabbit. *J Hand Surg Am*, **1990**;15(3):480-483.
67. **Tan V, Nourbakhsh A, Capo J, Cottrell JA, Meyenhofer M, O'Connor JP.** Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on flexor tendon adhesion. *The Journal of Hand Surgery*, **2010**;35(6):941-947.

68. **Thomas SC, Jones LC, Hungerford DS.** Hyaluronic acid and its effect on postoperative adhesions in the rabbit flexor tendon: a preliminary look. *Clin Orthop*, **1986**;206:281-289.
69. **Akali A, Khan U, Khaw PT, McGrouther AD.** Decrease in adhesion formation by a single application of 5- fluorouracil after flexor tendon injury. *Plast Reconstr Surg*, **1999**;103(1):151-158.
70. **Ozgenel GY, Samli B, Ozcan M.** Effects of human amniotic fluid on peritendinous adhesion formation and tendon healing after flexor tendon surgery in rabbits. *J Hand Surg Am*, **2001**;26(2):332-339.
71. **Kapetonas G.** The effect of the local corticosteroids on the healing and biomechanical properties of the partially injured tendon. *Clin Orthop*, **1982**;163:170-179.
72. **Ketchum LD.** Effects of triamcinolone on tendon healing and function: a laboratory study. *Plastic and Reconstructive Surgery*, **1971**;47(5):471-482.
73. **Greenwald DP, Sharzer LA, Padawer J, Levenson SM, Seifter E.** Zone II flexor tendon repair: effects of vitamins A, E, β - carotene. *Journal of Surgical Research* **1990**;49(1):98-102.
74. **Chang J, Thunder R, Most D, Longaker MT, Lineaweaver WC.** Studies in flexor tendon wound healing: neutralizing antibody to TGF- beta 1 increases postoperative range of motion. *Plast Reconstr Surg*, **2000**;105(1):148-155.
75. **Gan BS, Huys S, Sherebrin MH, Scilley CG.** The effects of ultrasound treatment on flexor tendon healing in chicken limb. *The Journal of Hand Surgery [Br]*, **1995**; 20(6): 809-814.
76. **Larsen A, Kristensen G, Thorlacius-Ussing O, Oxlund H.** The influence of ultrasound on the mechanical properties of healing tendons in rabbits. *Acta Orthop*, **2005**;76(2):225-230.
77. **Enwemeka CS.** The effects of herapeutic ultrasound on tendon healing. A biomechanical study. *Am J Phys Med Rehabil*, **1989**;68(6):283-287.
78. **Enwemeka CS, Rodriguez O, Mendosa S.** The biomechanical effects of low-intensity ultrasound on healing tendons. *Ultrasound Med Biol*, **1990**;16(8):801-807.
79. **Lee EWC, Maffulli N, Li CK, Chan KM.** Pulsed Magnetic and Electromagnetic Fields in Experimental Achilles Tendonitis in the Rat: A Prospective Randomized Study. *Arch Phys Med Rehabil*, **1997**;78(4):399-404.
80. **David HT, Alfred JB, Richard M.** the effect of pulsed electromagnetic field in the treatment of osteoarthritis of knee and cervical spine. Report of randomized double blind, placebo controlled trials. *J Rheumatol*, **1994**;21(10):1903-1911.

81. **Lee EW, Maffulli N, Li CK, Chan KM.** Pulsed magnetic and electromagnetic field in experimental achilles tendonitis in the rat: a prospective randomized study. *Arch phys med rehab*, **1997**;78(4):399-404.
82. **Strauch B, Patel MK, Rosen DJ, Mahadevia S, Brindzei N, Pilla AA.** Pulsed magnetic field therapy increases tensile strength in a rat achilles tendon repair model. *J Hand Surg (Am)*, **2006**;31(7):1131-1135.
83. **Maier M, Tischer T, Milz S, Weiler C, Nerlich A, Pellengahr C, Schmitz C, Refior HJ.** Dose-related effects of extracorporeal shock waves on rabbit quadriceps tendon integrity. *Arch Orthop Trauma Surg*, **2002**;122(8):436–441.
84. **Zhang D, Kearney CJ, Cheriyan T, Schmid TM, Spector M.** Extracorporeal shockwave-induced expression of lubricin in tendons and septa. *Cell Tissue Res*, **2011**;346(2):255–262.
85. **Waguespack RW, Burba DJ, Hubert JD, Vidal MA, Lomax LG, Chirgwin SR, Lopez MJ.** Effects of extracorporeal shock wave therapy on desmitis of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon in the horse. *Veterinary Surgery*, **2011**;40(4):450–456.
86. **Orhan Z, Cam K, Alper M, Ozturan K.** The effects of extracorporeal shock waves on the rat Achilles tendon: is there a critical dose for tissue injury? *Arch Orthop Trauma Surg*, **2004**;124(9):631–635
87. **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(4):613-618.
88. **Wang CJ.** An overview of shock wave therapy in musculoskeletal disorders. *Chang Gung Med J*, **2003**;26(4):220-232
89. **Shrivastava SK, Kalash.** Shock wave treatment in medicine. *J. Biosci*, **2005**30(2):269–275.
90. **Kalaycı D.** Ekstrakorporéal şok dalga tedavisinin (ESWT) intrasinyoval tendon iyileşmesi ve yapışıklık oluşumuna etkisi, Uzmanlık tezi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Mersin, **2012**.
91. **Ogden JA, Alvarez R, Levitt R, Marlow M.** Shock wave therapy (Orthotripsy®) in musculoskeletal disorders. *Clin Orthop*, **2001**;387:22-40.
92. **Rompe JD, Rosendahl T, Schöllner C, Theis C.** High-energy extracorporeal shock wave treatment of nonunions. *Clin Orthop*, **2001**;387:102-111.
93. **Schaden W, Fischer A, Sailer A.** Extracorporeal shock wave therapy of nonunion or delayed osseous union. *Clin Orthop*, **2001**;387:90-94.
94. **Thiel M.** Application of shock waves in medicine. *Clin Orthop*, **2002**;387:18-21.

95. **Wang CJ, Chen HS, Chen CE, Yang KD.** Treatment of nonunions of long bone fractures with shock waves. *Clin Orthop*, **2001**;387:95-101.
96. **Loew M, Daecke W, Kuzniefczak D, Rahmzadeh M, Ewerbeck V.** Shock-wave therapy is effective for chronic calcifying tendonitis of the shoulder. *J Bone Joint Surg*, **1999**;81(5):863-867.
97. **Rompe JD, Burger R, Hopf C, Eysel P.** Shoulder function after extracorporeal shock wave therapy for calcific tendonitis. *J Shoulder Elbow*, **1998**;7(5):505-509.
98. **Speed CA, Richards C, Nichols D, Burnet S, Wiles JT, Humphrey H, Hazleman BL.** Extracorporeal shock wave therapy for tendonitis of the rotator cuff. A double-blind, randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg (Br)*, **2002**;84(4):509-512.
99. **Wang CJ, KO JY, Chen HS.** Treatment of calcifying tendonitis of the shoulder with shock wave therapy. *Clin Orthop*, **2001**;387:83-89.
100. **Hammer DS, Rupp S, Ensslin S, Kohn D, Seil R.** Extracorporeal shock wave therapy in patients with tennis elbow and painful heel. *Arch Orthop Trauma Surg*, **2000**;120(5-6):304-307.
101. **KO JY, Chen HS, Chen LM.** Treatment of lateral epicondylitis of the elbow with shock waves. *Chi Orthop*, **2001**;387:60-67.
102. **Perlick L, Schiffman R, Kraft CN, Wallny T, Diedrich O.** Extracorporeal shock wave treatment of the Achilles tendonitis: Experimental and preliminary clinical results. *Z Orthop Ihre Grenzgeb*, **2002**;140(3):275-280.
103. **Rompe JD, Hope C, Küllmer K, Heine J, Bürger R.** Analgesic effect of extracorporeal shock wave therapy on chronic tennis elbow. *J Bone Joint Surg*, **1996**;78(2):233-237.
104. Vorvick LJ, Ma B, Zieve D. A.D.A.M. Medical Encyclopedia, Plantar fasciitis, Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/PMH0004438/>, Erişim tarihi:20.08.2014.
105. **Chen HS, Chen LM, Huang TW.** Treatment of painful heel syndrome with shock waves. *Clin Orthop*, **2001**;387:41-46.
106. **Nagashima M, Tanaka H, Takahashi A, Tanaka K, Ishiwata T, Asano G, Yoshino S.** Study of the mechanism involved in angiogenesis and synovial cell proliferation in human synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis using SCID mice. *Lab Invest*, **2002**;82(8):981-988.
107. **Ogden JA, Alvarez R, Levitt R, Cross GL, Marlow M.** Shock wave therapy for chronic proximal plantar filsciitis. *Clin Orthop*, **2001**;(387):47-59.
108. **Ohberg L, Alfredson H.** Ultrasound guided sclerosis of neovessels in painful chronic Achilles tendonitis: Pilot study of a new treatment. *Br J Sports Med*, **2002**;36(3):173-175.
109. **Furia JP.** High-Energy Extracorporeal Shock Wave Therapy as a Treatment for Insertional Achilles Tendinopathy. *The American Journal of Sports Medicine*, **2006**;34(5):733-740.

110. **Sems A, Dimeff R, Iannotti JP.** Extracorporeal shock wave therapy in the treatment of chronic tendinopathies. *J Am Acad Orthop Surg*, **2006**;14(4):195-204.
111. **Vulpiani MC, Trischitta D, Trovato P, Vetrano M, Ferretti A.** Extracorporeal shockwave therapy (ESWT) in Achilles tendinopathy. A long-term follow-up observational study. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, **2009**;49 (2):171-176.
112. **Wilson M, Stacy J.** Shock wave therapy for Achilles tendinopathy. *Curr Rev Musculoskelet Med*, **2011**;4(1):6–10.
113. **Notarnicola A, Pesce V, Vicenti G, Tafuri S, Forcignanò M, Moretti B.** SWAAT Study: Extracorporeal shock wave therapy and arginine supplementation and other nutraceuticals for insertional achilles tendinopathy. *Adv Ther*, **2012**;29(9):799–814.
114. **Al-Abbad H, Simon JV.** The effectiveness of extracorporeal shock wave therapy on chronic achilles tendinopathy: a systematic review. *Foot & Ankle International*, **2013**;34(1):33-41.
115. **Mani-Babu S, Morrissey D, Waugh C, Screen H, Barton C.** The effectiveness of extracorporeal shock wave therapy in lower limb tendinopathy: a systematic review. *Am J Sports Med*, **2014**.
116. **Gerdesmayer L, Weil LS.** Extracorporeal shockwave therapy: Clinical results, Technologies, Basics. 1th Ed., United state of america: Data Trace Publishing Company Towson, **2007**.
117. **Valchanow V, Michailow P.** High energy shock waves in the treatment of delayed and non-union fractures. *Int Orthopaed*, **1991**;15(3):181-185.
118. **Rompe JD, Kirkpatrick CJ, Küllmer K, Schwitalle M, Krischek O.** Dose-related effects of shock waves on rabbit tendo Achillis: a sonographic and histological study. *The Journal of Bone and Joint Surgery Br*, **1998**;80(3):546-552.
119. **Romeo P, Lavanga V, Pagani D, Sansone V.** Extracorporeal shock wave therapy in musculoskeletal disorders: A review. *Med Princ Pract*, **2014**;23(1):7–13.
120. **Ogden JA, Toth-Kischkat A, Schultheiss R.** Principles of shock wave therapy. *Clin Orthop*, **2001**;387:8-17.
121. **Chao YH, Tsuang YH, Sun JS, Chen LT, Chiang YF, Wang CC, Chen MH.** Effects of shock waves on tenocyte proliferation and extracellular matrix metabolism. *Ultrasound in Med & Biol*, **2008**;34(5):841–852.
122. **Speed CA.** Extracorporeal shock-wave therapy in the management of chronic soft-tissue conditions. *J Bone Joint Surg Br*, **2004**;86(2):165-171.
123. **Güven M.** Pulsu elektromanyetik alanın rejenere olan sıçan siyatik sinir demetinde sodyum kanallarına etkisinin incelenmesi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, **2003**.

124. **Shupak N.** Therapeutic uses of pulsed magnetic field exposure; Review. *Radio Science Bulletin*, **2003**;307:9-32.
125. **Akai M, Hayashi K.** Effect of electrical stimulation on musculoskeletal systems; a meta-analysis of controlled clinical trials. *Bioelectromagnetics*, **2002**;23(2):132-143.
126. **Aaron RK, Ciombor DM, Simon BJ.** Treatment of nonunions with electric and electromagnetic fields. *Clin Orthop Relat Res*, **2004**;419:21-9.
127. **Akai M, Kawashima N, Kimura T, Hayashi K.** Electrical stimulation as an adjunct to spinal fusion: a meta-analysis of controlled clinical trials. *Bioelectromagnetics*, **2002**;23(7):496-504.
128. **Greenough CG.** The effect of pulsed electromagnetic fieldson flexor tendon healing in the rabbit. *J Hand Surg Br*, **1996**;21(6):808-812.
129. **Robotti E, Zimble AG, Kenna D, Grossman JA.** The effect of pulsed electromagnetic fields on flexor tendon healing in chickens. *J Hand Surg Br*, **1999**;24(1):56-58.
130. **Lin Y, Nishimura R, Nozaki K, Sasaki N, Kadosawa T, Goto N, Date M, Takeuchi A.** Effects of pulsing electromagnetic fields on the ligament healing in rabbits. *J Vet Med Sci*, **1992**; 54(5):1017-1022.
131. **Strauch B, Herman C, Dabb R, Ignarro LJ, Pilla AA.** Evidence-Based Use of Pulsed Electromagnetic Field Therapy in Clinical Plastic Surgery. *Aesthetic Surgery Journal*, **2009**;29(2):135-143.
132. **Pilla AA.** Electrochemical information transfer at living cell membranes. *Ann N Y Acad Sci*, **1974**;238:149–170.
133. **Nagai M, Ota M.** Pulsating electromagnetic field stimulates mRNA expression of bone morphogenetic protein -2 and -4. *J Dent Res*, **1994**;73(10):1601–1605.
134. **Colomer J, Means AR.** Physiological roles of the Ca²⁺/CaM-dependent protein kinase cascade in health and disease. In: Carafoli E, Brini M, editors. Calcium signaling and disease. *New York: Springer*, **2007**;169–214.
135. **Markov MS, Muehsam DJ, Pilla AA.** Modulation of cell-free myosin phosphorylation with pulsed radio frequency electromagnetic fields. In: Allen MJ, Cleary SF, Sowers AE, editors. Charge and field effects in biosystems 4. Hackensack, NJ: World Scientific Publishing; **1994**; 274–288.
136. **Markov MS, Pilla AA.** Weak static magnetic field modulation of myosin phosphorylation in a cell-free preparation: calcium dependence. *Bioelectrochem Bioenerg*, **1997**;43:235–240.

137. **Liboff AR, Cherng S, Jenrow KA, Bull A.** Calmodulin-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity is altered by 20 μ T magnetostatic fields. *Bioelectromagnetics*, **2002**; 24(1):32–38.
138. **Ignarro LJ, Buga GM, Keith S, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G.** Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **1987**;84(24):9265–9269.
139. **Bruckdorfer R.** The basics about nitric oxide. *Mol Aspects Med*, **2008**;26(1-2):3–31.
140. **Korhonen R, Lahti A, Kankaanranta H, Moilanen E.** Nitric oxide production and signaling in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, **2005**;4(4):471–479.
141. **Hagendoorn J, Padera TP, Kashiwagi S, Isaka N, Noda F, Lin MI, Huang PL, Sessa WC, Fukumura D, Jain RK.** Endothelial nitric oxide synthase regulates microlymphatic flow via collecting lymphatics. *Circ Res*, **2004**;95(2):204–209.
142. **Mariotto S, Menegazzi M, Suzuki H.** Biochemical aspects of nitric oxide. *Curr Pharm Des*, **2004**;10(14):1627–1645.
143. **Madhusoodanan KS, Murad F.** NO-cGMP signaling and regenerative medicine involving stem cells. *Neurochem Res*, **2007**;32(4-5):681–694.
144. **Hirpara K, Sullivan M, Raheem O, O'Sullivan M.** A biomechanical analysis of multistrand repairs with the Silfverskiold peripheral cross-stitch. *J Bone Joint Surg Br*, **2007**;89(10):1396–1401.
145. **Oryan A, Moshiri A, Meimandi-Parizi AH.** Short and long terms healing of the experimentally transverse sectioned tendon in rabbits. *Sports Medicine, Arthroscopy, Rehabilitation, Therapy & Technology*, **2012**; 4:14.
146. **Dona E, Turner AWL, Gianoutsos MP, Walsh WR.** Biomechanical Properties of Four Circumferential Flexor Tendon Suture Techniques. *J Hand Surg*, **2003**;28(5):824–831.
147. **Ahmed AF, Elgayed SSA, Ibrahim IM.** Polarity effect of microcurrent electrical stimulation on tendon healing: Biomechanical and histopathological studies. *Journal of Advanced Research*, **2012**;3:109–117.
148. **Severo AL, Arenhart R, Silveira D, Ávila AOV, Berral FJ, Lemos MB, Piluski PCF, Lech OLC, Fukushima WY.** Biomechanics and histological analysis in rabbit flexor tendons repaired using three suture techniques (four and six strands) with early active mobilization. *Rev Bras Ortop*, **2012**; 47(1):92–101.
149. **Joensen J, Gjerdet NR, Hummelsund S, Iversen V, Lopes-Martins RAB, Bjordal JM.** An experimental study of low-level laser therapy in rat Achilles tendon injury. *Lasers Med Sci*, **2012**; 27(1):103–111.

150. **Güşen M, Başterzi Y, Erdal N, Gürgül S, Uzun C, Yılmaz ŞN.** Fleksör Tendon Yaralanmalarında Uygulanan Primer Onarım Yöntemlerinde Yeni Bir Cerrahi Teknik. 25. Ulusal Biyofizik Kongresi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Osman Turan Kültür ve Kongre Merkezi Trabzon, 23-27 Eylül 2013:60.
151. **İlhami K, Gokhan M, Ulukan I, Eray BM, Levent A, Cığdem T.** Biomechanical and histologic comparison of Achilles tendon ruptures reinforced with intratendinous and peritendinous plantaris tendon grafts in rabbits: an experimental study. *Arch Orthop Trauma Surg*, **2004**;124(9):608–613.
152. **Rawson S, Cartmell S, Wong J.** Suture techniques for tendon repair; a comparative Review. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*, **2013**;3(3):220-228.
153. **Vetrano M, d'Alessandro F, Torrisi MR, Ferretti A, Vulpiani MC, Visco V.** Extracorporeal shock wave therapy promotes cell proliferation and collagen synthesis of primary cultured human tenocytes. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, **2011**;19(12):2159-168.
154. **Orhan Z, Alper M, Yavuz Ö, Akman Y, Yalçın A.** Tendon iyileşmesinde ekstrakorporeal şok dalga tedavisi: sıçanlarda deneysel çalışma. *Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica*, **2001**;35(2):158-162.
155. **Wang CJ, Wang FS, Yang KD, Weng LH, Hsu CC, Huang CS, Yang LC.** Shock wave therapy induces neovascularization at the tendon-bone junction: a study in rabbits. *J Orthop Res*, **2003**;21(6):984-989.
156. **Berta L, Fazzari A, Ficco AM, Enrica PM, Catalano MG, Frairia R.** Extracorporeal shock waves enhance normal fibroblast proliferation in vitro and activate mRNA expression for TGF-β1 and collagen types I and III. *Acta Orthopaedica*, **2009**; 80(5): 612-617.
157. **Wang CJ.** Extracorporeal shockwave therapy in musculoskeletal disorders. *Journal of Orthopaedics Surgery and Research*, **2012**;7(11):1-8.
158. **Greenough CG.** The effects of pulsed electromagnetic fields on blood vessel growth in the rabbit ear chamber. *J Orthop Res*, **1992**;10(2):256–262.
159. **Binder A, Parr G, Hazleman B, Fitton-Jackson S.** Pulsed electromagnetic field therapy of persistent rotator cuff tendinitis. A double-blind controlled assessment. *Lancet*, **1984**; 31;1(8379):695-698.
160. **Frank C, Schachar N, Dittrich D, Shrive N, Phil D, deHaas W, Edwards G.** Electromagnetic stimulation of ligament healing in rabbits. *Clinical Orthopedics and Related Research*, **1983**; 175:263–272.
161. **Lin Y, Nishimura K, Nozaki K, Sasaki N, Kadosawa T, Goto N, Date M, Takeuchi A.** Effects of pulsing electromagnetic fields on the ligament healing in rabbits. *J Vet Med Sci*, **1992**;54(5):1017–22.

162. **Murray JC, Farndale RW.** Modulation of collagen production in cultured fibroblasts by a low-frequency, pulsed magnetic field. *Biochim Biophys Acta*, **1985**;838(1):98–105.
163. **Denaro V, Ruzzini L, Barnaba SA, Longo UG, Campi S, Maffulli N, Sgambato A.** Effect of pulsed electromagnetic fields on human tenocyte cultures from supraspinatus and quadriceps tendons. *Am J Phys Med Rehabil*, **2011**;90(2):119-127.
164. **Ahmadian S, Zarchi SR, Bolouri B.** Effects of extremely-low-frequency pulsed electromagnetic fields on collagen synthesis in rat skin, *Biotechnol Appl Biochem*, **2006**;43(2):71–75.
165. **Erdal N, Gürgül S, Ay Öi, Ay ME, Uzun C.** Pulsu Manyetik Alan'ın (PMA) Doku Kültüründe Hasarlanmış Tendon Üzerine İyileştirici Etkisi. 25. Ulusal Biyofizik Kongresi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Osman Turan Kültür ve Kongre Merkezi Trabzon, 23-27 Eylül 2013:58.

ÖZGEÇMİŞ

Coşar UZUN, 2 Haziran 1984 tarihinde Hatay'ın Samandağ İlçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Mağaracık İlköğretim Okulunda, lise öğrenimini Yüksel Acun Anadolu Lisesinde tamamladı. Daha sonra 2009 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümünden mezun olarak Fizikçi ünvanını aldı. 2010 yılında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. 2011 yılında araştırma görevlisi kadrosuna atandı. 2014 Yılında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalında 'Deneysel Tendon Hasarı Oluşturulmuş Tavşanlarda Pulsu Manyetik Alanın (PMA) Etkilerinin Araştırılması ve Ekstrakorporeal Şok Dalga Tedavi (Extracorporeal Shockwave Therapy; ESWT) Yöntemi ile Karşılaştırılması' adlı yüksek lisans tezini tamamlayarak bu alanda bilim uzmanı ünvanını aldı. Halen Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.