

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**SPOR HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI**

**KLEMP İLE TENDİNOPATİ OLUŞTURULAN HAYVANLARDA  
PRGF UYGULAMASININ İYİLEŞMEYE ETKİSİ**

**Dr. Uğur DİLİÇİKİK**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA**

**2011**



**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**SPOR HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI**

**KLEMP İLE TENDİNOPATİ OLUŞTURULAN HAYVANLARDA  
PRGF UYGULAMASININ İYİLEŞMEYE ETKİSİ**

**Dr. Uğur DİLİÇİKİK**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Mahmut Nedim DORAL**

**ANKARA**

**2011**

## TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi Spor Hekimliği Anabilim Dalında asistanlığım süresince her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen, özgür ve yenilikçi bir çalışma ortamını sağlamasının yanı sıra temel ve klinik bilimlerin birlikteliğini öğreten, engin deneyimleri ve ileri görüşlü kişiliği ile daima yol gösterici olan, anabilim dalımızın kurucusu, tez danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mahmut Nedim Doral'a,

Tartışılmaz bilim adamı kimliği yanında kariyeri, alçakgönüllü kişiliği ve çalışma prensibi ile her zaman örnek olan, eğitimimize çok büyük katkılar sağlayan ve tez çalışmam süresince çok büyük emekler harcayan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Haydar Ali Demirel'e,

Çalışma fırsatı bulabildiğimiz kısa sürede bile mesleksi ve etik anlamda kendisinden çok fazla şey öğrendiğimiz değerli hocamız Doç. Dr. Sedat Tolga Aydoğ'a,

Tezimin gerçekleşmesindeki katkılarından dolayı; tendonların ultrastrüktürel değerlendirmelerini yapan Prof. Dr. Mustafa F. Sargon'a, biyomekanik çalışmaların gerçekleştirilmesini sağlayan Prof. Dr. Feza Korkusuz ve Emir Birant'a,

Ortak klinik çalışmalarında hiçbir zaman yardımını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Levent Özçakar'a ve konsültasyonlarından çok şeyler öğrendiğim hocalarım Prof. Dr. Gürsel Leblebicioğlu'na, Prof. Dr. Ö. Ahmet Atay'a,

Takım doktorluğu becerisini geliştirmemize katkı ve tecrübelerini aktaran sevgili ağabeylerim ve saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Alp Bayramoğlu'na, Doç. Dr. Mutlu K. Hayran'a,

H. Ü. Spor Hekimliği Anabilim Dalının "ilk asistanları" olarak göreve başladığımız; sporcu, özenli ve esprili kişiliği ile bana kardeşim kadar yakın kıymetli meslektaşım Dr. Gürhan Dönmez ve sevgili eşi Duygu Dönmez başta olmak üzere diğer çalışma arkadaşlarım Dr. Serkan Doğan, Dr. Burkay Utku, Dr. Fzt. Defne Kaya'ya ve Spor Hekimliği Anabilim Dalı yardımcı personeline,

Hayatımın her dönemi desteğini benden esirgemeyen sevgili annem, babam ve ağabeyime, en zor zamanlarımda beni yalnız bırakmayan sevgili arkadaşlarım Dr. Erhan Dursun ve Ertuğrul Günday'a teşekkür ederim.

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir.

**Dr. Uğur Diliçkık**

## ÖZET

**Uğur D. Klemp ile tendinopati oluşturulan hayvanlarda PRGF uygulamasının iyileşmeye etkisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği Uzmanlık Tezi, Ankara, 2011.** Bu çalışmada PRGF uygulamasının aşıl tendon hasarının iyileşmesindeki etkisi mikroskopik ve immunohistokimyasal olarak araştırıldı. Çalışmamızda deney hayvanlarının tek taraflı (sol) aşıl tendonları üzerine klemp ile tendon hasarı oluşturuldu. Ağırlıkları 350-450 gr. arasında değişen, 4-6 aylık, 34 adet dişi SD tipi sıçan kullanıldı. Aşilde tendinopati değişikliklerinin daha belirgin ortaya çıkmasını sağlamak amacıyla yapılan ön çalışmada 2 deneğin toplam 4 aşıl tendonuna klemp ile 2. seviyede (dişlide) 1 dakika sıkıştırmayı takiben 3 dakika serbest bırakma şeklinde 4 sıkıştırma uygulandı. Ötenazi sonrası alınan aşıl tendonu doku örnekleri elektron mikroskopi ile incelendi ve en optimal hasarın 4. sıkıştırmada meydana geldiği belirlendi. Tüm deney hayvanlarına 2. seviyede, 1 dakika süre ile 4 kez sıkıştırma uygulandı. Çalışma planına göre deney hayvanları 5 gruba ayrıldı (Tablo 3.1). Buna göre ilk grup herhangi bir şey uygulamaksızın (Kontrol:CN), 2. grup klemp ile sıkıştırıldıktan hemen sonra (K-0), 3. grup klemp ile sıkıştırıldıktan 1 hafta sonra (K-7), 4. grup klemp ile sıkıştırıldıktan hemen sonra kontrol grubu deneklerden alınan kandan hazırlanan PRGF enjeksiyonu uygulaması sonrası 1. haftada (PRGF), 5. grup ise klemp ile sıkıştırıldıktan hemen sonra serum fizyolojik enjeksiyonunu takiben 1. haftada (SF) feda edilerek dokuları alındı. Bu örneklerin transmisyon elektron mikroskop ile yapılan incelemesinde; klemp 0.gün grubunda kollajen lifler arasında yer yer ödemli sahalar ve fibrositlerin sitoplazmalarında vakuoller izlendi. K-7, SF grupları ile karşılaştırıldığında; PRGF uygulanan grupta fibroblastlarda ve kollajen lif sentezinde daha fazla artış olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte K-7 ve SF gruplarında da fibroblast ve yeni kollajen sentezi artmış olarak izleniyordu. PRGF grubu fibroblastlarında organel düzeyinde yoğun bir artış vardı. Bu veriler ile PRGF'in iyileşmeye katkısının hücrelerdeki sentezi(aktivasyonu) arttırarak gerçekleştirdiği ve kısıtlı iyileşme ve turnovera sahip tendonlarda daha iyi bir iyileşme yanıtı sağlayabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** PRGF, PRP, tenosit, kollajen,

**Destekleyen Kuruluş:** Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi, Proje No: 011 D01 101 006

## ABSTRACT

**Uğur D. Effects of healing by PRGF on animals which have tendinopathy caused by clemping, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Sports Medicine Residency, Ankara, 2011.** In this study it was investigated the effect of PRGF on healing Achilles tendon injury as microscopic as immunohistochemical. In our study, a clamp is used to make an injury made on the test animal's one-sided (left) Achilles tendon. 34 female SD type rats were used, weighting between 350-400g and 4 to 6 months old. To ensure more pronounced changes at Achilles tendnopathy, 4 Achilles tendon of 2 experimental animals compressed at 2. level for 1 minutes 4 times following relaxation for 3 minutes in preliminary experiment. Achilles tendon tissue samples taken after euthanasia were analysed by electron microscopy and it was determined that the optimal damage occurred in fourth (4.) compression. To all experimental animals was performed the 2nd grade compression 4 times by 1 minute. According to the study plan experimental animals was divided into 5 groups(Table 3.1). First group (Control:CN) was sacrificed and their tissues were taken without any application. The second group was sacrificed and their tissues were taken immediately after compressed with the clamp(K-0), the third group one week after being compressed with the clamp(K-7). The fourth group was injected with PRGF derived from the control group right after their tendons were compressed with clamps(PRGF), and sacrificed after 7 days, and the fifth group was injected with isotonic saline solution right after their tendons were clamped and sacrificed after 7 days(SF). The examination of these samples with transmission electron microscope; there were edematous areas between collagen fibers and vacuoles in fibrocyte's cytoplasm in K-O group. When PRGF group was compared with the K-7 and SF groups; it was seen that in PRGF implemented group was further increase of fibroblasts and synthesis of new collagen fiber. However, the increase of fibroblasts and new collagen synthesis was seen in K-7 and SF groups. These data has shown that PGRF contributes to recovery by triggering cell division/activation, and a more pronounced recovery is observed in tendons with limited recovery and turnover capability.

**Keywords:** PRGF, PRP, tenocyte, collagen,

Supported by Hacettepe University Scientific Researches Unit, Project Number: 011

D01 101 006

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vii</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>	<b>ix</b>
<b>RESİMLER</b>	<b>xi</b>
<b>ŞEKİLLER</b>	<b>xii</b>
<b>TABLolar</b>	<b>xiii</b>
<b>GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>6</b>
2.1. Aşil Tendon Anatomisi	6
2.2. Tendon Histolojisi	9
2.2.1. Kollajen Yapısı	13
2.2.2. Kollajen Döngüsü ve Biyokimyasal Belirteçler	14
2.2.3. Tendon Matriks Proteinleri	16
2.3. Tendon Beslenmesi	17
2.4. Tendon İnnervasyonu	19
2.5. Tendon Biyomekaniği	19
2.6. Tendon Yaralanmalarında Etyopatogenez	21
2.7. Tendon İyileşmesi	26
2.8. Tendinopati Modellemeleri	31
2.9. PRGF	39
2.9.1. PRGF Tanımı	39
2.9.2. PRGF Hazırlanması	46
<b>GEREÇ-YÖNTEM</b>	<b>49</b>
3.1. Klemp ile Tendinopati Meydana Getirilmesi	50
3.2. PRGF Uygulaması	52
3.3. Cerrahi Teknik	53
3.4. Makroskopik Ölçüm	54



3.5.	Elektron Mikroskopik İnceleme	55
<b>BULGULAR</b>		
4.1	Elektron Mikroskopi Sonuçları	57
<b>TARTIŞMA</b>		60
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>		63
<b>KAYNAKLAR</b>		64

## SİMGELER VE KISALTMALAR

b-FGF	temel fibroblast büyüme faktörü
BMP-12	kemik morfojenik proteini-12
CDMP	kıkırdak kaynaklı morfojenik protein
CGRP	kalsitonin geni ile ilişkili peptid
CTX-1	tip I kollajenin karboksi terminal telopeptidi
°C	santigrat derece
Ca <sup>+2</sup>	kalsiyum
CBSC	kordon kanı kök hücresi
cm	santimetre
cm <sup>2</sup>	santimetrekare
CN	kontrol grubu
CPD	sitrat fosfat dekstrozu
dk	dakika
DM	Diyabetes Mellitus
DNA	deoksiribonükleik asit
EGF	epidermal büyüme faktörü
EMG	elektromyografi
ESC	embriojenik kök hücre
FDP	fleksör digitorum profundus
FDA	gıda ve ilaç dairesi
g	yerçekimi kuvveti
gr	gram
GT	guanin-timin
HA	hyalüronik asit
Hyp	hidroksiprolin
ICTP	tip I kollajen karboksi terminal telopeptid bölgesi
IGF	insülin benzeri büyüme faktörü
ip	intraperitoneal
K-0	klemp sonrası hemen ötenazi edilen grup
K-7	klemp sonrası 7.gün ötenazi edilen grup

kg	kilogram
km	kilometre
kN	kilonewton
L	litre
LTB4	lökotrien B4
m	metre
mg	miligram
ml	mililitre
mm	milimetre
MMP	matriks metalloproteinaz
mRNA	mesajcı ribonükleik asit
N	Newton
MSC	kemik iliği kökenli kök hüceler
PCR	polimeraz zincir reaksiyonu
PDGF	trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PG	prostoglandin
PGE2	prostoglandin E2
PH	prolil-4-hidroksilaz
PICP	prokollajen karboksiterminal propeptid
PINP	prokollajen aminoterminal propeptid
PRP	trombositten zengin plazma
PPP	trombositten fakir plazma
RM	maksimum tekrar
RPM	dakikadaki devir sayısı
SD	Sprague Downey
SF	serum fizyolojik
sn	saniye
SNP	tek nükleotid polimorfizmi
TGF- $\beta$ 1	transforme edici büyüme faktörü $\beta$ 1
TNC	tenascin C
U	ünite
VEGF	vasküler endotelyal büyüme faktörü
$\mu$ l	mikrolitre
$\mu$ m	mikrometre

**RESİMLER**

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
2.1.1. Kadavra aşıl tendon diseksiyonu	7
2.2.1. Normal tendon dokusunun histolojik görüntüsü	10
2.2.2. Normal tendon dokusunun histolojik görüntüsü	10
3.1.1. Klempin mekanik zellikleri	50
3.1.2. Klemp uygulaması	51
3.1.3. Klemp uygulaması sonrası aşıl tendon görüntüsü	52
3.2.1. Santrifüj işlemi	53
3.2.2. PRGF	53
3.3.1. Aşıl tendon diseksiyonu	54
3.4.1. Soleus kası izolasyonu	55
4.1.1. Klemp ile sıkıştırma sonrası 0.gün	57
4.1.2. Klemp ile sıkıştırma sonrası 7.gün	58
4.1.3. Klemp ile sıkıştırma sonrası SF 7.gün	58
4.1.4. Klemp ile sıkıştırma sonrası PRGF 7.gün	59

**ŞEKİLLER**

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
2.2.1. Tendonun histolojik yapısının şematik görünümü	12
2.2.2.1. Tip I prokollajen molekülü şematik görüntüsü	15
2.3.1. Tendonun arteryel damarlanması	18
2.5.1. Birim şekil değiştirme – gerilme diyagramı	20
2.7.1. Tendon iyileşmesinin fazları	27
2.9.2.1. Trombositten zengin ve fakir plazma	46

**TABLolar**

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.9.1.1. Trombositten zengin plazmadaki büyüme faktörleri	44
2.9.1.2. Trombositten zengin plazmanın Spor Hekimliğinde kullanımı için klinik kanıt	45
3.1. Çalışma planı	49
3.1.1. Klemp ile sıkıştırma sonuçları	51

## GİRİŞ

Tendonlar ve bağlar eklemleri stabilize eden, hareketi destekleyen ve yük taşımaya yardımcı olan yumuşak dokulardır [1]. Aşil tendonu vücudun en kalın ve en güçlü tendonudur. Aşil tendon yaralanmaları; direkt (kontüzyon ve laserasyon), indirekt (akut aşırı yüklenme) veya aşırı kullanım yaralanmaları sonrasında olabilir. Her ne kadar patolojisi tam olarak açıklanamasa da, tendinopati sözcüğü sıklıkla rüptüre olmamış tendon yaralanmalarını tanımlamak için kullanılan genel bir terimdir [2]. Günümüzde aşil tendinopatisi ve diğer aşırı kullanım yaralanmaları rekreasyonel ve yarışmalı sporlara katılım ve dolayısı ile antrenman sıklığı ve süresinin artması nedeni ile giderek artış göstermektedir [2]. Dünyada her yıl 100 milyondan fazla kas iskelet sistemine (tendon/kas/kemik) ait yaralanma meydana gelmektedir [3].

Tüm spor yaralanmalarının yaklaşık %30-50'sini tendon yaralanmaları oluşturmakta ve aşil tendon yaralanmaları bunun % 6-18'ini meydana getirmektedir [3]. Aşil tendon patolojilerinin %55-65'ini tendinopati oluşturmaktadır [4]. Yaş grupları ile kıyaslandığında tendinopati insidansı orta ve uzun mesafe koşucularında 31.2 kat daha sık görülmektedir [5]. Koşuculardaki en sık yaralanma şekli olan aşil tendinopatisi riski 1000 km başına 0.02 olarak bildirilmiştir [6]. 70 kg ağırlığında bir insanın orta mesafe koşusunda aşil tendonuna binen yük 5000 Newton olup tendonun % 6 uzamasına neden olmaktadır. %8 oranında bir zorlamanın rüptüre neden olduğu düşünülürse koşucularda aşil tendinopati riskinin önemi daha iyi anlaşılır [7]. Sağlıklı bir tendonun tensil kuvveti pik düzeyine 25-35 yaşlarında ulaşmakta ve bu yaştan sonra yavaşça azalmaktadır [8].

Aşil tendon yaralanmalarında yalnızca spor değil diğer birçok predispozan faktor rol oynamaktadır. Öyle ki yapılan bir çalışmada ağırlı aşil nedeni ile başvuran 58 hastanın 18'inde (%30) sportif aktivite veya yüksek şiddetli fiziksel aktivite öyküsü bulunmamıştır [9]. Yaşlanma, diyabetes mellitus (DM), obezite, hipertansiyon, florokinolon grubu antibiyotik kullanımı, hiperlipidemi, A ve O grubuna sahip olmakta tendinopati gelişimi açısından risk oluşturmaktadır [10]. Sonuç olarak aşil tendon patolojileri gerek sporcu gerekse sedanter popülasyonda oldukça sık görülmektedir.

Aşıl tendonunda insersiyonel olmayan tip (orta kısım) yaralanmalara 2 kat daha fazla rastlanmaktadır. İnsersiyonel tip ve orta kısım tendinopatisi altta yatan biyomekanik nedenler açısından da farklılık göstermektedir. İnsersiyonel tip de sert zeminde antrenman, bacak çevresi kasları arasındaki dengesizlik nedeni ile düşme (landing) sırasında pronasyonun kontrol edilememesi gibi nedenler ön plandadır. Diğer yandan orta kısım tendinopatilerinde aşıl tendonu liflerinin 90 derece dönüşü nedeni ile oluşan avasküler bölge, varus-valgus, hiperpronasyon gibi malalignmentlar, ayak dorsifleksiyonunda iken kronik egzantrik yüklenmeler, uygunsuz ayakkabı, artmış sportif aktivite, tekrarlayan yüklenmeler göze çarpan nedenlerdir [11]. Vücudun en güçlü ve en kalın tendonu olmasına rağmen aşıl tendonun beslenmesi kısıtlıdır ve yaşla birlikte giderek bozulmaktadır [12]. Paratenon, kanlanması yüksek bir doku olarak kabul edilir. Tendonun proksimal kısmı kastan endotenona devam eden zayıf bir damar ağı ile, distal kısmı ise fibular ve posterior tibial arterden ufak dalların endotenona girmesi ile kalkaneal yapışma yerine 2cm'lik mesafeyi beslemektedir [13]. En sık yaralanmaların görüldüğü yapışma yerinden 2-6 cm'lik proksimaldeki kısım nispeten avasküler olarak kabul edilmektedir.

Tendon ve bağlar iskelet kasına oranla 7.5 kat daha az oranda oksijen tüketmektedirler [14]. Tendon iyi gelişmiş anaerobik enerji kapasitesi ve düşük metabolik hızı sayesinde yük taşıma ve gerginliği uzun süre koruyabilir ve iskemi, nekroz riskini de azaltır [15]. Ancak aşıl tendonu nispeten az sayıda hücreye, düşük turnover oranına sahiptir ve onarım/yenilenme açısından da kapasitesi yetersizdir [16]. Tendinopatinin işareti, kollajen liflerde organizasyon bozukluğu, kalınlaşma, mikro yırtıkların bulunmasıdır [17]. Tendon dokusu iyileşme döneminde 3 farklı dönemden geçmektedir: proliferatif, maturasyon ve remodelling akut inflamatuvar fazı oluşturmaktadır. Son basamak olan remodeling fazı 1 yıla kadar uzamaktadır [18]. Onarım ve rejenarasyon bu 3 iyileşme dönemi ile tamamlanmaktadır. İnflamatuvar dönemde hematoma oluşumu, kan hücrelerinin yaralanan bölgeye hareketi, nekrotik materyallerin fagositozu, pro-inflamatuvar sitokinlerin ve anjiogenetik faktörlerin salınımı ve fibroblast (tenosit) hücrelerin katılımı söz konusudur. Daha sonra fibroblast proliferasyonu ile tendonun diğer ekstrasellüler matriks komponentleri de dahil özellikle tip 3 kollajen ve proteoglikan



sentezi proliferasyon fazını başlatır. Yaralanmadan sonra yaklaşık 6. haftada son dönem olan remodelling başlar. Bu dönemde tip 3 kollajen azalırken, tip1 kollajen artar ve mekanik olarak re-organize hale gelirler, diğer ekstrasellüler matriks komponentlerinde olduğu gibi glikozamin sentezi de azalır [19]. Onuncu hafta civarında başlayan konsolidasyon döneminde tamir dokusu daha fibröz hale gelir. Sonra da yavaş yavaş skar benzeri tendon dokusu halini alır ve matür hale gelmesi 1 yılı bulabilir. Tendonun normal fizyolojik kullanımı sonrasında remodelling uyarılır ve tendon gücü ve stabilitesinde son noktaya ulaşılır. Eğer bir sporcuda aşıl tendinopatisi gibi bir tendon patolojisi meydana gelmişse 6-12 aya varan bir iyileşme/yenilenme(recovery) periyodu akla gelmelidir. İyileşme süresi yetersiz ise kümülatif travma nedeni ile daha büyük yaralanmalar meydana gelebilir [20]. Günümüzde artan antrenman süre ve yoğunluğu minör travmaları da giderek arttırmakta ve kümülatif etkiye katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle aşıl yaralanmaları sonrasında sporcunun tam olarak sağlıklı bir şekilde spor yaşamına geri dönmesi her zaman mümkün olmayabilir. Yaralanmaları önlemek amacı ile antrenman metodu, antrenman yüzeyi, kas disfonksiyonu ve esnekliği, gözden geçirilmesi tavsiye edilmektedir[21]. Aşıl tendinopatisi patogeneğinde genetik, biyomekanik ve rejeneratif bir takım hatalar bulunmaktadır. Sporcunun daha kısa sürede ve sağlıklı bir tendonla sahaya dönmesini sağlamak amacı ile bu hataları düzeltmek için çalışmalar devam etmektedir. Biyomekanik kusurların iyileştirilmesinde alt ekstremitte dizilim bozukluğu, sert zemin, doğru ayakkabı tercihi gibi faktörler ön plana çıkarken, rejeneratif kusurları düzeltmek adına günümüzde birtakım yeni tedavi seçenekleri geliştirilmeye başlamıştır. Birçok kök hücre tipi tanımlanmıştır: embriyjenik kök hücre (ESC), kordon kanı kök hücresi (CBSC), erişkin kök hücreler(yağ dokusu kökenli kök hücre gibi), kemik iliği kökenli kök hücreler (MSC) vb... Bunlar hiyerarşik sistemde plöripotent ESC, potansiyel plöripotent CBSC ve multiplöripotent MSC şeklindedir. İlginç bir şekilde in vitro olarak ne CBSC'nin ne de ESC'nin tenosit ya da tendona farklandığı gösterilememiştir [16]. Tenositlerin ve tendon öncü hücrelerinin davranışları, moleküler markerları konusundaki bilgiler yetersiz olduğundan bu konuda çalışmak zordur. Bu nedenle tendon tamirinde kök hücre ile ilgili çalışmalar devam ederken büyüme faktörlerinin iyileşme sürecindeki etkisinin incelenmesi daha kolay ve anlaşılabilir bir yöntem olarak tercih

edilmektedir. PRGF de iyileşmeye katkıda bulunmak amacı ile günümüzde giderek artan bir tedavi seçeneği haline gelmiştir.

Yumuşak doku yaralanmalarının kan ürünleri ile iyileşeceği inancı 1970'lerde otolog kan enjeksiyonu ile başlamıştır. Tam kanın kullanımı ile bir takım faydalar sağlandığı gösterilmiş ancak altta yatan nedenler o dönemde açıklanamamıştır. Günümüzde ise başarılı bir çok sporcuda kullanımı ile popüler hale gelen PRP'deki (platelet rich plazma) mantık trombosit alfa granüllerinde bulunan birçok büyüme faktörünün iyileşme sürecine önemli katkılar sağlayacağı şeklindedir. Trombositler yara iyileşmesini başlatan ve düzenleyen birçok protein, sitokin ve diğer bir takım faktörleri içerirler. PRP tipik olarak 3 ila 5 kat artmış trombosit içerir. Trombositte en temel sitokinler: TGF- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1), b-FGF (Basic fibroblast growth factor), PDGF (platelet derived growth factor), IGF-1 (insulin like growth factor type 1), VEGF (vascular endothelial growth factor), EGF (epidermal growth factor), BMP-12 (Bone Morphogenetic Protein-12) ve CDMP (cartilage derived morphogenetic protein)'dir [22]. Tendona kan yada PRP enjeksiyonu sonrasında 10 dk içerisinde depo edilen büyüme faktörlerin %70'inin salındığı ve 1 saat içinde de bu faktörlerin çoğunun kaybolduğu, klinik iyileşmenin ise 12 haftayı bulabildiği bildirilmiştir [23]. PRP hazırlanırken alınan kan santrifüj edilir. Buffy coating denen orta konsantre- trombosit kısmı tendinopati bölgesine intratendinöz olarak enjekte edilir.

Birçok kök hücre tipi tanımlanmıştır: embriojenik kök hücre (ESC), kordon kanı kök hücresi (CBSC), erişkin kök hücreler(yağ dokusu kökenli kök hücre gibi), kemik iliği kökenli kök hücreler (MSC) vb. Bunlar hiyerarşik sistemde plöripotent ESC, potansiyel plöripotent CBSC ve multiplöripotent MSC şeklindedir. İlginç bir şekilde in vitro olarak ne CBSC'nin ne de ESC'nin tenosit ya da tendona farkedildiği gösterilememiştir [16]. Tenositlerin ve tendon öncü hücrelerinin davranışları, moleküler markerları konusundaki bilgiler yetersiz olduğundan bu konuda çalışmak zordur. Bu nedenle tendon tamirinde kök hücre ile ilgili çalışmalar devam ederken büyüme faktörlerinin iyileşme sürecindeki etkisinin incelenmesi daha kolay ve anlaşılabilir bir yöntem olarak tercih edilmektedir.

Konservatif tedavide uzun tedavi süreci, etkilenmiş bölgede zayıflık, rekürren yaralanma ve kısmi fonksiyon kaybı, cerrahi tedavide ise fonksiyonun her zaman tam olarak yerine konamaması, rehabilitasyonun pahalı ve yoğun olması nedeni ile ilgili sorunlar ortaya çıkabilmektedir [16].

Tendona fizyolojik dozun üzerinde sağlanan büyüme faktörleri ile iyileşme yanıtının artacağı daha önce invitro olarak yapılan bir çalışmada gösterilmiştir [24]. Öte yandan PRGF enjeksiyonun tendon dokusu üzerindeki etkisi konusundaki bilgilerimiz oldukça yetersizdir. Bu çalışmada amacımız PRGF uygulamasının aşıl tendon hasarının iyileşmesindeki etkisini histolojik olarak ortaya koymaktır.

#### **Çalışmanın Amaçları;**

1. PRGF uygulamasının aşıl tendon hasarının iyileşmesindeki etkisini mikroskobik ve immunohistokimyasal olarak ortaya koymaktır.
2. PRGF'in erken spora dönüş için alternatif bir tedavi yöntemi olabileceğini ortaya koymaktır.

#### **Çalışmanın Hipotezleri;**

Hipotez 1: PRGF günümüzde birçok klinik alanda özellikle spor yaralanmalarında önemli bir yer tutan tendon yaralanmalarının kısa sürede tedavisini gerçekleştirmek için yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. PRGF uygulamasının histolojik açıdan etkinliği değerlendirilerek daha etkin tedavi protokolleri geliştirilebilir.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Aşil Tendon Anatomisi

Tendonlar kas kasılması sonrası oluşan tensil kuvveti kemiğe aktarıp eklem hareketi meydana getiren yapılardır. Vücudun özellik kazanmış sıkı fibröz dokularıdır. Kas ile kemik arasında mekanik güç naklediciliğinin yanı sıra, kas kontraksiyonunu da düzenlemektedirler. Mekanik olarak esnek, dayanıklı, kayabilen, fakat uzatılıp sıkıştırılmayan özelliklere sahiptirler. Beklenmedik ani hareketlerde gücü absorbe ederek azaltırlar. Kasın devamlılığını sağlayan tendonlar, kemik veya kırıkta sonlanırlar.

Aşil tendonu ise insan vücudundaki en büyük, en kalın ve en kuvvetli tendondur. "Achilleus", Homeros'un Iliada Destanı'nda adı geçen kahramana ve insan vücudunun en kalın ve sağlam tendonu olan aşil tendonuna isim kaynağı olmuştur. Efsaneye göre; Achilleus ölümlü bir baba olan Peleus ile bir tanrıça olan Thetis'in oğludur. Thetis oğlu Achilleus'un bir savaşta öleceğini öğrenir ve onu ölümsüzlük nehri Styx suyunda yıkayarak yaralanamaz hale getirir. Fakat sol topuğundan tutularak yıkanan Achilleus Truva savaşında topuğundan zehirli bir ok ile vurulur ve ölür [25]. Bu yüzden ayak topuğunda yer alan tendona aşil tendonu adı verilir.

Aşil tendonu ile ilgili bilgilere Antik Yunan dönemi eserlerinde rastlanmaktadır. Ortaçağ döneminde şarap ve baharata batırılmış bandajlar kullanılarak aşil tendon tedavisi uygulandığı bilinmektedir. Aşil tendonu ile ilgili ilk tıbbi yayınlar; 1575 yılında Ambroise Paré ve 1722 yılında Jean Louis Petit tarafından yapılmıştır [26].

Aşil tendonu bacağın arka yüzeysel kompartmanı içinde bulunur, gastroknemius ve soleus kaslarının tendinöz kısımlarının distalde birleşmesiyle oluşur [27]. Gastroknemius kası caput laterale ve mediale olmak üzere iki baş şeklinde femur medial ve lateral kondilden başlar. Soleus kası ise gastroknemiusun derininde yer almaktadır ve tibianın arka yüzündeki linea musculi soleiden ve tibia ile fibula

arasında gerilen arcus tendineus soleiden başlar. Daha geniş olmasından dolayı gastroknemiusun her iki yanından taşar. Gastroknemius ve soleus komponentinin distalde birleşmesi iki şekilde olur. En sık olan tipinde, tendonun kalkaneusa yapışma yerinin yaklaşık 12 cm proksimalinde iki kasın aponörozu birleşir ve tek tendon olarak aşağı inerler. Daha nadir görülen tipte ise, gastroknemiusun aponörozu direkt olarak soleus kasının içine karışır. Gastroknemius komponentinin uzunluğu 11 ila 26 cm arasında değişirken, soleus komponentinin uzunluğu ise 3 ila 11 cm arasındadır. Bu iki kas ve aşil tendonu ayak bileğinin en güçlü fleksörünü oluştururlar ve tibial sinir tarafından innerve edilirler. Aşil tendonunun en dar yeri kalkaneusa yapışma yerinin 4 cm kadar proksimalindedir. Arka tarafı deri ve fasia ile örtülüdür. Ön tarafında ise derin kaslar, damar ve sinir ile aralarında yağ dokusu bulunur.

Aşil tendonunun yüzey alanı distale ilerledikçe aksiyel planda yuvarlaklaşır ve bu seviyeden sonra, superior kalkaneal tuberositeye yapışana kadar yassılaşır [28]. Aşil tendonunun distale doğru seyri sırasında, tendon lifleri 90 derecelik bir dönüş yaparlar; tendonun proksimal ve medialdeki lifleri distale ilerledikçe posteriora yer değiştirirler (Resim 2.1.1). Böylece ayak bileği plantar fleksiyonu sırasında kasın uzaması artar ve daha az enerji ile kas kontrakte olabilir [29].



**Resim 2.1.1: Kadavra aşil tendon diseksiyonu**

Aşil tendonunun kalkaneusa yapışma yeri oldukça özelleşmiş bir bölgedir. Bu bölge tendonun distal ucuyla birlikte, bir hyalin kıkırdak tabakası ve periost ile kaplı olmayan bir kemik parçasını içerir. Tendon ile cilt arasında yer alan subkutan bursa, tendon ve çevre dokular arasındaki sürtünmeyi azaltır. Tendon ile kalkaneus arasında ise retrokalkaneal bursa bulunur [30]. Aşil tendonunun kalkaneal insersiyonu sebebi ile subtalar eklemdaki hareketlerde tendon sekonder yüke maruz kalmaktadır. Aşil tendonu kalkaneusa yapışır ancak etki kuvveti aponözis plantaris aracılığı ile ayak ucuna kadar iletilir. Özellikle hiperpronasyon veya kavus ayakta aşil tendonunun şok emilim yeteneği kaybolduğundan daha fazla rüptür geliştiği düşünülmektedir [31]. Bu durum özellikle pronasyon yapan koşucularda önemlidir.

Aşil tendonu ayak bilek plantar fleksörlerinin şefi görevindedir. Lokomasyonda primer itici-propulsif kuvveti sağlayan tendondur. Gastroknemius kası primer olarak ayak bilek plantar fleksörü olarak görev yapmaktayken, soleus kasının ayrıca postural rolü de mevcuttur ve kişi ayakta iken vücudun öne düşmesini soleus kası önler. Ayrıca bu kas kompleksi dizde fleksiyon ve subtalar eklemda supinasyon da oluşturur [32]. Yani aşil tendonu diz, ayak bileği ve subtalar eklem olmak üzere üç ekleme etki eder.

Gastroknemius ve soleus kas kompleksi yürüyüş esnasında basma fazının ikinci ve üçüncü intervallerinde fonksiyon görür. İkinci interval yürümenin %15-40 arasında yer alır. Bu esnada bu kas kompleksinin esas fonksiyonu tibianın plantar fleksiyona giden ayak üzerinden öne translasyonunu kontrol etmektir. Yürüyüşün %34'lük kısmına gelindiğinde ise topuk kalkışı başlar. Yürümenin %40-62'lik bölümünde ise üçüncü interval yer alır. Bu zaman diliminde triseps surae kasının konsantrik kasılması sonrası ayak bileğinde hızlı plantar fleksiyon meydana gelir [33]. İn-vivo aşil tendon kuvvetinin ambulasyon esnasındaki değerlendirmeleri sonucunda topuk vuruşundan hemen sonra aşil tendonunda sessiz bir dönem olduğu ve daha sonra itme fazına kadar kuvvetin hızlıca artarak pik yaptığı bulunmuştur [34]. Bu pik kuvvet miktarı üçüncü interval boyunca korunur. Yürüyüşün basma fazının bitiminde aşil tendonunda vücut ağırlığının %250'si kadar yüklenme olduğu saptanmıştır [32].

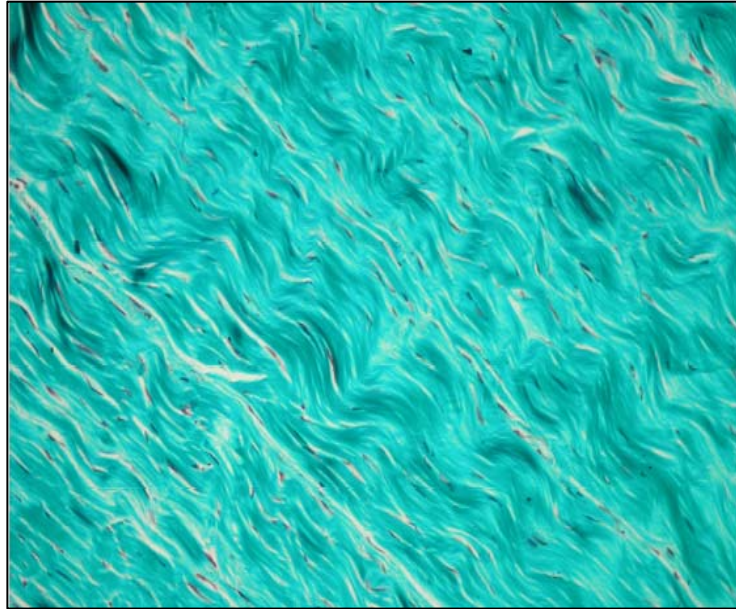
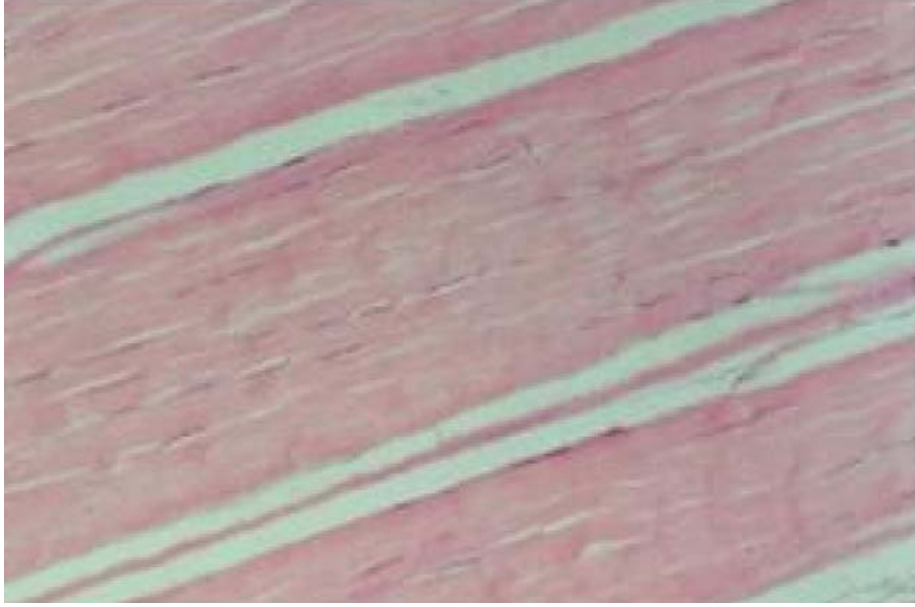
Aşil tendonu sural sinir ile yakın bir komşuluğa sahiptir. Yapılan bir kadavra çalışmasında sural sinirin distalde aşil tendonunun kalkaneusa yapışma bölgesinin ortalama 18 mm lateralinde yer aldığı gösterilmiştir. Proksimalde ise sural sinir, tendonu kalkaneusa yapışma bölgesinden ortalama 9.8 cm uzaklıkta çaprazlar ve tendonun lateralinde seyreder [35]. Bu nedenle özellikle aşil tendon kesileri, yaralanmaları ve cerrahileri sırasında sural sinir zedelenebilmektedir [26].

## 2.2. Tendon Histolojisi

Makroskopik olarak tendonlar uzun ve beyaz renkli yassı yapılardır. Çok sayıda kollajen lifi, az miktarda mukopolisakkaritlerden zengin amorf madde (şekilsiz ara madde) içerisinde çok az miktarda hücreli yapı içeren bir sıkı bağ dokusu elemanıdır [36].

Normal tendonun yapısı seyrek iğ şeklinde tendon hücreleri ve arada oldukça organize olan hücre dışı matriksten oluşur (Resim 2.2.1, Resim 2.2.2) [37, 38]. Matrikste tendona kendi gücünü kazandıran uzun iplikler halinde sıkı tip I kollajen demetleri vardır. Kollajen arasında küçük proteoglikan ve glikozaminoglikan zincirlerinden oluşan ara madde bulunur. Normal tendonda ışık mikroskopunda fark edilmeyen çok az ara madde vardır [36]. Ara madde ve kollajen tenoblastlar tarafından sentezlenmektedir. Tendonların %90-95 hücreli elemanı tenoblast ve tenositlerden meydana gelir. Tenoblastlar tendonda histolojik olarak en sık izlenen hücrelerdir ve aynı zamanda tamirci hücreler olarak görev yaparlar. İmmatür tendon hücreleridir ve olgunlaşma gerçekleştiğinde tenosit haline dönüşürler. Yara bölgesinde toplanarak intrasellüler maddeler salgırlar ve skar dokusunu oluştururlar [36]. Tenositler ise inaktif hücrelerdir. Aerobik Krebs siklusu, anaerobik glikoliz ve pentoz fosfat şant yollarını kullanarak enerji gereksinimlerini karşırlar. Kollajen lif demetleri arasına paralel yerleşmiş az sayıdaki tenositler, enine kesitlerde demetler arasına sokulan ışınal sitoplazmik uzantılara sahiptirler ve buldukları yerin şeklini alırlar. Tendonun kalan %5-10'luk hücreli elemanları ise kemik yapışma ve

insersiyon bölgelerinde bulunan kondrositler, tendon kılıfında bulunan sinovyal hücreler, kapiller endotel hücre ve arteriollerin düz kas hücrelerini oluşturan vasküler hücrelerdir [39].

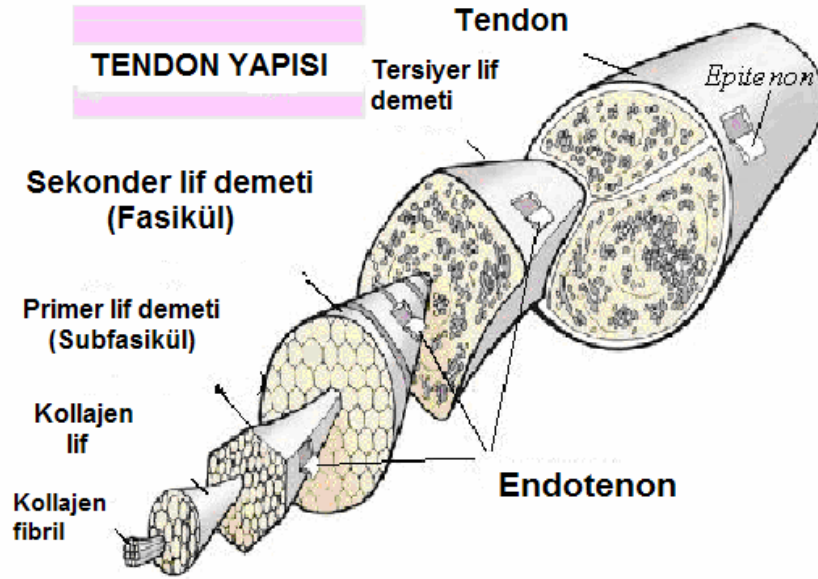


**Resim 2.2.1, Resim 2.2.2: Normal tendon dokusunun histolojik görüntüsü**



Tendonun yapısı hiyerarşik bir düzen içerir; fasiküller fibrillerden, fibriller mikrofibrillerden ve mikrofibriller tropokollajenlerden oluşmaktadır. Tendonun yapısı incelendiğinde birincil ünite kollajen fibrilleridir. Tendon genel olarak paketlenmiş tip I kollajen fibrillerinden oluşur. Belli sayıdaki kollajen fibrilleri birleşerek primer demetleri (fiberler) oluştururlar ve çıplak gözle de görülebilen bu oluşumlar tendon lifi olarak adlandırılırlar. Fiberler de birleşerek kan, lenfatik damarlar ve sinirleri de içeren fasikülleri oluştururlar.

Endotenon ince gevşek bir bağ dokusudur. Primer lif demetlerinin etrafında kollajen demetlerine paralel olarak yer alır ve tendon fasiküllerini ayırarak sarar. Bu bağ dokusu ile birlikte damar sinir yapıları kollajen lifleri arasında seyrederek [40]. Fasiküller bir araya gelerek epitenon ile sarılır ve tendonun kaba yapısı ortaya çıkar (Şekil 2.2.1). Epitenon iki tabaka halindedir. İçteki tabaka endotenon üzerinde seyrederek ve sinirler için koruyucu işlev görür. Dıştaki tabaka ise çevre bağ dokusu ile devam eder. Epitenon hücreleri tendon onarımında çok önemli bir rol oynar [39]. Epitenon kas-tendon bileşkesinden itibaren kas üzerinde epimisyum olarak devam eder. En son tabaka da tendonu çevre dokulardan ayıran paratenondur. Paratenon, tendonun dış yüzeyini saran ince, beyaz, parlak, sinovya benzeri gevşek bağ dokusu kılıfıdır, genel olarak kollajen tip I ve tip III kollajen fibrillerini, bazı elastik fibrilleri ve sinovyal hücrelerin yerleştiği iç düzeyi barındırır. Epitenonun dış yüzeyini destekler ve epitenondan sürtünmeyi azaltarak tendon hareketine izin veren ince bir sıvı tabakasıyla ayrılır. Paratenonun temel fonksiyonu her bir tendonun kendisine yakın yapılarla bağlantısı olmaksızın serbest olarak hareket etmesini sağlamaktır. Epitenon ve paratenon içinde elastik lifler de bulunur ve kan damarlarından oldukça zengindirler. Oysa endotenonda çok az sayıda damarsal yapı mevcuttur. Primer demetler içinde ise hiç damar yoktur. Dolayısıyla metabolizmaları oldukça yavaştır [36].



**Şekil 2.2.1: Tendonun histolojik yapısının şematik görünümü**

Paratenonun dış yüzeyi düzdür ve çevre dokuyla çok sayıda bağlantı içermektedir. Böylece tendon hareketleri kısıtlanmamış olur. Artmış mekanik strese maruz kalan ve yeterli lubrikasyonun sağlanması gereken el ve ayaklar gibi bölgelerde tendonlarda sinovyal tendon kılıfı bulunur. Sinovyal kılıfın iç katmanı tendon cismini kuşatır ve sinovyal sıvı üretmek amacı ile ultrafiltrasyon membranı olarak davranır. Kılıf, sinovyal sıvı içeriyorsa tenosinovyum, içermiyorsa tenovajinum adını alır [41]. Bu kılıf mezenkimal kökenli yassı hücrelerden oluşan iki tabakadan meydana gelmiştir. İç tabaka paratenona sıkı şekilde tutunurken dış tabaka çevre dokulara yapışıkır. İki tabaka arasında bir boşluk mevcuttur ve tabakaların boşluğa bakan yüzleri devamlılığı olmayan mezotel hücreleri ile döşenmiştir. Bu boşlukta sinovya benzeri protein, glikozaminoglikan, glikoprotein ve iyonlar içeren bir sıvı bulunur. Bu sayede tendon en dış kılıf içinde kayarak hareket edebilme özelliğini kazanır [38, 42]. Aşil tendonu ayak bileği etrafındaki diğer tendonlardan farklı olarak sinovyal kılıf içermez. Peritenon ince gevşek bağ dokusu kılıfidir. Tendonun hemen üzerinde epitenon ve en dışarıda paratenonu oluşturur. Peritenon ve tendonun bağ dokusu birbiriyle devamlılık gösterir. Aşil tendonu paratenonu el ve bilek tendonlarında olan sinovya tabakasına sahip olmasa da arka tarafta mukopolisakkaritlerle kayganlaşmış birkaç ince kayan membrana dönüşür [42].

### 2.2.1. Kollajen Yapısı

Diğer konnektif dokularla kıyaslandığında tendon dokusu, rölatif olarak daha az hücre, daha fazla ekstrasellüler matriksten oluşmaktadır [43]. İnsan tendon toplam ağırlığının %30'unu kuru tendon ağırlığı oluştururken %70 ağırlık ise içerdiği su tarafından meydana gelir [44]. Tendonun kuru ağırlığının %75-90'ını ise kollajen oluşturur. Tendon yapısında yer alan kollajenin yaklaşık %95'i tip I kollajen kalan kısmı ise tip III kollajendir [2].

Bağ dokusunun ana bileşeni olan kollajen, insan vücudunda en çok bulunan proteindir. Tendonda diğer dokulara göre en yüksek oranda bulunur [45]. İnsan vücudunda 30 kadar farklı polipeptid zincirinden meydana gelen bilinen 27 tip kollajen vardır [46]. Tip I kollajen kemik, tendon, deri ve diş dahil olmak üzere bağ dokunun çoğunda bulunur [47].

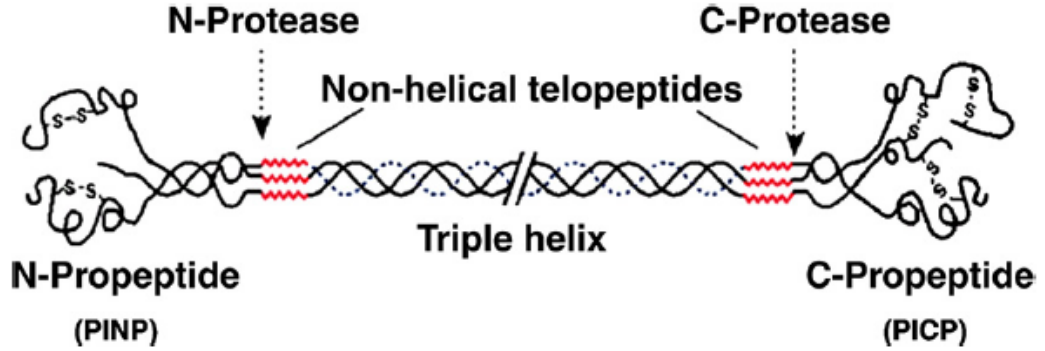
Tendonda kollajen yapım ve yıkım hızı oldukça yavaştır. Kollajen molekülü tenoblastlar tarafından prokollajen olarak sentezlenir. Prokollajen ekstrasellüler alanda peptidaz enzimleri tarafından parçalanır ve tropokollajen molekülü meydana gelir. Hidroksiprolin, polipeptid zincirleri arasında hidrojen bağlarını meydana getirerek üçlü tropokollajen sarmalının dayanıklılığına yardımcı olur. Tropokollajen kümelenerek kollajen fibrillerini oluşturur. Fibriler yapı tropokollajen molekülleri arasındaki çapraz bağların oluşması ile güçlenir. Çapraz bağlar ise bağ dokusunun gerilme kuvvetini sağlar. Kollajen molekülündeki çapraz bağların sayısı ve kalitesinin artması tendonun gerilme kuvvetinde artış ile sonuçlanır [33]. Tendonlar gerilme güçlerine karşı oldukça dirençli oldukları halde esneme yetenekleri yok denecek kadar azdır [48]. Oldukça sıkı aralıklarla ve birbirine paralel seyreden kollajen lifleri yer yer kalın demetler oluştururlar. Bu yapısal özellik, tendonun gerilme ve çekme güçlerine karşı direnebilmesini sağlar.

Kollajen basitten komplekse doğru giden hiyerarşik bir yapılanma gösterir. Üç adet hidrofilik tropokollajen zinciri çapraz bağlarla bir araya gelerek hidrofobik kollajen molekülünü, bunlar da örgütlenerek mikrofibril ve fibrilleri oluşturur. Proteoglikanlar, glikoproteinler ve su matriks içinde fibriller ile birleşerek fasikülleri oluştururlar [39]. Kollajen lif, mekanik olarak test edilebilen ve ışık mikroskobu altında görülebilen tendonun en küçük ünitesidir. Kollajen lifleri longitudinal olarak yerleşmiş olmalarına rağmen transvers ve horizontal olarak yerleşerek spiraller oluştururlar [33].

Kollajen ve tenositlerin etrafını saran ekstrasellüler matriks örtüsü proteoglikan, glikozaminoglikan, glikoprotein ve diğer birkaç küçük molekülden oluşur. Proteoglikanlar oldukça hidrofilik olup, suda çözünen moleküllerin difüzyonunu ve hücrelerin migrasyonunu sağlarlar. Fibronektin ve trombospondin gibi adeziv glikoproteinler tendonda tamir ve rejenerasyon döngüsünde görevlidir. Tendon cisminde, osteotendinöz ve myotendinöz bileşkede oldukça bol miktarda bulunan ve ekstrasellüler matriksin diğer önemli bir komponenti olan Tenascin-C kollajen dizilimi ve oryantasyonunda önemli rol oynar [39]. Tenascin-C salgılanma miktarı mekanik gerilmeler ile düzenlenir ve tendinopatide salınımı artar [33].

### **2.2.2. Kollajen Döngüsü ve Biyokimyasal Belirteçler**

Tendonda kollajen yapım ve yıkım döngüsü oldukça yavaştır. Kollajen sentezinde fibrillerin oluşmadığı dönemde prokollajen peptidlerin C ve N terminalleri yeni oluşmakta olan molekülden ayrılıp dolaşıma geçmektedir. Bu peptidler; prokollajen karboksiterminal propeptid (PICP) ve tip I kollajen aminoterminal propeptid (PINP) olup, yeni kollajen sentezinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Kollajen yıkımını göstermek için ise indirekt belirteçler olarak ise CTX-1 (Tip I kollajenin karboksi terminal telopeptidi) ve ICTP (Tip I kollajen karboksi terminal telopeptid bölgesi) kullanılmaktadır (Şekil 2.2.2.1) [49].



**Şekil 2.2.2.1: Tip I prokollajen molekülü şematik görüntüsü**

Serum PINP miktarı tendon, kas, deri ve kemik gibi dokulardaki tip I kollajen sentezini gösterir. CTX-1 ise tip I kollajen yıkım belirteci olarak idrarda incelenmiştir [50]. Kollajen molekülleri çeşitli yollarla degrade olmakta ve ölçülen bu peptidler kollajen yıkımı için bir fikir vermektedir. Daha önceki insan çalışmaları akut egzersiz ve uzun süreli antrenmanlar sonucu peritendinöz PINP düzeyinin arttığını desteklemektedir [51-53].

Bütün kollajen tiplerinde üçlü sarmal yapı vardır. Tendonlarda bulunan tip I kollajenin her biri 1000 aminoasit içeren üç polipeptid zincirinden oluşmuştur. Tip I kollajende bu polipeptid zincirlerin ikisi birbirinin aynı ( $\alpha_1$ ), diğeri farklıdır ( $\alpha_2$ ). Polipeptid zincirlerindeki her üç pozisyondan birinde glisin bulunmaktadır. Zincir glisin-X-Y olarak tekrarlar. X genellikle prolin, Y ise genellikle hidroksiprolin veya hidroksilizindir [54]. Hidroksiprolin ve hidroksilizin; prolin ve lizinin, prolin ve lizin hidroksilaz enzimleri ile hidroksilasyonu sonucu oluşurlar. Bu enzimlerin kofaktörleri askorbik asit, oksijen ve  $\alpha$ -ketoglutarattır. Hidroksiprolin içeren peptitler kemik ve diğer dokulardan kollajenin prolitik yıkımıyla idrara verilir. Ayrıca hidroksiprolin tip I kollajenin sentezinden de açığa çıkar. Hidroksiprolin düzeyi kollajen metabolizmasının göstergesi olarak kabul edildiğinden, kollajen

sentezinin artması veya azalması kan, idrar ve dokulardaki hidroksiprolin düzeyleri ile takip edilebilir [55].

### 2.2.3. Tendon Matriks Proteinleri

**Elastin:** Sert ve esnemeye dirençli kollajenin aksine elastin lastik benzeri özellikleri olan bir bağ dokusu proteindir. Elastin ekstremitte tendonlarında çok az bulunur. Elastin lifleri normal uzunluklarının birkaç katına kadar uzayabilirler ve germe kuvveti ortadan kalkınca tekrar eski şekillerine dönerler. Tendon kuru ağırlığının % 2 kadarını elastin oluşturur [39].

**Zemin maddesi:** Zemin maddesi proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar, yapısal proteinler ve plazma proteinlerinden oluşan kompleks bir karışımdır. Bağ dokusunun hücre ve lifleri arasındaki boşlukları doldurur. Tendonlarda çok küçük konsantrasyonlarda (% 12'den daha az) bulunsa da tendonun yapısına ve kollajen dokunun fonksiyonuna önemli katkılar sağlayarak matriksin en önemli elemanı konumundadır. Doku zorlanması ve stres uygulanması sırasında sürtünmeyi azaltan visköz bir jeldir [33, 47].

Özellikle glikozaminoglikanlar negatif yüklü olmaları sonucunda kollajen lifleri ve proteoglikanlar ile etkileşerek kollajen lif dizilimini, gerim sonrası kollajen lif boyu restorasyonunu ve lifler arası mesafeyi etkileyerek aralarındaki çapraz bağların miktarını belirlerler. Glikozaminoglikanlar ayrıca kollajen lif çapına da etki ederler. Tendonların sıkıştırılan kesimlerinde kondroitin sülfat major glikozaminoglikandır, dermatan sülfat ise esas olarak tensil yük altında olan tendon bölgelerinde yoğunlaşmıştır. Kollajen lif çapı regülasyonunda, tek tek lifleri ayırmada ve hareket esnasında makaslama kuvvetlerini azaltmada tendon içindeki proteoglikanlar önemli rol oynar. Proteoglikanlardan en önemlileri dekorin, biglikan, lumikan ve fibromodulindir. Fibronektin ise hücre-matriks adezyonunda önemlidir. Elastik lifler tendonun şok absorbe edici kapasitesine etkir ve kollajen dizilim paterninin

sağlanmasında önemlidir. Dejeneratif tendonlarda tip III kollajen miktarının artışı, proteoglikan depolanmasının artışı, azalmış oksidatif enzim aktivitesi ve artmış hidrolitik enzim aktivite artışı görülür [33, 47].

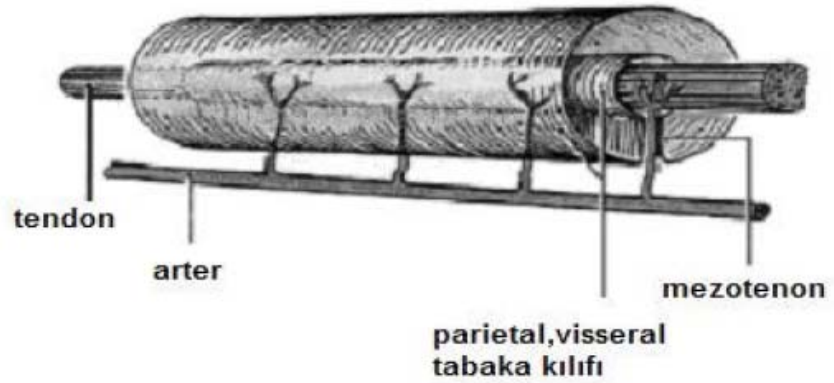
### 2.3. Tendon Beslenmesi

Kolliker ve Sappey'in çalışmalarına kadar tendonlar avasküler yapılar olarak kabul edilmiş ve beslenmelerinin sinovyal difüzyon yoluyla olduğu düşünülmüştür [56]. Ancak son çalışmalar tendon iyileşmesinde vaskülarizasyonun önemini ortaya koymaktadır. Tendonlar hem vasküler perfüzyon, hem de sinovyal difüzyon yoluyla beslenirler. Beslenmelerinin ne kadarının perfüzyonla ne kadarının ise difüzyonla sağlandığı bilinmemekle birlikte, yapılan çalışmalar sinovyal difüzyonun vasküler perfüzyondan daha etkili olduğunu göstermiş ve difüzyonun vasküler yapıdan arındırılmış tendonun beslenmesi için yeterli olduğunu kanıtlamıştır [57, 58]. Lagergren intratendinöz damarların tendonu oluşturan kollajen demetler boyunca kanallar şeklinde bulduklarını göstermiştir. Her bir kanalda bir arter ve iki ven bulunur ve venler kendi arasında karşılıklı anastamozla ilişki halindedirler [59].

Aşil tendonunun kan dolaşımı üç bölgeden sağlanır; kas-tendon birleşim bölgesi, etraf yumuşak dokular, paratenon ve kemik-tendon birleşim bölgesi. Sürtünmeyi azaltmak için kılıflarla kaplı olan tendonlarda ana damarlardan çıkan dallar sinovyal kılıfın viseral tabakasına ulaşabilmek için vinkulalardan (mezotenon) geçer. Burada bir pleksus oluştururlar ve tendonun yüzeyel kısmını beslerler. Bazı damarlar ise tendonun daha derinine ilerler ve endotenon içinde seyrederek peritendinöz ve intratendinöz damar ağını birbirine bağlarlar.

Sinovyal kılıf içinde tendonun vasküler yapısı intrinsek ve ekstrinsek vasküler sistem olarak iki ana başlık altında toplanır. Hangi sistemin baskın olarak dolaşıma katkıda bulunduğu ise tendondan tendona değişir. Ekstrinsek vasküler sistemi, mezotenon içindeki damarların kılıf içine doğru sinovyal refleks uzantı, vinkulumlar,

osseöz insersiyon noktaları oluşturur. İntrensek vasküler yapı ise endotenon içinde seyreden vasküler yapılardır. Ekstensör tendonlarda intrensek ve ekstrensek vasküler dolaşım fleksör tendonlardakine benzer. Paratenonla çevrili ekstensör tendonlarda kan damarları paratenon tabakaları arasına transvers olarak girerler. Sinovyal kılıfın olmadığı aşıl tendonu gibi tendonlarda paratenon kanlanmaya yardımcı olur. Paratenon ile çevrili olan tendonların zengin kapiller ağı ve bunu besleyen bir çok damarları vardır. Paratenondan ayrılan arteryel damarlar epitenona girerek endotenon içinde intratendinöz vasküler ağ oluştururlar (Şekil 2.3.1) [40]. Bu nedenle paratenon tendon iyileşmesinde kilit bir rol oynar.



**Şekil 2.3.1: Tendonun arteryel damarlanması**

Bileşke bölgelerinde veya torsiyon, sürtünme ya da kompresyona maruz kalan bölgelerde tendon kanlanması azalır. Aşıl tendonunun kanlanmasını ortaya koyan klinik çalışmalarda tendon yapışma bölgesinin 2-7 cm proksimalinde hipovasküler bir alan tespit edilmiştir ve bu hipovasküler alan tendon yaralanmalarının sıkça karşılaşıldığı bölgeyi oluşturmaktadır [60, 61]. Aynı şekilde intratendinöz damarların da kalkaneusa yapışma yerinin 4 cm proksimalinde yoğunluğunun azaldığı saptanmıştır [62]. Fakat bu çalışmalara zıt olarak, lazer doppler flovmetri yöntemi ile sadece insersiyon bölgesinde damarlanmanın azaldığı ve kalan tüm tendon boyunca kanlanmanın eşit olduğu da gösterilmiştir. Genel olarak ilerleyen yaş ve artan mekanik yüklenme sonrası kanlanmanın azaldığı bilinmektedir. Sonuç itibariyle tendonların beslenmesi etraftaki dokuya ve bulunduğu bölgeye göre özellikler gösterir.



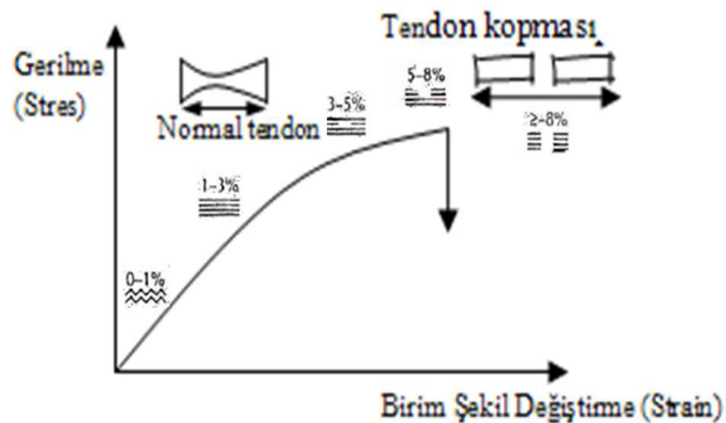
## 2.4. Tendon İnnervasyonu

Tendonların innervasyonu esas olarak kutanöz, musküler ve peritendinöz sinir gövdelerinden sağlanır. Sinir liflerinin bir kısmı, tendonların kasa yakın bölgelerinde, tendon mekiği adı verilen yapıları oluştururlar. Tendon mekiği, sinir liflerinin bağ dokusu tarafından sarmalanmış kollajen lifleri etrafında dolanmasıyla oluşur. Sinir sonlanmalarının myelinli lifleri özelleşmiş mekanoreseptörler olarak (golgi tendon organı) fonksiyon görürler ve basınç ve gerime duyarlıdırlar. Afferent sinir lifleri, tendonları aşırı uzamalara karşı korur. Golgi tendon organları en fazla myotendinöz bileşkede bulunur. Myelinsiz sinir sonlanmaları ise nosiseptörler olarak fonksiyon görür ve ağrıyı algılama ve iletmekle görevlidirler. Tendonlarda hem sempatik hem de parasempatik sinir lifleri mevcuttur [39].

## 2.5. Tendon Biyomekaniği

Bilindiği üzere tendonlar kaslardaki gücü kemiklere ileten özelleşmiş yapılardır. Gastroknemius ve soleus kaslarının tendonları, ayakta durma, postural kontrol, yürüme, koşma ve sıçrama aktiviteleri sırasında aktiftir ve bu hareketler esnasında aşıl tendonu da gastroknemius ve soleus kasları tarafından yaratılan gerilmeyi kalkaneusa iletir. Tendonlar sadece kasılmış kasların yarattığı gücü kemiklere iletmekle kalmaz, aynı zamanda deforme olup, daha sonra tekrar orjinal uzunluklarına dönebilme yeteneğindedirler. Tenositlerde bulunan aktin ve miyozin kastan kemiğe yük aktarımında ideal bir mekanik yapı oluşturur.

Kollajenin mekanik davranışı moleküler yapısındaki bağların sayısı ve biçimiyle değişkenlik gösterir. Tendonların etkili bir şekilde çalışabilmesi için yüksek gerici kuvvetlere sınırlı uzama ile karşı koyabilmeleri gerekmektedir. İstirahat halindeki tendonlar, kollajen fibrillerinin kıvrılmasına bağlı olarak, dalgalı bir biçime sahiptirler. Bu dalgalı biçim tendon %2 seviyesinde gerildiği zaman kaybolur. Tendonun gerici kuvvetlere karşı ilk cevabı liflerinin düzleşmesidir. Bu durum temel olarak kollajenin elastik özelliklerine bağlıdır ve kuvvet-deformasyon (stres-strain) eğrisinin başlangıcını oluşturur (Şekil 2.5.1). Gerilme eğrisi tendonun yük altındaki davranışını açıklamada yardımcı olur. Bu noktanın ötesinde tendonlar kollajen üçlü helikslerinin molekülleri arasındaki bağların kırılmasına bağlı olarak çizgisel bir şekilde deforme olurlar ve kollajen fibrilleri paralel hale gelir. Eğrinin ikinci kısmında, kollajen lifleri deforme olur ve yüke doğrusal olarak cevap verirler; eğer tendondaki gerilme %4'den fazla değilse tendon elastik özellik gösterir ve lifler orjinal durumlarına geri dönerler. %4 ile %8 arasındaki gerilmelerde ise kollajen lifleri birbirleri üzerinde kayar ve çapraz bağlantılar arasında kopmalar başlar, kollajen yapısında mikroskopik düzeyde bozulma başlar. Gerilme seviyesi %8'den fazla olduğunda ise lifler gerici kuvvetlere karşı koyamadığından gözle görülen bir deformasyon vardır, intrafibriler hasar meydana gelir ve makroskopik kopmalar oluşur. Bu seviyeden sonra ani olarak komplet rüptür gerçekleşir ve lifler geri çekilerek düğümlenirler, tomurcuk haline gelirler [39].



Şekil 2.5.1: Birim şekil değiştirme - gerilme diyagramı

Tendon rotasyonu aşıl tendon patolojilerinde önemli bir rol oynar. Dönmüş kollajen lifleri tendon içinde yüksek stres konsantrasyonlarının oluşumuna yol açar. Bu durum aşıl tendonu içinde temel olarak tendonun kalkaneusa yapışma yerinin 2-5 cm proksimalinde oluşur ki; burası aşıl tendon kopmalarının en sık olduğu bölgedir [63].

Tendon hem sert hem de esnektir. Erkekteki kesitsel alanı bayanlara oranla daha geniştir ve kopması için daha büyük kuvvet gerektirir. Gençlerde ise sertliği daha az esnekliği ise üst düzeydedir [64].

Tendonun mekanik yük altındaki davranışı yapısındaki kollajen miktarına, kalınlığına, içeriğine, organizasyonuna, lif çapına ve birbirleri arasındaki stabil çapraz bağların (piridinolin) yoğunluğuna bağlıdır. 1 cm<sup>2</sup>lik bir tendon 500-1000 kg taşıyabilir. Tendonların kırılma noktaları çeliğinkine yakındır. Sıçrama ve yük kaldırma gibi yorucu aktivitelerde çok fazla yük tendon üzerine biner [33, 65]. Tendon gerim kuvveti tip III kollajen yoğunluğu ve proteoglikan/kollajen oranı ile ters orantılıdır. Biyomekanik yüklenme analizleri ve implante elektrodlar ile yapılmış çalışmalarda koşma esnasında aşıl tendonu üzerinde 9 kN yani vücut ağırlığının 8-12 kat fazlası yük olduğu tespit edilmiş ve bu değer de aşıl tendonunun taşıyabileceği en büyük yüke çok yakın olduğu bulunmuştur [66]. Bu değer yürüme sırasında 2,6 kN, bisiklet kullanmada 1 kN civarındadır [62]. Tendona uygulanan gerim ne kadar hızlı ve oblik planda ise tendonun kopma riski de o kadar yüksektir ve en yüksek güç eksantrik kas kontraksiyonu esnasında görülür [67]. Bir kollajen fibrilinin mekanik gücü, üçlü heliks yapısında oluşturduğu molekül içi bağlarla birlikte çapıyla ilişkilidir. Öyle ki fibril çapı arttıkça biyomekanik dayanıklılık da artmaktadır [68]. Dejenerasyona uğramış tendonlarda ve tendon iyileşmesi sürecinde yoğunluğu artan tip III kollajen fibril çapının tip I'e göre daha küçük olduğu bilinmektedir [69].

## **2.6. Tendon Yaralanmalarında Etyopatogenez**

Tendon yaralanmaları akut veya kronik olabilir, sadece intrinsek ve ya sadece ekstrinsek nedenlerle olabildiği gibi bunların kombinasyonu şeklinde de meydana gelebilir[70]. Akut travmalarda ekstrinsek faktörler ön planda iken kronik vakalarda

intrensek faktörler daha önemli rol oynamaktadır. Aşıl tendinopatisinde bu iki faktörün birlikteliği söz konusudur. İntrensek faktörlerden biyomekanik hatalar ve dizilim bozukluğu aşıl tendon rahatsızlığı olan bireylerin üçte ikisini oluşturmaktadır.[71] Özellikle ayağın hiperpronasyonu aşıl tendinopati insidansını arttırmaktadır [70].

Dejenerasyonu başlatan asıl patolojik uyarının şiddetli fiziksel aktivite boyunca aşırı yüklenme olduğuna inanılmaktadır [72]. Fizyolojik eşiğin üzerinde tekrarlayan yüklenmeler hem tendon kılıfında inflamasyon hemde tendon dejenerasyonu ile sonuçlanmaktadır [2]. Muhtemelen, tenositler ekstrasellüler matriks protein yapım ve yıkımını dengesini kontrol ederek tamir sürecini düzenlemektedirler. Tendon yıkımı fizyolojik sınırdaki stresler, tendon onarımına izin vermeyecek ölçüde sık kümülatif mikrotravmalar nedeni ile de olabilmektedir.

Tendinopatiler; histolojik olarak gelişigüzel ve bozulmuş tamir cevabı ile karakterizedir [70]. İnflamatuvar hücreler yoktur ve intratendinöz kollajen dejenerasyonu görülür [70]. Ek olarak, liflerlerde incelme ve dezoryantasyon, dağınık vasküler büyüme, lifler arasında artmış glikozaminglikan birikimi söz konusudur[70]. Elektron mikroskopisinde birçok tendon dejenerasyon tipi tek tek veya birlikte görülebilir, isim olarak da: hipoksik dejenerasyon, hyalin dejenerasyon, miksoid dejenerasyon, fibrinoid dejenerasyon, lipoid dejenerasyon, lipoid dejenerasyon, kalsifikasyon, fibrokartilaj veya kemik metaplazidir. Bununla birlikte en sık görüleni miksoid ve lipoid dejenerasyonudur [70]. Normalde makroskopik olarak parlak ve beyaz renkli olan tendon dokusu bu dejeneratif süreçte biçimsiz, gri-kahverengi hal alır.

Tendinopatinin altında yatan fizyopatolojik süreç hala tam olarak ortaya konamamıştır. Birçok patolojik durum tendon dejenerasyonu ile sonlanabilir. Şu durumların hepsi tendinopatiyi başlatabilir: hipoksi, iskemik hasar, oksidatif stres, hipertermi, bozulmuş apoptoz, inflamatuvar medyatörler, florokinolonlar ve matriks metalloproteniaz dengesizlikleri [70]

Tendinopati etyolojisinde birçok teori ortaya atılmıştır ancak halen tam olarak açıklanamamıştır. Tendon maksimal gerim yükü altında iken iskemi meydana gelir. Dinlenimde ise reperfüzyon meydana gelir ve serbest oksijen radikalleri oluşur bu da tendon yıkımına neden olur ve tendinopati ile sonuçlanır [39]. Peroksiredoksin 5, antioksidan bir enzimdir ve hücreleri örneğin reaktif oksijen taneciklerinde olduğu gibi hasara karşı korur [39]. Peroksiredoksin 5 insan tenositlerinde bulunmaktadır [39]. Tendinopatide ekspresyonu artmıştır, bu bulgu oksidatif stresin rolü olduğunu desteklemektedir. Hipoksi de tek başına dejenerasyon ile sonuçlanabilir çünkü tendonların hücresel ATP seviyelerini koruması oksidatif enerji metabolizmasına dayanmaktadır. Şiddetli egzersiz süresince tendonda lokalize hipoksi ile birlikte olan tenosit ölümü meydana gelebilir [39].

Tendon histopatolojisinde 4 köşe taşı vardır: 1- hücre sayısı ve hücresel aktivitede artış, 2- çevresel içerikte artış, 3- kollajende bozulma ve 4- neovaskülarizasyon. Aşıl tendon biyopsilerinin histopatolojik değerlendirilmesi, intratendinöz mikrodializ ve uygun olarak hazırlanmış biyopsiler ile yeni moleküler biyoloji teknikleri (cDNA-arrays, real-time quantitative PCR) sonucunda prostglandin aracılı inflamasyon gösterilememiştir [73]. Ancak nörojenik inflamasyonun işaretleri bulunmuştur [73]. Substans P ve CGRP (calcitonin gene-related peptide) gibi nöropeptidlerin bulunması da tendonda hala inflamasyon olabileceğine işaret edebilir. Periferik lokal ağrı uyarıcı IV. grup peptiderjik liflerin uçlarından peptid salgılamasına yol açar ve nörojenik inflamasyona katkı sağlayan birçok patofizyolojik olayı başlatır.

Tendon aşırı kullanım yaralanmaları, geneli tendinopati diye isimlendirilir, meslek sebebiyle veya sporcu olan milyonlarca kişiyi etkilemektedir. Tendinopati intrinsek ve ekstrinsek faktörlerden veya her ikisinin de birlikte olduğu bir nedenden meydana gelebilmesine rağmen aşırı mekanik yüklenmenin en büyük sebep olduğu düşünülmektedir [73, 74]. Tendon kopma eşiğinin altında tekrarlayan submaksimal

gerilmeler (strainler) tendon mikroyaralanmalarına ve aralıklı tendon inflamasyonuna neden olmaktadır. Tekrarlayan mekanik yüklenmelere cevap olarak PGE2 ve LTB4 üretimi ile meydana gelen tendon inflamasyonu, tendinopati gelişime nedeni olabilir [74]. Buna ek olarak invitro insan tendon fibroblastlarının tekrarlayan mekanik yüklenmeleri PGE2 VE LTB4'ü arttırmaktadır. Tendon midsubstans'ına PGE2 enjeksiyonun tendon matriksinde dejeneratif değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir. Önceki bir çalışmada tendinopati semptomları gösteren bireylerin Aşil tendonlarında mikrodializ tekniği ile ölçülen PGE2 seviyeleri sağlıklı bireylerden anlamlı ölçüde yüksek bulunmuş [74].

Duyu siniri içeri büyümesi (ingrowth): Kronik ağrılı tendonlarda, duyu sinir liflerinin içeri doğru büyüdüğü gösterilmiştir ki normalde tendonlarda sinir bulunmaz [75]. Tendonda duyu sinir liflerinin içeri doğru büyümesi tekrarlayan yüklenmeye ve yaralanmaya bir cevap olarak meydana gelmektedir. Normal tendon onarımında duyu sinir liflerinin içeri doğru büyümesi artmış nosisepsiyon ile birlikte, sonrasında bunu otonomik sinir liflerinin içeri doğru büyümesi takip eder ki bu nosisepsiyon azalması ile eşzamanlı olur ve bunu sinir geri çekilmesi (retraksiyonu) izler [74]. Bu nedenle, tendinopatideki nöronal regülasyon bozukluğu aşırı artmış duyu sinir dallanması ile karakterizedir ve otonomik modülasyon eksikliği iyileşme yanıtının bozulmasını yansıtabilir ki bu tendinopatide ağrı sinyalinde artışa yol açar ve muhtemelen hiperproliferatif/dejeneratif değişiklikler ile birlikte.

Aşil tendonu, rotator manşet ve ön çapraz bağ yaralanmalarının altındaki temel neden halen bilinmemektedir. Genetik komponent ile bağ dokusu bozuklukları arasında Mendelyen kalıtıma sahip osteogenezis imperfekta, Ehlers–Danlos sendromu, Marfan sendromu vb hastalıklarda olduğu gibi muhtemel bir spektrum olduğunu vurgulamak gerekmektedir [76]. Diğer yandan bu spektrum kompleks bir yapıya sahip multifaktöryel bir durumdur, bir durumun gelişiminde birçok gen ürünün ve çevrenin kompleks etkileşimi söz konusudur ve genler arası veya gen çevre etkileşimi diye de adlandırılır. Bazı çalışmalar ABO kan grupları ile aşil tendon patolojileri arasındaki ilişkiyi ABO geninin varyantları için biyokimyasal markerlar

kullanıp 9. kromozomun bu bölgesinde bulunan potansiyel genlerin araştırılması ile Aşil tendon yaralanmaları için aday olduğunu doğrulamıştır [76].

TNC geni TNC kodlar. TNC yüksek gerime ve kompresif strese maruz kalan tendon gibi dokularda bol miktarda buluna bir glikoproteindir. TNC gen ekspresyonu tendona uygulanan mekanik yüklenmenin miktarına göre düzenlenir [76]. Bu protein birçok hücre yüzeyi reseptörüne, integrin gibi ekstrasellüler matriksin diğer komponentlerine bağlanabilir ve bu sayede hücre –matriks etkileşimine katılır. Buna ek olarak, TNC ekspresyonunun aşil tendinopatisinde arttığı gösterilmiştir, bu bulgu TNC'nin tendinopati ile ilişkili olduğunu kanıtlamaktadır [76]. Bu nedenle TNC geninin, aşil tendon yaralanmaları için aday olabilecek genlerden biri gibi tanımlaması akla yatkındır.

COL5A1 geni az miktardaki heterotrimerik tip V fibriler kollajenin alfa 1 zincirini (pro-a1 (V) zinciri) kodlar [76]. Pro-a1 (V) zinciri tip V kollajenin birçok izoformunda bulunmaktadır [76]. Tip V kollajen, tendonlarda ve diğer bağ dokularında bulunmaktadır ve kollajen liflerin fibrilogenезisini düzenler [77]. COL5A1 geni de aşil tendon yaralanmaları için ideal genlerden biridir. Eğer COL5A1 ve/veya TNC geni Aşil tendinopatisinin etyolojisine direkt olarak katılıyorsa, bu genlerdeki geçici değişimlerin tanımlanması gerekmektedir. Matsuda ve ark. TNC'nin ekzon 17'sinde lokalize olan SNP'yi tanımlamıştır, bu 1677. pozisyondaki lōsinin izolōsinle yer değiştirmesine neden olur[78]. SNP bu genin intron 16sındaki GT dinōkleotide komşudur. Amino asit değişiminin TNC proteinin içinde bulunan fibronektin III'ün yapısal stabilitesini değiştirmesi beklenmektedir ve Japon halkında erişkin astım ile birlikteliği daha önce gōsterilmiřtir. SNP ile Aşil tendon yaralanması arasındaki ilişkisinin araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Aşil tendon yaralanmalarının etyolojisi multifaktöriyeldir, bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda farklı intrensek ve ekstrensek faktörlerin etkileşiminin araştırılması önem arz etmektedir. COL5A1 ve TNC'nin vücut ağırlığı fiziksel aktivite gibi çevresel faktörlerle etkileşimi önceki çalışmalardan hariç tutulamaz ve ileri araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Lomber disk dejenerasyonunda vücut ağırlığında artış ile COL9A3 arasındaki ilişki daha önce gösterilmiştir [79].

COL3A1 geninde mutasyonların gösterildiği, otozomal dominant geçişli Ehlers–Danlos sendromu tip II'de spontan Aşil veya patellar tendon rüptürü meydana geldiğine dair birçok vaka çalışması bulunmaktadır [80, 81]. COL3A1 geni spontan Aşil tendon rüptürlerinde uygun bir gen adayı olabilir.

## 2.7. Tendon İyileşmesi

Tendonlar normal fizyolojik yüklenme sırasında dayanabilecekleri maksimum stresin ancak üçte biriyle karşı karşıya kalırlar. Daha fazla kuvvet uygulandığında yaralanma olur. Önce kollajen bantlarında mikro yetmezlik olur, ardından tam kopma gerçekleşir. Cildin, subkutanöz dokuların, tendonların ve tendon kılıflarının yaralanmasından sonra genelde aynı tip skar dokusu oluşur. Tendon uçlarındaki skar dokusu yakın dokularda oluşanlardan ayrılamaz.

Genel olarak tendonlar diğer bağ dokuları(kemik vb.) ile aynı iyileşme basamaklarından geçse de daha yavaş iyileşme hızına sahiptir [82].

Devamlılığı bir noktada bozulan bir tendonun rejenerasyonu tendon hücreleri ile kollajen demetleri arasındaki fibroblastlar tarafından sağlanır. Tendon bütünlüğünün bozulduğu bölgede bu hücreler bir yandan hızla çoğalırken diğer yandan kollajen lifleri sentezleyerek aralığı kapatırlar [83]. Bu sırada en önemli rolü daha iyi kanlanan ve bol fibroblast içeren paratenon tabakası oynar [83]. Her iki uçta kılıf



hücrelerindeki metabolizma hızlanır, kollajen yapım hızı artar ve kısa süre içinde uçlar arasında köprü kurulur [83]. Akut bir hasarlanma sonrası tendon iyileşmesi inflamasyonla başlar. İkinci aşama granülasyon dokusunun oluşumu (proliferasyon veya tamir dönemi), son evre ise matriksin yeniden şekillenmesi (remodeling) evresidir (Şekil 2.7.1) [84].

İnflamasyon aşaması hasarlanmayı takiben ilk birkaç günde olur ve ekstresek kaynaklardan gelen hücreler bölgeyi istila ederek granülasyon dokusunu oluşturur ve neovaskülarizasyonu başlatırlar. Serbest damar uçlarından sızan kan pıhtılaşır. Yaralanma bölgesinde lizise uğrayan doku artıkları ve kan pıhtıları debris dokusunu oluştururlar. Birinci haftanın sonunda tam olarak bilinmeyen bir mekanizmayla uyarılan ve bölgeye gelen fibroblastlar hızla çoğalır ve kollajen sentezleyerek tamir sürecini başlatırlar [83]. Bu esnada gelişen hücreler ve kollajen komponentleri rastgele dizilmişlerdir. Aynı zaman dilimi içinde sinovyal sıvıda bir hücrel yapıştırıcı görevi gören fibronektin maddesinin yoğunluğu artar. Zamanla kollajen ve glikozaminoglikan yoğunluğu artarak hücreler daha sıkı olarak bağlanırlar [83]. Remodeling aşamasına geçildiğinde bu komponentler daha organize olarak tendon aslına paralel konuma geçerler. Bu son faz 6 ile 12 ay kadar devam eder [85].

İyileşme fazı	Günler	Histoloji	Tensil Kuvvet	Yorumlar
<b>İnflamatuvar</b>	0-5	Hücrel proliferasyon	Yok	Neoangiogenez
<b>Fibroblastik</b>	5-28	Fibroblastik proliferasyon, organize olmamış kollajen	Artan	Fibronektin fibroblastları yakalar
<b>Remodelizasyon</b>	>28	Lineer kollajen organizasyonu	Kontrollü aktif hareketi tolere edebilecek kuvvette	Yüklenmenin etkisiyle stres hattı boyunca kollajen köprüleşmeleri

**Şekil 2.7.1: Tendon iyileşmesinin fazları**

Normal bir sinoviyal sıvı içinde belirli oranlarda bulunan hyalüronik asidin(HA) yoğunluğunun artması, fibroblast çoğalması üzerinde negatif etki yaparak hücrelerin sayıca artısını baskılamaktadır [83]. Romatoid artritli hastaların eklemlerinde HA yoğunluğunun azaldığı, bu azalmanın pannus dokusunun oluşumundan sorumlu olduğu gösterilmiştir [83]. Ancak in vitro doku kültürü çalışmalarında, düşük miktarlardaki pürifiye HA'nın fibroblast çoğalmasını uyardığı, sinoviyal sıvı ortamında fibroblastların en fazla olduğu gösterilmiştir [83]. Bu bulgular klinik çalışmalarla henüz desteklenmemiştir. Sinoviyal sıvı yoğunluğu ve HA miktarının travmadan ne şekilde etkilendiği kesin olarak bilinmemekle beraber, bu değişikliklerin onarım sürecini hızlandırma yönünde olduğu sanılmaktadır [39]

Fernando ve Movat tavşanlarda tenotomi sonrası ışık ve elektron mikroskopisi ile yaptıkları çalışmada, tendonun kollajen fibriller geliştirerek iyileştiğini göstermişlerdir [83]. Rüptür sonrası 3-5. günlerde tendon uçlarında az veya çok olan rastgele dizilmiş proliferatif fibroblastlar 7 gün sonra çeşitli derecelerde uyum göstermektedir. Onbir gün sonra ise tendonun uzun aksı boyunca fibroblastların çoğunluğunun uyum göstermekte oldukları gösterilmiştir [83]. Rejenerasyonun erken fazında bol miktarda mukopolisakkarit yanında hücreler ve fibriller rastgele dizilmektedir. Daha sonra tendonun uzun aksı boyunca bu fibroblastlar uyum göstererek kollajen fibril demetlerini yaparlar [83]. Yapılan deneysel bir çalışmada köpek, kedi, tavşan, rat ve Gine domuzlarında tendondaki iyileşmenin, tensil gücünde iki evrelili artış şeklinde olduğunu bildirilmiştir. İlk artış besinci günde fibroplazi ile başlar ve 12-14. günlerde maksimuma ulaşır [83]. İkinci artış ise 18-22. günlerde başlar. Bu artış ile oluşan değişim, dokunun organizasyon basamağı için gereklidir. Kollajen fibrilleri daha büyük, kan damarları daha az olup benzer bir doku olmasına karşın, tam olarak normal doku değildirler. Bu ikinci değişim organizasyon fazı normal güce ulaşmaya kadar (ratlarda 60 gün, tavşanlarda 180 gün) devam eder [83]. Köpeklerde ise 358 gün geçtiği halde normal güce ulaşmaz [83]. Tendonun iyileşme evrelerine göre kazandığı tensil kuvveti sekil 4'te gösterilmiştir. Tendon iyileşmesi büyük oranda intrinsek iyileşme ile olurlar. Tendon onarımı 7-10 günlerde en zayıftır, çoğu orijinal gücüne 21-28 günlerde ve maksimum gücüne 6. ayda

ulaşırlar [86]. Fleksör tendonlarda ideal iyileşme, kollajen fibrillerinin devamlılığının yeniden sağlanması ve düzgün kayma yüzeyinin restorasyonu ile gerçekleşir [87]. Tavşanlarda yapılan bir çalışmada, vasküler yapıdan arındırılmış tendonların sinovyal açıdan difüzyon yolu ile iyileştikleri ve bu nedenle iyileşme işlevinde intrinsek kapasitenin olduğu sonucuna ulaşılmıştır [83]

Tendon iyileşmesi birbiri üzerine binmiş 3 basamaktan oluşur. İlk olarak yaralanma bölgesine eritrosit ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile karakterize inflamatuvar faz başlar. İlk 24 saatte monosit, makrofaj ve fagosit edilmiş nekrotik materyaller ön planda iken inflamatuvar fazın baskın hücresi nötrofillerdir [70]. Yaralanmış bölgeye vazoaktif ve kemotaktik faktörler salınır. Bunun sonucunda vasküler geçirgenlik artar, anjiogenez başlar, tenosit proliferasyonu uyarılır ve yaralanmış bölgede daha fazla inflamatuvar hücre toplanır [88]. Tenositlerde bu bölgede giderek artarak tip III kollajen sentezini başlatırlar [89].

Aşil tendonu, rotator manşet ve ön çapraz bağ yaralanmalarının altındaki temel neden halen bilinmemektedir. Genetik komponent ile bağ dokusu bozuklukları arasında Mendelyen kalıtıma sahip osteogenezis imperfekta, Ehlers–Danlos sendromu, Marfan sendromu vb hastalıklarda olduğu gibi muhtemel bir spektrum olduğunu vurgulamak gerekmektedir [76]. Diğer yandan bu spektrum kompleks bir yapıya sahip multifaktöryel bir durumdur, bir durumun gelişiminde birçok gen ürünün ve çevrenin kompleks etkileşimi söz konusudur ve genler arası veya gen çevre etkileşimi diye de adlandırılır. Bazı çalışmalar ABO kan grupları ile aşil tendon patolojileri arasındaki ilişkiyi ABO geninin varyantları için biyokimyasal markerlar kullanıp 9.kromozomun bu bölgesinde bulunan potansiyel genlerin araştırılması ile Aşil tendon yaralanmaları için aday olduğunu doğrulamıştır [76].

Daha önce September ve ark. tarafından yazılan bir makalede kollajen çeşitleri, proteoglikan ve glikoproteinler gibi yapısal proteinleri kodlayan genlerin Aşil tendon yaralanmaları için aday olabilecek ideal genler olduğu belirtilmişti. Aşil tendon patolojilerinde bu genlerin ekspresyonun artması veya azalması da bunu desteklemektedir. Bu genlerden tenascin C (TNC) ve COL5A1, bununla birlikte

COL27A1, ABO geni ile aynı kromozomal bölgede yani 9.kromozomun uzun kolunun telomerik ucunda lokalizedir [76].

Birkaç gün sonra rejeneratif faz başlar ve birkaç hafta devam eder. Tip III kollajen sentezi bu dönemde pik yapar. Ek olarak, su içeriği ve glukozaminglikan konsantrasyonu bu dönemde hala yüksektir [89].

Yaklaşık 6 hafta sonra remodelling fazı başlar. Sellülarite azalır, kollajen ve glukozaminglikan sentezi devam eder ve iyileşme dokusu yeniden şekillenir. Remodelling fazı konsolidasyon ve maturasyon evresi olarak 2ye ayrılabilir[90]. Konsolidasyon evresi yaklaşık olarak 6 ila 10 hafta arasında sürmektedir. Bu evrede tenosit metabolizması hala yüksek seyretmektedir ve tamir dokusu sellülerden fibröz hale değişir. Tip I kollajen sentezi ön plandadır, tenositler ve kollajen lifleri stresin olduğu doğrultuda dizilirler [70]. 10 hafta sonra maturasyon evresi başlar ve 1yıl kadar devam edebilir [70]. Bu evrede, fibröz yara dokusu giderek skar benzeri tendon dokusu halini alır [70]. Bu evrenin ikinci yarısında tenosit metabolizması ve tendon vaskülaritesi azalır.

Yaralanma olduğunda granüllerini boşaltan trombositlerden büyük miktarda PDGF salınır ve bu yaralanmadan sonra erken dönemde yaralanma sıvısında da bulunur. Ayrıca in situ hibridizasyon ve immünhistokimya kullanılarak PDGF ekspresyonu ve reseptörleri sıçangiller, domuz ve insan yara dokusu gibi birçok hücrede gösterilmiştir. PDGF ve PDGF reseptör ekspresyonu parakrin mekanizma ile etki gösterir.

Tendon iyileşme basamaklarının düzenleyicisi gibi, büyüme faktörlerinin önemi çok iyi ispatlanmıştır. Deneysel çalışmalar, yaralanmada ve inflamasyonda trombositlerden, polimorfonükleer lökositlerden ve makrofajlardan PDGF, TGF-beta, EGF, IGF gibi birçok büyüme faktörünün salındığını göstermiştir [91]. Bu büyüme faktörleri neovaskülarizasyon ve fibroblast kemotaksisini uyarmadan sorumludur ve fibroblast proliferasyonu ile kollajen sentezi için uyarandırılar [91]. Hayvan modellerinde bazı büyüme faktörlerinin dışarıdan verilmesi tendon iyileşmesini geliştirmiştir.

Bu çalışmadaki sonuçlar birçok büyüme faktörü ve sitokinlerin yaralanma dokusunda bulunduğunu göstermiştir [92]. Ekspresyon dinamikleri karakteristik olarak temporal ve spasiyal olarak düzenlenir ve büyüme faktörlerinin ekspresyon paternindeki değişim yara iyileşmesinde bozulma ile birliktedir [92]. En önemlisi bir faktörün düzeyindeki değişim diğer büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin üretimini de etkileyebilmektedir. Bunu da proinflamatuvar sitokinleri ve serum büyüme faktörlerini yara iyileşmesinin erken dönemi süresince salınması ve diğer büyüme faktörlerinin kuvvetli bir uyararı olması ile görmekteyiz [92].

## **2.8. Tendinopati Modellemeleri**

Son yüzyılda elde edilen tıbbi gelişmelerin çoğu direk veya indirek yollarla hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalara dayanır. Hayvan modelleri hem klinik çalışmanın kendisi hem de tamamlayıcısı olabilir. Hayvan modellemeleri klinik gözlemlere ve boşlukları açıklamaya yönelik hipotez kurmanıza izin verir, buradan elde ettiğiniz yeni bulgular klinik uygulamalara aktarılabilir. Hayvan çalışmaları klinik çalışmalar ile birlikte ilerler, hastalıklar ve rahatsızlıklar konusunda birinden elde edilen bulguların diğerine aktarılması ile bilgiler güncellenir, yenilenir. Tendonlar konusunda yapılan hayvan çalışmaları yeni değildir, tendinopati kliniğine artan ilgi ile eşzamanlı olarak popüler hale gelmiştir. Tendinozis modellemesinde insan yerine hayvan modellemesi çalışmanın birçok yararı vardır. İlk olarak hayvan çalışmaları organ, doku ve moleküler seviyede derin invazif analiz sağlayabilir. Aynı şekilde insan tendonunun incelenmesi için biopsi, cerrahi veya post mortem olarak örnekler alınmasını gerektirir ancak bu uygulamanın invazif doğası gereği patolojik ve normal tendon yapısına sahip büyük gruplardan canlı doku örneği alınması gerektiğinden pek olası değildir. Buna ek olarak insandan invazif yöntemle alınan tendon dokusu örneklerinin kronik patolojisi oturmuştur ve tendinopati patogenezi çalışmaları için uygun değildir [93].

Hayvan modelleri sayesinde invazif analiz yapma araştırmacılara tendinozisi birçok yönden ileri düzeye de inceleme olanağı sağlar. Hayvan tendonlarında tendinozisin erken döneminde meydana gelen değişiklikler açıklanabilir, patojenik yolaklar keşfedilebilir, tendinozis gelişimini önleyici stratejiler geliştirilebilir. Bu yolakları insanda açıklamak neredeyse olanasızdır nk tendinopati semptomların ortaya çıkmasından daha önce başlamaktadır ve asemptomatik insanda tendon dokusu rneği almayı haklı gösterecek bir dayanak yoktur [93]. Hayvan çalışmalarında tendinozis ile birlikte meydana gelen değişiklikler derinlemesine incelenebilir ve yeni değerlendirmeler yapılarak olayı açıklamaya yönelik olasılıklar belirlenerek hedefe yönelik çalışmalar yapılabilir. Ayrıca Amerika’da FDA (Food and Drug Administration) yeni bileşiklerin klinik çalışmalarda kullanıma geçmeden önce güvenliğinin ve etkinliğinin değerlendirilmesi amacı ile hayvan modellerinde çalışmayı şart koşmuştur [93]. Tendinopatide bu gereksinimler nedeni ile çalışmalar hayvan tendinozis modellerinde yürütülmektedir.

Hayvan modelleri araştırmacıların değerkenleri kontrol altına alarak yeni patolojik yolakları keşfetmesine yardımcı olmaktadır. Örneğin hayvan modelinde diğer olası sebepler kontrol altında tutulup tek bir genetik veya çevresel faktörün etkisi izole edilebilir. Bunu klinikte uygulamak zordur, genetik ve çevresel zgemişler bireylerde farklılıklar göstermektedir bu da çok fazla çeşitliliğe neden olmakta ve büyük örnek gruplarına ihtiyaç doğurmaktadır [93].

Tendinopati meydana getirmek için birçok yöntem geliştirilmiştir ancak genel olarak mekanik ve kimyasal uyarım ile gerçekleştirilen tendinopatiler diye 2 başlık altında toplanmaktadır.

### **1- Mekanik uyarım ile**

#### **a- Aktif katılımlı modeller**

Mekanik uyarı yolu ile tendinopati oluşturmak için en sık olarak kullanılan yöntem tekrarlı treadmill koşusudur [94]. Örneğin bu yöntem supraspinatus tendon yaralanmasını incelemek için kullanılmaktadır. Çeşitli egzersiz protokolleri uygulanan hayvanlarda birkaç hafta sonra supraspinatus tendonunda kontrol grubuna oranla belirgin ve dramatik değişiklikler görülmektedir [95].

Materyal özelliklerdeki değişikliklerin yanı sıra, aşırı kullanıma cevap olarak tüm parametrelerde histolojik değişiklikler de gözlenmektedir [94]. İnsanda da aynı şekilde olduğu düşünülen bu değişiklikler, tendonun tekrarlayan yüklenmeler ile akromiyal arkın altında kompresyona maruz kalmasına bağlı olarak şiddetlenmesi sonucunda meydana gelmektedir.

Mekanik uyarı ile tendinopatiyi de içeren dejeneratif değişiklik oluşturmada treadmill koşusu dışında, tekrarlayan uzanma ve yakalama yöntemi de alternatif bir modeldir [96]. Bu modelde, hayvanlar başlangıç yakalama hızına ulaşamamakta ve zamanla motor beceri ve kontrol bozulmaktadır. Tekrarlayıcı hareketlerden oluşan bu model nedeni ile aktiviteden birkaç hafta sonra tendonda hem fonksiyonel değişiklikler hemde inflamatuvar cevap oluşmaktadır.

#### **b- Pasif katılımlı modeller**

Tekmeleme makinası ile genel anestezi altındaki tavşanların ayak bileğine pasif fleksiyon ve ekstansiyon uygulanır aynı zamanda elektrik stimülasyonu kullanılarak simültane aktif kas kontakasyonu tetiklenir [97]. Simültane kas uyarımı ve pasif hareket ile uygulamadan birkaç hafta sonra tendon ve paratenonda histopatolojik değişiklikler elde edilebilmektedir [97].

Tekmeleme makinasının değişik bir formundaki çalışmada kas stimulasyonu tibiyal sinire implante edilen elektrodlar ile yapılmıştır ancak sonuçlar tamamen farklı çıkmıştır [98]. nceki çalışmadan farklı olarak bu çalışmada da yüklenme frekansı fizyolojik değerlere daha yakındır, iskelet sistemleri olgun tavşanlar kullanılmıştır ve test sırasında yüklenme seviyeleri ölçülmüştür. Aşıl tendonuna yapılan yüklenmeden 11 hafta sonra herhangi bir mikroskopik veya büyük değişiklik görülmemiştir öyleki matriks organizasyonu, sellülarite, vaskülarite, su içeriği ve DNA konsantrasyonu kontrol tendonlarından farklı bulunmamıştır. nceki çalışmanın tersine yüklenme yapılan aşıl tendonunda inflamasyon veya dejenerasyona ait herhangi bir histolojik bulgu saptanmamıştır [99]

Eski bir çalışmada tavşanlarda fleksor digitorum profundus (FDP) tendonuna medial epikondilde siklik yüklenme oluşturacak şekilde sadece uyarı verilerek mikro yapısı ve moleküler değişiklikleri incelenmiştir [100]. Anestezi altında FDP kası toplamda 80 saatlik yüklenme oluşturacak şekilde uyarılmıştır. Tendonlar mikroyırtıklar(3 – 300 mm<sup>2</sup> alan) ve birçok büyüme faktörünün miktarı ve lokalizasyonu açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlar daha önce tanımlanan treadmill koşusu modeli ile uyumlu bulunmuştur ve aşırı kullanıma bağlı olarak VEGF seviyesi de artmış olarak saptanmıştır [101]. Bu kas stimulasyon modelinde mikroyırtıkların mı büyüme faktörleri ekspresyonlarını arttırdığı yoksa büyüme faktörleri seviyesindeki değişikliklerin mi tendon yapısını bozarak mikroyırtıklara neden olduğu bilinmemektedir [94].

Bir çalışmada, genel anestezi altında sıçanların cerrahi olarak açılmış aşıl tendonlarına yk bağlanıp sarkıtılarak yaralanma modeli oluşturulmuştur [102]. Bu alışma ile yaralanma sonrası iyileşme cevabının 2. saatte başladığı ve 4 hafta kadar sürdüğü gösterilmiştir.

Sıçan patellar tendonlarına in vivo yorgunluk düzeyine kadar yüklenilerek yeni bir teknik geliştirildi [94]. Anestezi altında, patella ve tibiya düzeyinde klemp yardımı ile dize kk insizyonlar yapılarak patellar tendona yüklenmeye izin verildi. Bu modelde tek bir siklik yüklenme uygulandı ve yüklenme sonrasında 1 ile 2.hafta da



sakrifiye edildi. 1.haftada histolojik bulgular değişkendi, bazı bölgelerde azalmış sellülarite ve matriks organizasyon bozukluğu, bazı bölgelerde artmış sellülarite ve onarım gözlendi. 2.haftada enine kesit alanı arttı ve yüklenilen tendonda ultimate stres ve modulus (nihai gerilme ve zorlanım) azalmış olarak bulundu. Histolojik ve mekanik sonuçlar, MMP regülasyonu yüklenilen tendonda insan tendinopatisindeki benzer olarak bulunması ile bu modelin ileri araştırmalar için kullanışlı bir örnek olduğu düşünöldü.

### **c- Ekstresek alternatif modeller**

Rotator manşette dejenerasyon ve tendinopatinin ekstresek faktörler tarafından özellikle korakoakromiyal ark (“impingement”) tarafından sıkıştırılması ile meydana geldiği veyahut şiddetlendiği düşünölmektedir [94].

Sıçanlarda aşil tendonunun akromiyon etrafına sarılması ile akromiyal ark ve supraspinatus tendonu arasındaki mesafe daraltılarak “ impingement” modeli geliştirilmiştir [94]. Bu model aşırı kullanım yaralanmasının tek başına yol açtığı biyolojik ve mekanik değişikliklerin daha büyüğüne yol açması önemli bir ayrıntıdır. Bu çalışmalar göstermiştir ki, tendon özelliklerinde önemli değişiklikler elde etmek için ekstresek sıkıştırma tek başına yeterli değildir, tendinopatinin daha çok multifaktöriyel nedenler ile meydana gelmesi gerçeği de düşünölerek supraspinatus tendonunda tendon özelliklerine daha fazla zararlı olabilecek durumların bir arada olduğu bir konsept ile daha iyi bir model oluşturulabilir [94].

Subakromiyal “impingement” için farklı bir modelde sıçanların omuzlarına, akromiyon altına kemik plaklar transplante edilerek geliştirilmiştir[94]. Akromiyon ve infraspinatus arasındaki boşluğu daraltmak amacı ile bir veya iki plak kullanılmıştır. Tüm deney sıçanlarında ameliyat sonrası infraspinatus tendonunda, çoğunda da bursal yüzde olmak üzere yırtık meydana gelmiştir. Bu model tutarlı bir

şekilde infraspinatus tendonunda yırtık oluşturabildiğini göstermiştir, bu da subakromiyal impingement'in rotator manşet yırtıklarında, özellikle de bursal yüz tarafındakilerde rol oynayabileceğini işaret etmektedir [94].

## **2- Kimyasal uyarım ile**

### **a- Kollajenaz Modeli**

Hayvan modellemelerinde tendinopati çalışmak amacı ile çoğu kez intrensek yöntem olan degradasyon ve inflamasyona başvurulmuştur. Bunlar içinde de en sık kullanılanı kollajenazdır[94]. Kollajenaz günümüzde bazı araştırma grupları tarafından hem akut yaralanma hemde tendinopati çalışmak amacı ile kullanılmaktadır. Çelişkili sonuçlar bulunmuştur ancak bunlar çalışma protokolündeki farklılıklardan kaynaklanabilmektedir. Örneğin, tendonda lezyonun büyüklüğü veya yaralanmanın derecesi kullanılan kollajenazın miktarı ile orantılıdır. Kollajenaz enjeksiyonu sonrasında, beklendiği gibi, tendonlar da matriks yıkımı, yoğun hemoraji ve eksudasyon görülür [94]. Bu bulgular ultrasound ile ekojenite yoğunluğunda azalma şeklinde görülebilir [94]. Semptomlar giderek azalır ve yara bölgesi granülasyon dokusu ile dolar. Doku kalitesindeki iyileşme tendon krimp paternindeki kısmi geri dönüş ile gösterildi [94]. Ancak krimp paterni asla tam olarak normale dönmedi, lifler paralel dizilimini kaybettiler ve çapları azaldı [94]. Tendonların enine kesit alanı genelinde arttı ve normale dönmedi [94].

Büyüme faktörlerinin tendon iyileşmesinde önemli etkileri olduğu düşünülmektedir ve kollajenaz uyarısı ile oluşturulan tendinopati modelinde bu konu da çalışılmıştır.

Tendinopatideki en önemli sorunlardan biri de fonksiyon kaybıdır ve bu nedenle tendinopati modellerinde fonksiyon iyi bir göstergedir [94].

Özet olarak, kolejenaz ile oluşturulan tendinopati modeli, matriks yıkımı, artmış hücre sayısı ve vaskülarite artışı gibi klinikte görülen tendinopati ile birçok benzer özellik gösterir. Ek olarak, yaralanmanın ciddiyeti tendona uygulanan kollajenazın hacim ve konsantrasyonu ile kolayca kontrol edilebilir [94]. Kolejenaz injeksiyonu treadmill koşusuna göre inavif bir yöntem olsa da tendinopati takip ve tedavisi için kullanışlı bir hayvan modelidir [94].

#### **b- Alternatif kimyasal modeller**

Kollejenaz modeli çok yaygın olarak kullanılsada, tendinopatinin nedeni inflamatuvar bir reaksiyon mu yoksa mekanik bir yaralanmadan mı kaynaklanıyor tartışması devam etmektedir. Kolejenaz injeksiyonu hızlıca inflamatuvar yanıt oluşturur ve eş zamanlı olarak mekanik degradasyon gerçekleşir [94]. Birçok grup bu nedenle sadece inflamatuvar cevabı uyarmak ve normal tendonda etkisini tanımlamak için çalışmaktadır.

Tendinopati oluşturmak için kullanılan ilk non-kollejenaz ajan sitokinler ve bilinmeyen ajanların karışımı idi [103]. İnflamatuvar hücreler bulunamadı ama sonradan çözünen fokal veya diffüz hücre artışı vardı. Bu çalışmalarda sitokin kullanılmasının kısıtlılarından biri de çok iyi tanımlanmamış olmalarıdır. Bu nedenle yaralanmanın asıl mekanizmasını ortaya çıkarmak zordur.

Yosun (carrageenan), endojen proteolitik aktivitesi olmayan bitkisel bir polisakkarid, injeksiyonu ile lökosit invazyonu sağlanarak tendon hasarı oluşturmada kullanılmıştır [104]. Yoğun miktarda nötrofilin görüldüğü kollajenaz çalışmalarından farklı olarak bu modelde nötrofillerden daha fazla sayıda makrofaj birikimi olmaktadır. Bu model inflamatuvar hücrelerin nonspesifik yıkımı uyarmadaki intrensek rollerini çalışmak için çok uygundur.

Kortikosteroidler yaralanmış tendonun tedavisinde rutin olarak kullanılmaktadır; ancak kortikosteroidlerin kendilerinin de yaralanma oluturabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır [94]. İnjekte edilen hayvanların sadece yüzde 20'sinde hem paratenonda hemde tendon midsubstance'ında semptomlar görülmüştür [94]. Matriksde herhangi bir yıkım olmamıştır ama inflamatuvar reaksiyon tetiklenmiştir [94]. Bu gözlemler sonucunda kortikosteroidlerin inflame tendon ve paratenon da iyileşme basamaklarını çalışmak için iyi bir model olduğu kanısına varılmıştır.

Son olarak, prostoglandinler *in vivo* olarak mekanik yüklenme yapılan fibroblastlarda ve egzersiz sırasında artmış olması nedeni ile tendinopatiyi oluşturmada kullanılmıştır[105]. Deney hayvanlarında prostoglandinler tendinopati oluşumunu uyarılmış iken, aslında onların kolajenazın up-regülasyonuna yol açtığı düşüncesi de varsayımlar arasındadır [94]. Henüz prostoglandin injeksiyonu sonrasında kolajenazın regülasyonu inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca tendinopatisi olan bireylerde yapılan çalışmalarda, aşil tendonu PGE2 miktarında önemli değişiklikler saptanmamıştır [105].

Mekanik uyarım ile tendinopati oluşturulmaya çalışılan modellerde genellikle sub-travmatik düzeyde tekrarlayan uygulamalar kullanılmaktadır[94]. Bu mekanik yaralanmalar yoğun emek ve zaman gerektirir[94]. Tekrarlayan uygulamalar ile meydana gelen bu yaralanmanın insan tendinopatisinin doğal gelişimine benzer şekilde olduğuna inanılmaktadır. Tersine kimyasal veya biyolojik bir ajan kullanılarak tendinopati meydana getirilen kimsaya uyarım yaralanmaları nispeten non-invazif, kolay uygulanır, tekrarlanabilir ve geçerlidir. En çok kullanılan model olan kolajenazın uyardığı yaralanma modelinde tendon dokusu hasarı mekanik yıkımdan çok kollajen liflerin sindirimi şeklindedir ve burdaki tendinopati oluşumu insandaki tendinopatinin doğal gelişiminden farklıdır [94].

## 2.9. PRGF Tanımı ve Hazırlanması

### 2.9.1. PRGF Tanımı

PRGF belirli hacimdeki PRP'den hazırlanan, otolog plazma proteinleri ile karışık ve lökositleri uzaklaştırılmış trombosit zengin plazma olarak tanımlanır (Dental dialogue, Volume 3/2004 sf 1-15, Eduardo Anitua et.al ). PRP ise hematologlar tarafından trombosit zenginleştirilmiş plazmayı tanımlamak için kullanılan bir sözcüktür [106]. PRGF trombosit ve yara iyileşmesi ile ilgili büyüme faktörlerini içerir (Tablo 2.9.1.1) ayrıca fibrin, fibronektin ve vitronektin gibi yapışmayı sağlayan plazma proteinleride içinde bulundurur. PRGF az miktarda kandan elde edilir. Klinikte kullanım amacına göre miktarı ayarlanabilir. PRGF hazırlanırken birçok farklı santrifüj hızı tanımlanmaktadır, trombosit çökeltide lökosit bulundurulmaması esastır. Yavaş santrifüj sonrasında en alta kırmızı kan hücreleri, hemen üstünde "buffy coat" bölümüne kadar da lökositler bulunur bu bölümün yukarısı ise PRGF elde edilen kısımdır [106].

Büyüme faktörleri ilk olarak 1990'lı yıllarda maksillofasiyal cerrahi ve plastik cerrahide kullanımı ile popüler hale gelmiştir [107]. Ortopedide kullanımı ise içinde bulunduğumuz on yılın erken dönemlerinde kemik greftleri ile birlikte spinal füzyon ve kırık iyileşmesini augmented etmek amacıyla başlamıştır [108]. Kemik iyileşmesini artırma konusundaki potansiyel faydaları üzerine tartışmalar halen devam etse de [109], kas ve tendon yaralanmaları ve dejenerasyonlarının tedavilerinde PRP enjeksiyonu kullanımı gün geçtikçe artan klinik ve laboratuvar kanıtları ile desteklenmektedir (Tablo 2.9.1.2) [108]. Erişkin bireylerin tendon onarımında birçok büyüme faktörü yer almaktadır. Bu faktörler yaralanma, büyüme veya onarım bölgesindeki hücreler tarafından lokal olarak sentezleniyor veya kanlanma ile ulaştığı düşünülmektedir [16] Dirençli tendinopatilerde olduğu gibi bozulmuş iyileşme

cevabının olduğu durumlarda dışarıdan bu faktörlerin verilmesi ile iyileşme yanıtı geliştirilebilmektedir [16]. Az sayıda klinik kanıt bulunmasına rağmen hem poliklinik hem de ameliyathanede hazırlanmasını mümkün kılan cihazlarda son dönemde meydana gelen gelişmeler hem Avrupa’da hem de Kuzey Amerika’da spor hekimliğinde PRP kullanımında artış olmasına yol açmıştır [110].

Kas ve tendon iyileşmesi için gerekli olan trombosit ve büyüme faktörünün optimal miktarı üzerine tartışma devam etmektedir. Klinik olarak etkin olan PRP, normal trombosit konsantrasyonunun en az dört katını içerecek şekilde tanımlanmaktadır [107] ancak PRP etkinliği daha düşük konsantrasyonlu preparasyonlarda da gösterilmiştir [108]. PRP içinde bulunan lökositlerin etkisi tartışmalıdır. İn vitro kanıtlar iskelet kası miyotüplerinde nötrofil aracılıklı doğrudan yaralanma göstermiştir [108]. Bu durum matriks metalloproteinazları ve nötrofiller tarafından salınan reaktif oksijen türlerinin var olan doku hasarını şiddetlendirebileceğine işaret etmektedir[111].

PRP, trombosit konsantrasyonun taban değerden daha yüksekte bulunduğu hacimdeki otolog plazmaya denir [23]. Normal trombosit sayısı 150,000/ $\mu$ l ve 350,000/ $\mu$ l arasındadır, ortalama da 200,000/ $\mu$ l’dir. Kemik ve yumuşak doku iyileşmesinde 1,000,000 trombosit/ $\mu$ l’yi içeren 5ml volümündeki plazmadan oluşan PRP kullanıldığında gelişme bilimsel olarak kanıtlanmıştır [23]. PRP’nin işe yarayan tanımı budur. Doku iyileşmesinde daha düşük doz uygulanmasına güvnilemez ve daha yüksek konsantrasyonların doku iyileşmesinde daha fazla yarar sağladığı henüz gösterilememiştir [23].

Otolog kandan doğru konsantre de trombosit elde etmek için mutlaka çift santrifüj tekniği kullanılmalıdır [23]. İlk çevirim (sert çevirim olarak adlandırılır) plazmadan kırmızı kan hücrelerini ayırır ve bu kısım trombositleri, beyaz küreleri ve pıhtılaşma faktörlerini içerir [23]. İkinci çevirim (yumuşak çevirim olarak adlandırılır) hassas bir biçimde plazmadaki trombositler ve birkaç kırmızı kan hücresi ile beraber beyaz küreleri birbirinden ayırır [23]. Bu yumuşak çevrim ile PRP elde edilir ve trombositten fakir plazma ayrılmış olur [23]. Tek bir çevirim ile PRP girişimi sonucu

gerçek bir PRP edilemez. Bu ancak PRP ve trombositten fakir plazma karışımı olur onunda trombosit sayısı düşüktür[23]. Santrifüj hızından veya süresinden bağımsız olarak, tek bir çevrim ile trombositler yeterince konsantre edilemez, çünkü kırmızı kan hücreleri trombositlerin hassas ayırımında karışacaklardır [23].

PRP otolog kandan elde edildiği için güvenlidir ve HIV ve hepatit gibi bulaşıcı hastalıklar yönünden risk taşımaz. PRP içindeki artmış trombosit sayısı ile cerrahi bölgeye ulaşan büyüme faktörlerinin sayısı da artmaktadır.

PRP'nin otolog doğası göz önüne alındığında güvenlik bakımından endişeler en azdır. Herhangi bir enjeksiyon tekniğinde olacağı üzere potansiyel enfeksiyonu engellemek amacıyla aseptik teknik kullanılmalıdır. Çeşitli laboratuvar çalışmaları PRP'nin antimikrobiyal etkisi olabileceğini öne sürmektedir [112]. Göreceli kontraendikasyonları trombositopeni öyküsü olan hastalar, antikoagülan tedavisi gören hastalar, aktif enfeksiyon varlığı, tümör, metastatik hastalığı ya da hamile olan hastaları içermektedir [108]. PRP kullanımı ile ilişkili olarak herhangi bir karsinogenez, hiperplazi ya da tümör büyümesi vakası bildirilmemiştir [110].

Sağlık hizmetlerinin mevcut ekonomik sistemi göz önüne alındığında yeni bir tedavi yönteminin maliyeti önemli bir noktadır. PRP hazırlama sisteminin maliyeti dağıtım yapan şirkete ve kurumsal ilişkilere bağlı olarak değişmekle birlikte, deneyimlerimize göre tek seferlik preparasyonda enjektör başına 150 \$'lık bir ortalama maliyet oluşmaktadır [108]. PRP uygulamaları halen deneysel olarak nitelendirilmekte ve üçüncü taraf ödeyiciler yani sigorta şirketleri tarafından tazmin edilmemektedir.

Hücre kültür çalışmaları, tendon iyileşmesi ile ilişkili olan olayları PRP'nin stimüle edebileceğine dair kanıtlar sağlamıştır. Bazı araştırmalar PRP ile muamele edilmiş insan tenositlerinde artmış kollajen gen ekspresyonu ve vasküler endotelial büyüme faktörü ve hepatosit büyüme faktörü üretiminde artış olduğunu bulmuştur[108]. Oysaki bir çalışmada trombositten fakir plazma ile de benzer artışlar rapor edilmiştir.

PRP ile muamele edilmiş insan tenositlerinde aynı zamanda MMP (matriks metalloproteinaz) gen ekspresyonunda artış olduğu bulunmuştur ama tendon iyileşmesinde matriks metaloproteinazların önemi halen bilinmemektedir [113]. Ek olarak, Kajikawa ve ark. yakın zamanda PRP'nin dolaşımdan sağlanan hücrelerin enjeksiyon sahasına mobilize olmasını uyardığını ve tip I kollajen üretimini uyardığını bildirmiştir.

Bazı araştırmacılar PRP ile muamele edilmiş hayvan modellerinde daha fazla hücre proliferasyonu ve anjiogenez olduğunu göstermiştir[108]. Virchenko ve Aspenberg 2006 da yaptıkları bir çalışmada PRP ile muamele edilmiş sıçan Aşil tendon defektlerinde başlangıçta büyük rejenerasyon olduğunu göstermiştir ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 14'üncü günde tendon dayanıklılığında daha fazla artış bulmuştur. Mekanik yüklemeye elimine edildiğinde iki grup arasında dayanıklılık bakımından herhangi bir farklılık yoktur, bu durum nihai tendon şekillenmesinde PRP'nin önemini vurgulamaktadır. Yazarlar PRP'nin tendon tamirinde başlangıç enflamatuvar fazını hızlandırabileceğini ve erken mekanik yüklemeye için hücreleri daha hazır duruma getirileceği sonucuna varmıştır.

İskelet kasında, PRP'deki büyüme faktörlerinin laboratuvar çalışmalarında enflamatuvar fazı düzenlediği ve iyileşmeyi artırdığı gösterilmiştir[108]. Bir fare modelinde insulin benzeri büyüme faktörü-1 (Insulin-like Growth Factor/IGF-1) ve basit fibroblast büyüme faktörünün kas iyileşmesini artırdığı ve 1'inci ayda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hızlı kasılan kas kuvvetinde artış olduğu bulunmuştur[114]. Shen ve ark. tarafından 2008'de yapılan çalışmada, transforme edici büyüme faktörü- $\beta$ 1 ve prostaglandin  $E_2$ 'nin iskelet kasının iyileşmesi sırasındaki fibrozis seviyesinin düzenlenmesinde sinerjistik oldukları bulunmuştur, bu durum tam kas fonksiyonunun tekrar sağlanmasında önemli bir faktördür. Hammond ve ark.'nın 2009 da yaptığı çalışmada ise sıçanlarda trombositten fakir plazma ile PRP'yi karşılaştırarak etkilerini bildirmişlerdir. İyileşme süresinde meydana gelen iyileşmeler sadece yüksek tekrarlı kas yaralanma modelinde meydana gelmiştir. Bu durum PRP'nin sakrolemmal tamirdeki etkisine oranla miyogenez üzerinde daha büyük bir etkisi olduğunu düşündürmektedir.



Ön çapraz bağ rekonstrüksiyonlarında, artiküler kıkırdak yaralanmalarında, meniskal yaralanmalarda ve diz osteoartritinde PRP kullanımı henüz yeni araştırılmaya başlanmaktadır.

Şu an için çeşitli PRP hazırlama sistemleri mevcuttur ve ortopedistler ile spor hekimliği doktorlarının bunların arasındaki farklılıkları bilmesi gereklidir. Mükemmel güvenilirlik profili ve kolay hazırlanması göz önüne alındığında spor hekimliğinde PRP kullanımı gün geçtikçe artacak gibi görünmektedir.

İzolasyon sonrası PRP, aktive edici bir ajan ile birlikte ya da yalnız başına kullanılabilir. Kalsiyum klorür ve/veya trombin ile enjeksiyondan hemen önce kombine edilmesi trombosit aktivasyonunu, pıhtı oluşmasını ve enjeksiyon sahasında büyüme faktörü salınımını başlatır. Ekzojen bir aktivatör kullanmadan PRP uygulanması sıklıkla yapılmaktadır ve bu şekilde uygulandığında tendon türevli kollajende aktivasyonunun yavaş olduğu yakın tarihli çalışmalarda gösterilmiştir [108]. Cerrahi uygulamalarda, uygulama öncesi PRP yaygın olarak kalsiyum klorür ya da trombinle muamele edilmektedir. Bu durum, cerrahi bölgeye veya dikişe direk uygulanabilecek macun ya da jel kıvamında bir pıhtı elde edilmesini sağlamaktadır [115].

Ayaktan hasta için etkili preparasyon yapılabilmesini sağlayan birkaç PRP hazırlama sistemi mevcuttur. Otolog kan hacmi, santrifuj hızı/süresi, uygulama yöntemi, aktive edici ajan, lökosit konsantrasyonu, son PRP hacmi ve son trombosit ve büyüme faktörü konsantrasyonları gibi faktörler mevcut sistemleri birbirinden ayırmaktadır. Kalitatif ve kantitatif farklılıklar göz önüne alındığında PRP'nin klinik etkinliği için bildirilmiş kanıtlar hazırlama sistemlerinin tümü için genellenemez. Hastalar arasındaki hematolojik farklılıklar da (örn; lökosit ve trombosit sayıları) PRP preparasyonunu etkileyebilir.

Ancak, PRP de pıhtılaşma sadece kullanılacağı zaman yapılmalı. Pıhtılaşma trombositleri aktive ederek büyüme faktörlerinin hızlıca salgılanmasını başlatır. Depo edilen büyüme faktörlerinin %70'i 10 dakika içinde, tamamına yakını da ilk 1saatte salınır[23]. Trombositler ölünceye veya boşalana kadar yaklaşık olarak da 8 gün, bir miktar daha büyüme faktörlerini sentezlemeye devam ederler [23]. PRP antikoagüle halde 8saat boyunca steril ve stabil kalabilir [23]. Bu nedenle klinisyenler ancak kullanım zamanı geldiğinde PRP'yi aktive edip kullanmalıdırlar. Tam bir PRP taze bir pıhtı ve süpernatandan oluşmalıdır [23].

Trombositlerin in vivo ömrü yaklaşık 9 – 10 gündür. Forsberg ve ark. 2005'te yayınladığı makalede trombositlerin 20-24° C'de (oda sıcaklığında) sürekli olarak bir trombosit çalkalayıcı ile karıştırılarak 5 gün saklanabildiğini belirtmişlerdir. Derin dondurma işlevi, intrasellüler trombosit büyüme faktörlerinin salınması için kullanılan yaygın bir metottür. Dondurulmuş örneklerde biyolojik olarak aktif büyüme faktörlerinin vitro etkilerinin değişmediği gösterilmiştir [116].

<b>Büyüme faktörü</b>	<b>Kaynak</b>	<b>Fonksiyon</b>
Trombosit-kaynaklı büyüme faktörü	Trombositler	Hücre replikasyonunu ve anjiogenezi stimüle eder, fibroblastlar için mitojen
Vasküler endotelial büyüme faktörü	Trombositler	Anjiogenez
Transforme edici büyüme faktörü -β1	Trombositler	Fibrozis ve miyosit rejenerasyonu arasındaki dengede anahtar regülatör
Fibroblast büyüme faktörü	Trombositler	Miyoblastlar için proliferasyonu stimüle eder, anjiogenez
Epidermal büyüme faktörü	Trombositler	Mezenşimal ve epitelyal hücrelerin proliferasyonu, diğer büyüme faktörlerinin güçlendirilmesi
Hepatosit büyüme faktörü	Plazma	Anjiogenez, endotelial hücreler için mitojen, antifibrotik
İnsulin-benzeri büyüme faktörü-1	Plazma	Miyoblastları ve fibroblastları stimüle eder, büyüme ve iskelet kasın tamirinde aracılık eder.

**Tablo 2.9.1.1: Trombositten zengin plazmadaki büyüme faktörleri**

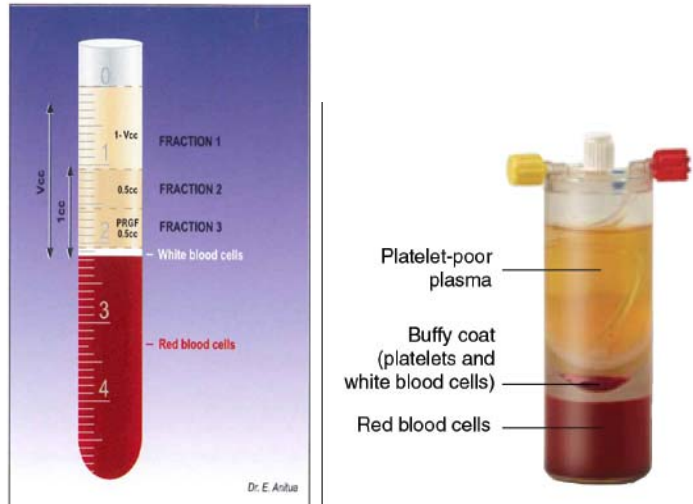
Çalışma	Uygulama alanı	Çalışma Tipi (kanıt seviyesi)	Hasta Sayısı	PRP Sistemi	Sonuçlar
<b>Cerrahi dışı</b>					
Mishra ve Pavelko <sup>17</sup>	Lateral ve mediyal epikondilit	Prospektif kohort (II; randomize 10 hasta)	20	GPS III (Biomet, Warsaw, IN)	8 haftada %60'a karşı %16 VAS iyileşmesi ; ortalama 25.6 ayda %93 ilerleme
Gosens ve ark. (basılmamış ön veriler, Mishra ve ark. <sup>23</sup> atıfta bulunulmuş) Kon ve ark. <sup>24</sup>	Lateral epikondilitis	Randomize kontrollü çalışma (I)	100	GPS III (Biomet)	Kortikosteroid enjeksiyonu ile karşılaştırınca, 6. ayda iyileşmiş VAS ve DASH
Barrett ve Erredge <sup>25</sup>	Patellar tendinopati	Prospektif kohort (II)	20	Bildirilmemiş	% 70 tam veya belirgin düzelme; %80 memnuniyet
Sánchez ve ark. <sup>26</sup>	Plantar fasiyitis	Retrospektif kohort (IV)	9	Bildirilmemiş	1. yılda dokuz hastanın yedisinde tam ağrı düzelmesi
Sánchez ve ark. <sup>127</sup>	Kas yaralanması	Prospektif kohort (II)	20	PRGF Sistem (BTI, Victoria, İspanya)	Tüm hastalarda beklenenin yarısı kadar zamanda tam iyileşme
Sánchez ve ark. <sup>127</sup>	Diz osteoartriti	Retrospektif kohort (IV)	30	PRGF Sistem (BTI)	5. haftada HA enjeksiyonları ile karşılaştırıldığında iyileşmiş ağrı ve WOMAC skorları
<b>Cerrahi</b>					
Sánchez ve ark. <sup>20</sup>	Aşil tendon tamiri	Vaka- kontrol (III)	12	PRGF Sistem (BTI)	Kontrollerle karşılaştırıldığında daha hızlı eklem ROM'una, zıplama ve jogginge dönüş. Yara komplikasyonu yok
Randelli ve ark. <sup>28</sup>	Rotator kılıf tamiri	Prospektif kohort (II)	14	GPS II (Biomet)	Tüm hastalarda 2. yılda iyileşmiş VAS, Constant ve UCLA skorları. Yan etki yok.
Everts ve ark. <sup>29</sup>	Açık subakromiyal dekompresyon	Randomize kontrollü çalışma (I)	40	GPS III (Biomet)	Daha hızlı iyileşme, günlük aktivitelere daha erken dönüş, ağrı için daha az medikal tedavi
Orrego ve ark. <sup>30</sup>	Ön çapraz bağ rekonstrüksiyonu	Randomize kontrollü çalışma (II)	108	GPS II (Biomet)	6. ayda greftte azalmış MRG intensitesi. Tünel genişlemesi veya kemik tendon arayüzünde farklılık yok.
Silva ve Sampaio <sup>31</sup>	Ön çapraz bağ rekonstrüksiyonu	Prospektif kohort (II)	40	Mini GPS III (Biomet)	3. ayda MRG sinyal intensitesi farklılığı yok
Sánchez ve ark. <sup>32</sup>	Artiküler kırıldak defekti	Vaka raporu (V)	1	PRGF Sistem (BTI)	Azalmış ağrı ve aktiviteye erken dönüş

DASH = Kol Omuz, ve Elin Maluliyet anketi; HA = hyaluronik asit; PRP = Trombositten zengin plazma; ROM = Hareket Aralığı; UCLA = Kaliforniya Üniversitesi, Los Angeles; VAS = görsel analog skala; WOMAC = Western Ontario ve McMaster Üniversiteleri Osteoartrit İndeksi

**Tablo 2.9.1.2: Trombositten zengin plazmanın Spor Hekimliğinde kullanımı için klinik kanıt**

### 2.9.2. PRGF Hazırlanması

Otolog kan örneği alınır ve antikoagüle edilir. Kırmızı kan hücrelerini lökositler ve trombositlerden ayırmak için santrifüj ya da filtre kullanılır. Plazmanın yoğunluğu daha da artırılarak trombositten zengin ve trombositten fakir olmak üzere iki kısma ayrılır (Şekil 2.9.2.1) [106]. Kırmızı kan hücrelerinin ayrılmasının etkinliği ve trombosit konsantrasyonu hazırlama sistemine bağlıdır. Ancak bütün PRP preparasyonlarında pıhtılaşma faktörlerini de içeren plazmanın hücresel olmayan bileşenleri mevcuttur.



**Şekil 2.9.2.1: Trombositten zengin ve fakir plazma**

PRP hazırlarken farklı yöntemler kullanılmıştır.

PRP'nin daha önce nasıl hazırlandığı 2007'de Nagae tarafından tariflenmiştir. 12 haftalık SD sıçanlar (3 adet) PRP hazırlanmak üzere kurban edildi. Her bir

sıçandan 2.0 ml koagülasyonu engelleyici asit sitrat dekstroz içeren enjektörlere yirmi mililitre taze kan alındı. Toplam 60 mL tam kan 1500rpm(250g)'de 10 dk santrifüj edildi. Akabinde plazma kısmı toplandı ve 3000 rpm(1000g)'de 10dk daha santrifüj edilerek trombositler presipite edildi. Santrifüj tüpünün dibinde presipite edilen trombositler 300 mikrolitre supernatani(trombositten fakir plazma) ile PRP elde etmek için toplandı. Trombosit sayısı tam kanda, PRP'de ve trombositten fakir plazma(PPP)da ölçüldü(tüm ölçümler FALCO'da yapıldı, Japon). Elde edilen PRP, tendondaki yaralı bölgede kullanılacağı zamana kadar -80 santigrat derecede saklandı. PRP'deki büyüme faktörlerinin konsantrasyonunu doğrulamak için ayrıca TGF-b1 ve PDGF-BB konsantrasyonları periferik kan, PRP ve PPP'de ELISA yöntemi ile ölçüldü.

Bir başka yöntemde Per Aspenberg ve Olena Virchenko'nun 2004 yılında sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada tanımlanmıştır. Tüm kanlar dişi Sprague-Dawley sıçanlardan (200gr) toplandı. Normalde 3 sıçanın kanı deneyde kullanılacak 10 sıçan için yeterli. Kanlar kalpten alınarak toplandı. Alınan kanlar hızlıca antikoagülana eklendi, sitrat fosfat dekstroz (0.15 mg CPD/mL) tamponun 1mL'si 5mL kanı tamponlar. Daha sonra kan 220g de 20dk. santrifüj edilir. Süpernatant, trombositten zengin plazmanın olduğu kısım, 480g'de 20dk. daha santrifüj edildi. Bu 2.santrifüjün çöken kısmı toplandı ve trombosit konsantrasyonu Bürkner çemberinde litrede  $1.5 \times 10^{12}$  olana kadar süpernatant kısım ile dilüe edildi. Trombosit konsantrasyonu 20 U /L (200 ünite /mL) trombin eklenerek aktive edildi. Graft versus host reaksiyonunu engellemek için, trombosit konsantrasyonuna uluslararası kan toplama standartlarına göre beyaz küreleri inaktive edici 25 Gy ile irradasyon uygulandı. Cerrahi uygulanana kadar maksimum 24saat +4 °C'de saklandı. Cerrahiden 6saat sonra 50 µL trombosit konsantrasyonu enjekte edildi.

2007'de Nisper H. Ö.'nün makalesinde de PRP hazırlanmasına değinilmiştir. Koagülasyonu önlemek için antikoagülan citrate dextrose phosphate (ACDA) veya Na sitrat ihtiva eden enjektöre hastanın kanı ilave edilerek düşük devirde 10-15 dakika santrifüje edilir. Böylece trombosit içeren plazma alyuvarlardan ayrılır. Elde

edilen plazmaya antikoagülan (ACDA veya Na sitrat) eklenir ve yüksek devirde 10-15 dakika santrüfüje edilerek trombositler ayrılır, üstte kalan plazma uzaklaştırılır, böylece PRP hazır hale gelir.

Trombositten fakir plazma (PPP) nispeten daha fazla fibrinojen konsantrasyonuna sahip olduğundan otolog fibrin yapıştırıcı hazırlanmasında kullanılabilir. Bu ürün mükemmel bir hemostatik maddedir, ancak operasyon öncesi hastadan kan almak gerektiğinden ve fiyatı yüksek olduğundan kullanımı sınırlıdır. Son dönemlerde Tisseel (Baxter Healthcare Corp.) gibi ticari olarak hazırlanan fibrin yapıştırıcı ürünler kullanıma sunulmuştur

Hangi antikoagülan kullanılacağını ise şöyle açıklanabilmektedir: klinikte kullanılan birçok antikoagülan mevcut. Buna rağmen sadece 2'si trombositlerin metabolik ihtiyaçlarını karşılıyor ve hasar görmeden yaşamını devam ettirmesini destekliyor. Trombositlerin yaşamasını destekleyici en iyi antikoagülan sitrat dekstroz-A[23]. Sitrat kalsiyumu bağlayarak antikoagülasyon sağlar. Dekstroz, tamponlar ve diğer içeriklerde trombosit metabolizmasını destekler. Sitrat dekstroz-A, kan bankalarında trombosit transfüzyonlarında trombositleri canlı tutmak adına tercih edilen antikoagülandır. Sitrat Fosfat Dekstroz da PRP elde etmede oldukça kullanışlıdır [23]. Sitrat dekstroz-A'ya benzer ancak destekleyici içerik daha azdır bu nedenle trombosit yaşamını korumada %10 daha az etkilidir [23].

Trombositten fakir plazma nispeten daha fazla fibrinojen konsantrasyonuna sahip olduğundan otolog fibrin yapıştırıcı hazırlanmasında kullanılabilir. Bu ürün mükemmel bir hemostatik maddedir, ancak operasyon öncesi hastadan kan almak gerektiğinden ve fiyatı yüksek olduğundan kullanımı sınırlıdır. Son dönemlerde Tisseel (Baxter Healthcare Corp.) gibi ticari olarak hazırlanan fibrin yapıştırıcı ürünler kullanıma sunulmuştur.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2010-41 sayılı raporu ile etik kurul onayı alındıktan sonra ağırlıkları 350-450 gr. arasında değişen, 4-6 aylık, 34 adet dişi Sprague Downey tipi sıçan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Biriminden temin edildi.

Denekler, ortama alışmaları için çalışmaya başlamadan önce, bir hafta boyunca standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz - 12 saat gece olacak şekilde ışıklandırma, 20-22°C oda ısısı, % 50-60 nem) tutularak ortama alışmaları sağlandı ve ihtiyaçları kadar su ile yiyecek verildi.

Çalışma planına göre deney hayvanları 5 gruba ayrıldı (Tablo 3.1). Buna göre ilk grup herhangi bir şey uygulamaksızın (Kontrol:CN), 2. grup klemp ile sıkıştırıldıktan hemen sonra (K-0), 3. grup klemp ile sıkıştırıldıktan 1 hafta sonra (K-7), 4. grup klemp ile sıkıştırıldıktan hemen sonra kontrol grubu deneklerden alınan kandan hazırlanan PRGF enjeksiyonu uygulaması sonrası 1. haftada (PRGF), 5. grup ise klemp ile sıkıştırıldıktan hemen sonra serum fizyolojik enjeksiyonunu takiben 1. haftada (SF) feda edilerek dokularının alınması planlandı.

Gruplar	Gün						
	1	2	3	4	5	6	7
Kontrol (CN)	S						
K-0	K+S						
K-7	K						S
PRGF	K- PRGF						S
SF	K-SF						S

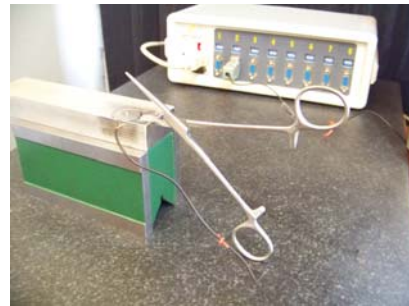
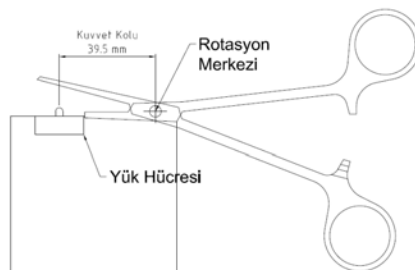
**Tablo 3.1: Çalışma planı (S: Sakrifiye, K: Klemp uygulaması , PRGF-Trombositten zengin büyüme faktörü uygulaması, SF-Serum fizyolojik uygulaması)**

Çalışma grupları oluşturulurken PRGF'in tendinopatiye etkisi, SF'nin tendinopatiye etkisi ve klemp uygulaması sonrası tendonun kendi kendine iyileşme yanıtının incelenmesi planlandı.

### 3.1. Klemp ile Tendinopati Meydana Getirilmesi

Klemp işlemi hayvanlar kısa süreli anestezi (90 mg/kg Ketamin + 10 mg/kg ksilazin ip) (Ketalar 50mg/ml ketamin hidroklorür+benzetonyum klorür Pfizer İlaçları Ltd Şti 10 ml) (Rompun %2 - 1 ml'si 23.32 mg ksilazin hidroklorür Bayer Türk Kimya San Ltd Şti 50 ml) ile uyutulduktan sonra uygulandı.

Aşilde tendinopati değişikliklerinin daha belirgin ortaya çıkmasını sağlamak amacıyla yapılan ön çalışmada 2 deneğin toplam 4 aşil tendonuna klemp ile 2. seviyede (dişlide) 1 dakika sıkıştırırmayı takiben 3 dakika serbest bırakma şeklinde 4 sıkıştırma uygulandı (Resim 3.1.1, Resim 3.1.2, Resim 3.1.3). Birant Makine Laboratuvarında yapılan mekanik inceleme ile 2. seviye klemp ile ortalama 115,65 N'luk kuvvet uygulandığı saptandı (Tablo 3.1.1). Ötenazi sonrası alınan aşil tendonu doku örnekleri elektron mikroskopi ile incelendi ve en optimal hasarın 4. sıkıştırırmada meydana geldiği belirlendi. Bu sonuçlar asıl çalışmamıza temel oluşturarak, çalışma protokolünün belirlenmesini sağladı. Tüm deney hayvanlarına 2. seviyede, 1 dakika süre ile 4 kez sıkıştırma uygulandı.



**Resim 3.1.1.: Klempin Mekanik Özellikleri**



	1. Kilit (N)	2. Kilit (N)	3. Kilit (N)
1. okuma	90.15	116.94	142.96
2. okuma	89.81	116.52	144.01
3. okuma	90.01	115.59	142.79
4. okuma	89.08	115.38	142.59
5. okuma	88.84	115.62	142.9
6. okuma	88.21	115.48	142.62
7. okuma	88.7	115.14	142.21
8. okuma	87.59	114.51	141.57
ortalama	89.05	115.65	142.71
Kuvvet kolu mesafesi : 39.5 mm = 0.0395m			
Moment (N/m)	3.52	4.57	5.64

**Tablo 3.1.1.: Klemp ile sıkıştırma sonuçları**



**Resim 3.1.2.: Klemp uygulaması**



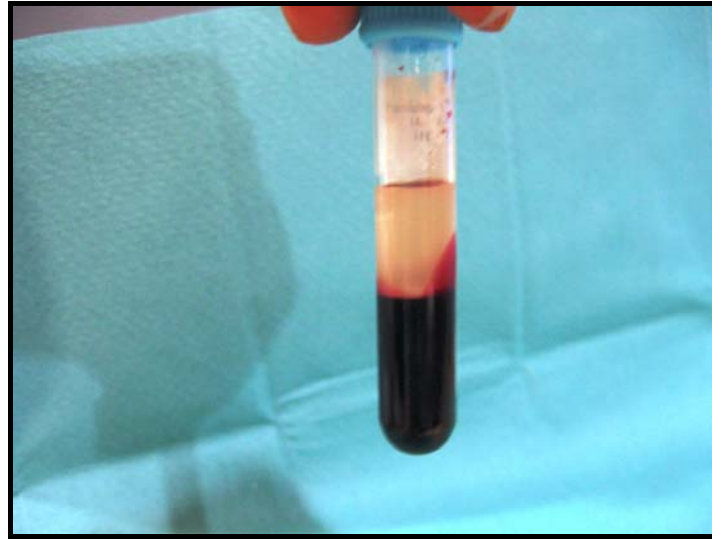
**Resim 3.1.3.: Klemp uygulaması sonrası aşil tendon görüntüsü**

### **3.2. PRGF Uygulaması**

Kontrol grubundan intrakardiyak olarak elde edilen 10 ml kan, içinde 0.5 ml sitrat dekstroz bulunan 5 ml'lik tüplere aktarıldı. Tam kan 1470 rpm (250g)'de, 10 dk süreyle santrifüj edildi. Sonrasında plazma kısmı (süpernatant) toplandı ve 2930 rpm (1000g)'de, 10 dk bir kez daha santrifüj edilerek trombositler presipite edildi (Resim 3.2.1). Üst kısım yani trombositten fakir plazma uzaklaştırıldı (Resim 3.2.2). Bu şekilde elde edilen PRGF intratendinöz olarak PRGF grubunun sol aşil tendonlarına klemp ile sıkıştırılma uygulandıktan sonra 0.2 ml enjekte edildi.



**Resim 3.2.1: Santrifüj işlemi (hızlı çevirim basamağı)**



**Resim 3.2.2: PRGF**

### **3.3. Cerrahi Teknik**

Tendon dokusu ve serum örneği alım öncesi hayvanlar yüksek doz anestezi ile uyutuldu. Kornea refleksi kontrol edildikten sonra göğüs kafesi sol lateral duvarından yapılan küçük bir insizyonla sol ventrikülden en az 2 cc kan alındı. Alınan kanlar sarı kapaklı jelli tüp (BD Microtainer® plastik SST™) içinde 5-6 kez

yavaşça alt-üst edildikten sonra 30 dk - 1saat bekletildi. Ardından soğutmalı santrifüjde 3500 x g hızda 10 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen serum - 80°C'de saklandı. Daha sonra aşil tendon insersiyosundan yaklaşık 2 cm proksimaline kadar cilt ciltaltı dokular geçilerek ve paratenon açılarak tendon açığa çıkarıldı (Resim 3.3.1). Elektron mikroskopik ve histolojik inceleme için aşil tendonları kalkaneus ve kas-tendon bileşkesi arasındaki uzunlukta çıkarıldı. Alt ekstremitte kaslarında meydana gelen değişiklikleri göstermek üzere deneklerin her iki bacağından alınan soleus, plantaris ve gastroknemius kasları proksimal ve distal kas-tendon bileşkelerinden kesilerek elde edildi (Resim 3.4.2).



**Resim 3.3.1: Aşil tendon diseksiyonu**

#### **3.4. Makroskopik Ölçüm**

Sıçanlardan elde edilen soleus kaslarının ağırlık ölçümleri Sartorius CP225D ( $d=0.01$  mg, max=220 gr) tartısında kas dokusu alımı (Resim 3.4.1) işlemini takiben gerçekleştirildi.



**Resim 3.4.1: Soleus kası izolasyonu**

### 3.5. Elektron Mikroskopik İnceleme

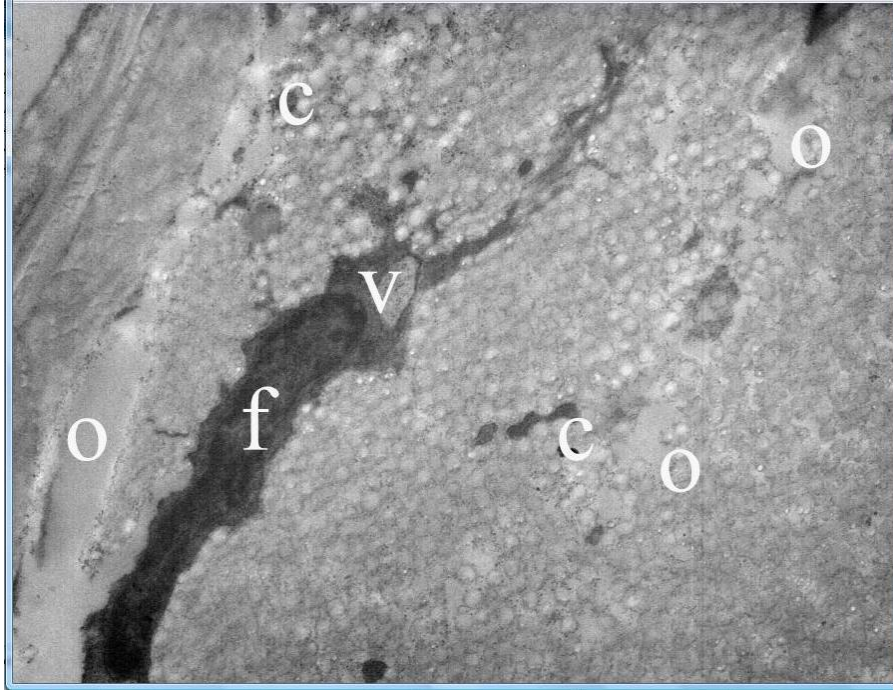
Alınan doku örnekleri % 2,5'lik gluteraldehit çözeltisi içinde 24 saat süre ile fikse edildi. Primer fiksasyon işlemi takiben, örnekler pH'ı 7,4 olan SPB (Sorenson's Phosphate Buffer) tampon çözeltisi ile yıkandı ve daha sonra %1'lik osmium tetroksit çözeltisi ile post-fiksasyon işlemi uygulandı. 12 saat süren post-fiksasyon işlemi takiben örnekler tekrar SPB tampon çözeltisi ile yıkandı ve üçüncü fiksatif olarak %10'luk formalin ile 2 saat süreyle fikse edildi. Triple fiksasyon bittikten sonra SPB tampon çözeltisi ile yıkanan örnekler dehidratasyon aşamasına kadar getirildi. Dehidratasyon işlemi düşükten yükseğe doğru değişen alkol konsantrasyonlarında (% 25, % 50, % 75 ve saf alkol) gerçekleştirildi ve daha sonra örnekler iki kez propilen oksit ile yıkanarak gömme işlemi hazırlık aşamalarına başlandı. Gömme işlemine hazırlık işleminin ilk aşamasında 1/1 oranında propilen oksit ve epoksi rezin gömme materyali karıştırılarak örnekler bu karışımın içerisinde 1 saat süreyle bekletildi ve 1 saatin sonunda bu karışımın üzerine aynı miktarda epoksi rezin gömme materyali ilave edilerek karışımın oranı 1/3'e çıkarıldı. Bu işlemi takiben örnekler 1 gece boyunca rotatorda bekletildi ve gömme işlemine hazırlık aşaması bu şekilde sonlandı. Bunu takiben epoksi rezin gömme materyaline plastik kapsüller kullanılarak gömülen örnekler 48 saat süre ile 60 derece sıcaklıktaki etüvde bekletildi. 48 saatin sonunda örnekler etüvden alındı ve LKB Nova (İsveç)

marka ultramikrotom cihazı ile örneklerin yarı ince kesitleri alındı. 2 Mikrometre kalınlıkta olan bu kesitler metilen mavisi ile boyandı ve ışık mikroskop altında incelenerek ince kesit alınacak sahaların tespit edilmesi sağlandı. İnce kesit alınacak sahalar doku yüzeyinin trimlenmesi ile transmisyon elektron mikroskopik kesit alınabilecek doku yüzeyi büyüklüğü elde edildi. Bunu takiben, örneklerin yaklaşık 60 nanometre kalınlıkta olan ince kesitleri aynı ultramikrotom ile alındı. Alınan ince kesitler üranil asetat ve kurşun sitrat boyaarı ile çift kontrastlama yöntemiyle boyandıktan sonra Jeol JEM 1200 EX (Japonya) marka transmisyon elektron mikroskop ile incelendi ve fotoğrafları alındı.

## BULGULAR

### 4.1. Elektron Mikroskopi Sonuçları

Bu örneklerin transmisyon elektron mikroskop ile yapılan incelemesinde; klemp 0.gün grubunda kollajen lifler arasında yer yer ödemli sahalar mevcut idi (Resim 4.1.1). Ayrıca fibrositlerin sitoplazmalarında vakuoller izlendi. K-7, SF grupları ile karşılaştırıldığında; PRGF uygulanan grupta fibroblastlarda daha fazla artış olduğu ve kollajen lif sentezinin daha artmış olduğu gözlemlendi (Resim 4.1.2, Resim 4.1.3. ve Resim 4.1.4). Bununla birlikte K-7 ve SF gruplarında da fibroblast ve yeni kollajen sentezi artmış olarak izleniyordu. PRGF grubu fibroblastlarında organel düzeyinde yoğun bir artış vardı (Resim 4.1.4).



**Resim 4.1.1. Klemp ile sıkıştırma sonrası 0.gün**

C: kollajen lifler

O: ödemli sahalar(kollajen lifler arasında yer yer ödemli sahalar)

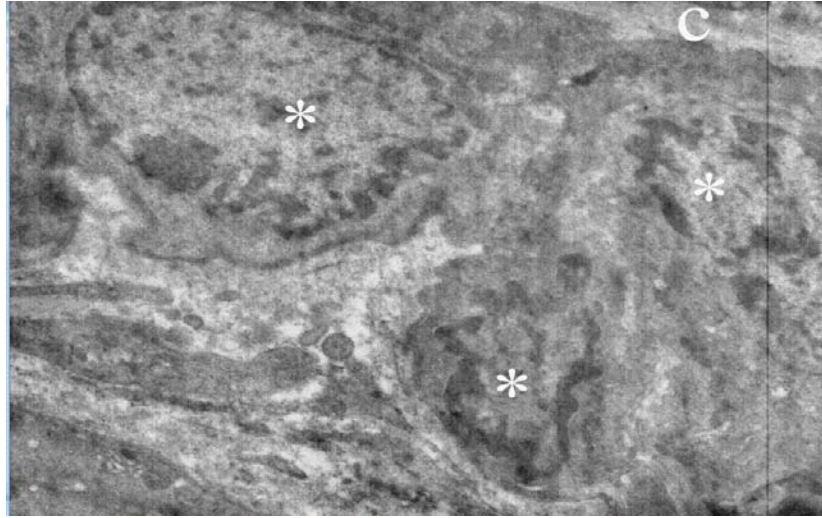
V: fibrosit içerisinde vakuol

F: fibrosit

\*: fibroblast



**Resim 4.1.2. Klemp ile sıkıştırma sonrası 7.gün**



**Resim 4.1.3. Klemp ile sıkıştırma sonrası SF 7.gün**





**Resim 4.1.4. Klemp ile sıkıştırma sonrası PRGF 7.gün**

## TARTIŞMA

PRGF ile kas ve tendon iyileşmesindeki ivmelenme umut verici gibi görünmektedir. PRGF'in güvenilir ve kolay hazırlanabilir olması nedeni ile de ortopedik cerrahi ve spor yaralanmalarında kullanımını giderek artmaya devam etmektedir. Ancak günümüzde kullanımını destekleyecek çok az klinik kanıt bulunmaktadır. İyi bir şekilde tasarlanmış, kontrollü klinik çalışmalar yapılmaktadır ve PRGF'in tedavi edici değerinin ortaya konulabilmesi için gereklidirler. Şu an için çeşitli PRGF hazırlama sistemleri mevcuttur bununla beraber, tedavi ediciliğini destekleyen yüksek seviye çok az klinik kanıt bulunması sebebiyle klinik kullanımı dikkatli bir şekilde gerçekleştirilmelidir.

Sağlık hizmetlerinin mevcut ekonomik sistemi göz önüne alındığında yeni bir tedavi yönteminin maliyeti önemli bir noktadır [108]. Tek seferlik preparasyonda enjektör başına 150 \$'lık bir ortalama maliyet oluşmaktadır ve sigorta şirketleri tarafından tazmin edilmemektedir. Kas ve tendon iyileşmesi için gerekli olan trombosit ve büyüme faktörünün optimal miktarı üzerine tartışma devam etmektedir. Klinik olarak etkin olan PRP, normal trombosit konsantrasyonunun en az dört katını içerecek şekilde tanımlanmaktadır [108]. Biz çalışmamızda ticari kitlerden kullanmadık ve PRGF'i daha önce Yoshiteru Kajikawa ve ark. 2008 de yaptığı çalışmada büyüme faktörlerinin miktarını ELİSA yöntemi ile doğruladığı çalışmasındaki yöntemi baz alarak hazırladık. Ancak çalışmanın dizaynı nedeni ile otolog kan kullanamadık.

Daha önceki çalışmalarda mekanik veya kimyasal yol ile birçok tendinopati modeli kullanılmıştır. Klemp ile oluşturulmuş tendinopati modeli bulunmamaktadır ve bizim çalışmamızda ilk defa böyle bir model denendi. Çalışmamızın tendinopati oluşturmak için yeterli olduğu da örneklerin transmisyon elektron mikroskopik incelemesi ile doğrulandı. Ancak çalışmamızda elde ettiğimiz yaralanmanın, akut yaralanma modeli olduğu da akılda tutulmalıdır.

Tendinopati hem genç hem de yaşlı popülasyonu etkileyen yaygın bir durumdur[94]. Birçok çalışma bu durumun etyolojisi, patogenezi ve tedavisi üzerinde çalışmıştır ancak halen ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Lake ve ark.'nın 2008 rapor ettiği üzere, hayvan çalışmaları hastalığın seviyesini ve dokunun farklı organizasyonel durumlarını değerlendirmede önemli bir göstere olabilmektedir. Farklı hayvan modelleri ile tendinopatinin insandaki durumuna benzer modellemeler geliştirilmeye çalışılmaktadır ve hayvan modellerinde bazı büyüme faktörlerinin dışarıdan verilmesi tendon iyileşmesini geliştirmiştir [94]. Trombositlerin aktivasyonu süresince açığa çıkan büyüme faktörlerinin iyileşmeye katkısı da bunu destekler niteliktedir.

PRGF'in tendon onarımının geliştirilmesi için etkin bir yöntem olabileceği ve tendonun optimal biyokimyasal ve biyomekanik özelliklerine ulaşabilmesi için gerekli protokollerin oluşturulmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Yaralanma sonrası sporcu rehabilitasyonunda sağlıklı bir şekilde erken zamanda spora dönüş çok önemlidir.

Yazarlar PRP'nin tendon tamirinde başlangıç enflamatuvar fazını hızlandırabileceğini ve erken mekanik yükleme için hücreleri daha hazır duruma getirileceği sonucuna varmıştır [108]. Bizim çalışmamızda ise rat aşıl tendonun tek bir PRGF enjeksiyonunu takiben 1.haftanın sonundaki iyileşme yanıtı değerlendirildi. PRGF'in iyileşmeye olumlu katkısının hücrelerdeki sentezi(aktivasyonu) artırarak gerçekleştirdiği, kısıtlı iyileşme ve turnovera sahip, büyük oranda intrensek iyileşme gösteren tendonların PRGF ile iyileşme yanıtının agreve edildiği gösterildi.

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, transeksiyon sonrası tek bir postoperatif trombosit enjeksiyonunun tendonun fiziksel özellikleri ve histolojik maturitesini en geç 3hafta içinde, yani iyileşmenin remodelling evresinde, belirgin bir biçimde geliştirdiği gösterilmiştir[117]. Bu çok önemli biri etkidir, trombositlerden hematoma içine salınan kısa yaşam süresi olan büyüme faktörleri tendon rejenerasyonunda remodelling özelliklerini uzun bir sürenin sonunda etkileyebilir [118]. Yapılan deneysel bir çalışmada köpek, kedi, tavşan, rat ve Gine domuzlarında tendondaki

iyilesmenin, tensil güçte iki evreli artış şeklinde olduğunu bildirilmiştir [83]. İlk artış besinci günde fibroplazi ile başlar ve 12-14. günlerde maksimuma ulaşır [83]. İkinci artış ise 18-22. günlerde başlar. Bu artış ile oluşan değişim, dokunun organizasyon basamağı için gereklidir [83]. Bu ikinci değişim organizasyon fazı normal güce ulaşmaya kadar (ratlarda 60 gün, tavşanlarda 180 gün) devam eder [83]. Bizim çalışmamızın limitasyonlarından biri PRGF'in uzun dönem etkileri ve biyomekanik sonuçlarının değerlendirilememiş olmasıdır.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Klemp ile Aşıl de tendinopati meydana getirdiğimiz ratlarda PRGF, serum fizyolojik ve kendi iyileşme cevaplarını 1 haftalık sürecin sonunda karşılaştırdık. Tendonda meydana gelen hasarın tamir süresi 4 basamaktan oluşmaktadır. PRGF ile tamir basamaklarından özellikle inflamatuvar fazın geliştirildiği düşünülmüktedir. Biz de çalışmamızda PRGF uygulayarak iyileşme sürecine katkısını değerlendirmek istedik. Henüz tendon iyileşmesinin geliştirilmesi üzerine PRGF kullanımının zamanlaması, uygulama sıklığı, toplam tedavi süresi ve takibi hakkında fikir birliği bulunmamaktadır. Biz çalışmamızda tendinopatiyi taklit amacı ile klemp kullandık ve gerçek tendinopati gelişiminde suçlanan aşırı kullanım yaralanmasından farklılık göstermekteydi. Ancak elde edilen veriler klemp ile sıkıştırmanın tendon dokusunda hasar yaratmaya yeterli olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda istatistiksel bir sonuç olmamasına rağmen, tendona ait elektron mikroskopik incelemede histopatolojik parametrelerde gelişme görülmüştür. Bu sonuç ile klinikte iyi bir rehabilitasyon programına eklenen PRGF desteğinin aşıl tendon yaralanmaları tedavisindeki başarıyı arttıracak inancındayız.

PRGF'in etkileri açısından, ileride yapılacak çalışmalarda, tendinopatinin farklı dönemlerinde gerek klinik, gerek histopatolojik gerekse biyomekanik etkilerini gösteren protokoller geliştirilip karşılaştırılmalıdır. Uzun dönem etkilerinin kıyaslanması da yine ihtiyaç duyulan bir çalışmadır.

PRGF'in farklı tendonlarda etkisinin karşılaştırılması, farklı tedavi modelleri ile kıyaslanması da alternatif çalışma modelleri olarak değerlendirilebilir.

**KAYNAKLAR**

- 1- David P. Beason, Louis J. Soslowsky, Tharun Karthkeyan, Johnny Huard. Muscle, Tendon and Ligament. in: Jeffrey S. Fischgrund. Orthopaedic Knowledge Update 9: 2008;4:35-48.
2. Maffulli N, Kader D. Tendinopathy of tendo achillis. J Bone Joint Surg Br. 2002;84(1):1-8.
3. Ljungqvist A, Schweltnus MP, Bachl N, Collins M, Cook J, Khan KM, et al. International Olympic Committee consensus statement: molecular basis of connective tissue and muscle injuries in sport. Clin Sports Med. 2008;27(1):231-9, x-xi.
4. Christopher J. Pearce, James D. F. Calder, Epidemiology of tendinopathy of the achilles tendon, *Achilles tendinopathy; Current concepts* 2010;1:3-7.
5. Kettunen JA, Visuri T, Harilainen A, Sandelin J, Kujala UM. Primary cartilage lesions and outcome among subjects with patellofemoral pain syndrome. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2005;13(2):131-4.
6. Knobloch K, Yoon U, Vogt PM. Acute and overuse injuries correlated to hours of training in master running athletes. Foot Ankle Int. 2008;29(7):671-6.
7. Davies MS. In: Sandring S. Grays Anatomy 39th ed: Elsevier Churchill Livingstone 1534.
8. Tuite DJ, Renstrom PA, O'Brien M. The aging tendon. Scand J Med Sci Sports. 1997;7(2):72-7.
9. Rolf C, Movin T. Etiology, histopathology, and outcome of surgery in achillodynia. Foot Ankle Int. 1997;18(9):565-9.

10. Christopher J. Pearce C.J., James D.F. Epidemiology of Tendinopathy of the Achilles Tendon. in: James Calder, Jon Karlsson, Nicola Maffuli, Hajo Thermann, C. Niek van Dijk. 1st ed: Achilles Tendinopathy Current Concepts. DJO Publications Sf:3-7.
11. Claudio Rosso, Victor Valderrabano. Biomechanics of Achilles Tendon. in: James Calder, Jon Karlsson, Nicola Maffuli, Hajo Thermann, C. Niek van Dijk. 1st ed: Achilles Tendinopathy Current Concepts. DJO Publications Sf:25-34.
12. Hastad K, Larsson LG, Lindholm A. Clearance of radiosodium after local deposit in the Achilles tendon. *Acta Chir Scand.* 1959; 28;116(3):251-5.
13. Chen TM, Rozen WM, Pan WR, Ashton MW, Richardson MD, Taylor GI. The arterial anatomy of the Achilles tendon: anatomical study and clinical implications. *Clin Anat.* 2009;22(3):377-85.
14. Vailas AC, Tipton CM, Laughlin HL, Tcheng TK, Matthes RD. Physical activity and hypophysectomy on the aerobic capacity of ligaments and tendons. *J Appl Physiol.* 1978;44(4):542-6.
15. Williams JG. Achilles tendon lesions in sport. *Sports Med.* 1986;;3(2):114-35.
16. Oliva F, Maffuli N, Forsyth N. The Future: Stem Cell Therapy; Optimization of Healing. in: Achilles Tendinopathy: Current Concepts 2010; (18): 177-186
17. Astrom M, Rausing A. Chronic Achilles tendinopathy. A survey of surgical and histopathologic findings. *Clin Orthop Relat Res.* 1995;(316):151-64.
18. Jozsa L, Kannus P. Histopathological findings in spontaneous tendon ruptures. *Scand J Med Sci Sports.* 1997;7(2):113-8.

19. 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):102-12.
20. Abate M, Silbernagel KG, Siljeholm C, Di Iorio A, De Amicis D, Salini V, et al. Pathogenesis of tendinopathies: inflammation or degeneration? *Arthritis Res Ther.* 2009;11(3):235.
21. Clement DB, Taunton JE. A guide to the prevention of running injuries. *Aust Fam Physician.* 1981;10(3):156-61, 63-4.
22. Rebecca J. Kampa, David A. Connell. Autologous Blood Injections: Whole Blood and Platelet – Rich Plasma. in: James Calder, Jon Karlsson, Nicola Maffulli, Hajo Thermann, C. Niek van Dijk. 1st ed: Achilles Tendinopathy Current Concepts. DJO Publications Sf:131-141.
23. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225-8.
24. Graziani F, Cei S, Ducci F, Giuca MR, Donos N, Gabriele M. In vitro effects of different concentration of PRP on primary bone and gingival cell lines. Preliminary results. *Minerva Stomatol.* 2005;54(1-2):15-22.
25. Cooper DE, Heckman JD. The heel of achilles: calcaneal avulsion fracture from a gunshot wound. *Foot Ankle.* 1989;9(4):204-6.
26. Doral MN, Bozkurt M, Turhan E, Ayvaz M, Atay OA, Uzumcugil A, et al. Percutaneous suturing of the ruptured Achilles tendon with endoscopic control. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2009;129(8):1093-101.



27. Doral MN, Alam M, Bozkurt M, Turhan E, Atay OA, Donmez G, et al. Functional anatomy of the Achilles tendon. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* ;18(5):638-43.
28. O'Brien M. The anatomy of the Achilles tendon. *Foot Ankle Clin.* 2005;10(2):225-38.
29. Alexander RM, Bennet-Clark HC. Storage of elastic strain energy in muscle and other tissues. *Nature.* 1977;13;265(5590):114-7.
30. Karahan M EB. Aşil tendon yırtıklarına yaklaşım. *TOTBİD.* 2004(3):27-37.
31. Allenmark C. Partial Achilles tendon tears. *Clin Sports Med.* 1992;11(4):759-69.
32. Schepesis AA, Jones H, Haas AL. Achilles tendon disorders in athletes. *Am J Sports Med.* 2002;30(2):287-305.
33. Sağol A. Kortikosteroid enjeksiyonu ile oluşturulan rat aşil tendinozisinde terapötik ultrason kullanımının etkileri: deneysel çalışma. Uzmanlık Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, İzmir, 2006;10-11
34. Komi PV, Fukashiro S, Jarvinen M. Biomechanical loading of Achilles tendon during normal locomotion. *Clin Sports Med.* 1992;11(3):521-31.
35. Webb J, Moorjani N, Radford M. Anatomy of the sural nerve and its relation to the Achilles tendon. *Foot Ankle Int.* 2000;21(6):475-7.
36. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*, 7th edition, Appleton & Lange Türkçe çeviri. Barış Kitabevi, İstanbul. 1992;231-245

37. Chard MD, Cawston TE, Riley GP, Gresham GA, Hazleman BL. Rotator cuff degeneration and lateral epicondylitis: a comparative histological study. *Ann Rheum Dis.* 1994;53(1):30-4.
38. Sakarya B: Tavşanlarda oral atorvastatinin tamir edilen aşıl tendon iyileşmesi ve iskelet kası üzerine etkisi (Tavşanlarda deneysel çalışma) Uzmanlık Tezi. İnönü Üniversitesi, Malatya, 2008;20-24
39. Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87(1):187-202.
40. Fenwick SA, Hazleman BL, Riley GP. The vasculature and its role in the damaged and healing tendon. *Arthritis Res.* 2002;4(4):252-60.
41. Buckwalter JA. Healing of the musculoskeletal tissues, In: Fractures in adults. Vol 1. 3rd edition. (Ed: Rockwood CA Jr), JB Lippincott Co, New York. 1991;203-232
42. Cook JL, Khan KM, Purdam C. Achilles tendinopathy. *Man Ther.* 2002 ;7(3):121-30.
43. Buckwalter JA, Einhorn TA, Bolander ME, Cruess RL. Healing of the musculoskeletal tissues. In: Rockwood and Green's Fractures in Adults (4th ed). (Ed: Rockwood CA, Gren DP, Bucholz RW), Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. 1996;284-286
44. O'Brien M. Functional anatomy and physiology of tendons. *Clin Sports Med.* 1992;11(3):505-20.

45. Brancaccio P, Maffulli N, Buonauro R, Limongelli FM. Serum enzyme monitoring in sports medicine. *Clin Sports Med.* 2008;27(1):1-18, vii.
46. Riley GP. Gene expression and matrix turnover in overused and damaged tendons. *Scand J Med Sci Sports.* 2005;15(4):241-51.
47. Johnson DL, Ticker JB. Soft tissue physiology and repair. In: *Orthopaedic Knowledge Update Home Study Syllabus* (Ed: Beaty JH), American Academy of Orthopaedic Surgeons, AAOS Pres, Rosemont, IL. 1999;13-15
48. Skinner HB. *Current Ortopedi Güncel Tanı ve Tedavi* (Çeviri Editörü: Alpaslan M) Güneş Kitabevleri, İstanbul. 2005;12-23
49. Heinemeier K, Langberg H, Olesen JL, Kjaer M. Role of TGF-beta1 in relation to exercise-induced type I collagen synthesis in human tendinous tissue. *J Appl Physiol.* 2003;95(6):2390-7.
50. Garnero P, Ferreras M, Karsdal MA, Nicamhloibh R, Risteli J, Borel O, et al. The type I collagen fragments ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation. *J Bone Miner Res.* 2003;18(5):859-67.
51. Langberg H, Rosendal L, Kjaer M. Training-induced changes in peritendinous type I collagen turnover determined by microdialysis in humans. *J Physiol.* 2001; 1;534(Pt 1):297-302.
52. Hale LV, Galvin RJ, Risteli J, Ma YL, Harvey AK, Yang X, et al. PINP: a serum biomarker of bone formation in the rat. *Bone.* 2007;40(4):1103-9.
53. Olesen JL, Heinemeier KM, Gemmer C, Kjaer M, Flyvbjerg A, Langberg H. Exercise-dependent IGF-I, IGF-BPs, and type I collagen changes in human

peritendinous connective tissue determined by microdialysis. *J Appl Physiol.* 2007;102(1):214-20.

54. Dikmen N, Özgünen T. Harper'ın biyokimyası (çeviri). 24. baskı. Barış Kitapevi, İstanbul. 1996;709-722

55. Karpakka J, Vaananen K, Virtanen P, Savolainen J, Orava S, Takala TE. The effects of remobilization and exercise on collagen biosynthesis in rat tendon. *Acta Physiol Scand.* 1990;139(1):139-45.

56. Manske PR. Flexor tendon healing. *J Hand Surg Br.* 1988;13(3):237-45.

57. Kvist M, Hurme T, Kannus P, Jarvinen T, Maunu VM, Jozsa L, et al. Vascular density at the myotendinous junction of the rat gastrocnemius muscle after immobilization and remobilization. *Am J Sports Med.* 1995;23(3):359-64.

58. Benjamin M, Theobald P. Achilles Tendon Anatomy, In: The Achilles Tendon, (Ed: Maffulli N, Almekinders CL) Springer-Verlag, London. 2007;5-16

59. Lagergren C, Lindholm A. Vascular distribution in the Achilles tendon; an angiographic and microangiographic study. *Acta Chir Scand.* 1959; 15;116(5-6):491-5.

60. Carr AJ, Norris SH. The blood supply of the calcaneal tendon. *J Bone Joint Surg Br.* 1989 ;71(1):100-1.

61. Kvist M, Jozsa L, Jarvinen M. Vascular changes in the ruptured Achilles tendon and paratenon. *Int Orthop.* 1992;16(4):377-82.

62. Kader D, Saxena A, Movin T, Maffulli N. Achilles tendinopathy: some aspects of basic science and clinical management. *Br J Sports Med.* 2002 ;36(4):239-49.

63. Maganaris CN, Narici VN. Biomechanics of Achilles Tendon, In: The Achilles Tendon, (Ed: Maffulli N, Almekinders CL) Springer-Verlag, London. 2007;17-25
64. Sargon MF, Ozlu K, Oken F. Age-related changes in human tendo calcaneus collagen fibrils. Saudi Med J. 2005;26(3):425-8.
65. Hyman J, Rodeo SA. Injury and repair of tendons and ligaments. Phys Med Rehabil Clin N Am. 2000;11(2):267-88, v.
66. Woo SL, Hildebrand K, Watanabe N, Fenwick JA, Papageorgiou CD, Wang JH. Tissue engineering of ligament and tendon healing. Clin Orthop Relat Res. 1999 (367 Suppl):S312-23.
67. Fyfe I, Stanish WD. The use of eccentric training and stretching in the treatment and prevention of tendon injuries. Clin Sports Med. 1992 ;11(3):601-24.
68. Jarvinen TA, Jarvinen TL, Kannus P, Jozsa L, Jarvinen M. Collagen fibres of the spontaneously ruptured human tendons display decreased thickness and crimp angle. J Orthop Res. 2004 ;22(6):1303-9.
69. Maffulli N, Ewen SW, Waterston SW, Reaper J, Barrass V. Tenocytes from ruptured and tendinopathic achilles tendons produce greater quantities of type III collagen than tenocytes from normal achilles tendons. An in vitro model of human tendon healing. Am J Sports Med. 2000 ;28(4):499-505.
70. Sharma P, Maffulli N. Achilles Tendon Structure and Healing in: Achilles Tendinopathy: Current Concepts 2010; (8): 67-78
71. Kvist M. Achilles tendon injuries in athletes. Sports Med. 1994 ;18(3):173-201.

72. Selvanetti A CM. Overuse tendon injuries: Basic Science and Classification. *Oper Tech Sports Med.* 1997;5:110-7.
73. Alfredson H, Cook J. A treatment algorithm for managing Achilles tendinopathy: new treatment options. *Br J Sports Med.* 2007;41(4):211-6.
74. Ackermann PW. Aetiology of tendinopathy of the Achilles Tendon: Mechano-Neuro Biological Interactions; 2010.
75. Chung B, Wiley JP. Extracorporeal shockwave therapy: a review. *Sports Med.* 2002;32(13):851-65.
76. September AV, Schweltnus MP, Collins M. Tendon and ligament injuries: the genetic component. *Br J Sports Med.* 2007;41(4):241-6; discussion 6.
77. Birk DE, Fitch JM, Babiarz JP, Doane KJ, Linsenmayer TF. Collagen fibrillogenesis in vitro: interaction of types I and V collagen regulates fibril diameter. *J Cell Sci.* 1990;95 ( Pt 4):649-57.
78. Matsuda A, Hirota T, Akahoshi M, Shimizu M, Tamari M, Miyatake A, et al. Coding SNP in tenascin-C Fn-III-D domain associates with adult asthma. *Hum Mol Genet.* 2005; 1;14(19):2779-86.
79. Solovieva S, Lohiniva J, Leino-Arjas P, Raininko R, Luoma K, Ala-Kokko L, et al. COL9A3 gene polymorphism and obesity in intervertebral disc degeneration of the lumbar spine: evidence of gene-environment interaction. *Spine (Phila Pa 1976).* 2002 1;27(23):2691-6.
80. Matziolis G, Drahn T, Perka C. [Spontaneous patellar tendon rupture in a patient with Ehlers-Danlos syndrome]. *Unfallchirurg.* 2003;106(12):1051-3.

81. Palmeri S, Mari F, Meloni I, Malandrini A, Ariani F, Villanova M, et al. Neurological presentation of Ehlers-Danlos syndrome type IV in a family with parental mosaicism. *Clin Genet.* 2003 ;63(6):510-5.
82. Chan BP, Fu S, Qin L, Lee K, Rolf CG, Chan K. Effects of basic fibroblast growth factor (bFGF) on early stages of tendon healing: a rat patellar tendon model. *Acta Orthop Scand.* 2000 ;71(5):513-8.
83. Esenkaya I, Sakarya B, Unay K, Elmali N, Aydin NE. The influence of atorvastatin on tendon healing: an experimental study on rabbits. *Orthopedics.* Jun;33(6):398.
84. Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D, et al. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001; 4;285(13):1711-8.
85. Lin TW, Cardenas L, Soslowky LJ. Biomechanics of tendon injury and repair. *J Biomech.* 2004 ;37(6):865-77.
86. Çakmak M. *Ortopedi. Nobel Tıp Kitabevi* 1998; 7-8.
87. Mundy G, Garrett R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science.* 1999 Dec 3;286(5446):1946-9.
88. Murphy PG, Loitz BJ, Frank CB, Hart DA. Influence of exogenous growth factors on the synthesis and secretion of collagen types I and III by explants of normal and healing rabbit ligaments. *Biochem Cell Biol.* 1994 ;72(9-10):403-9.
89. Oakes BW. Acute soft tissue injuries: nature and management. *Aust Fam Physician.* 1981 ;10(7 Suppl):3-16.

90. Reynolds CA, Cummings GS, Andrew PD, Tillman LJ. The effect of nontraumatic immobilization on ankle dorsiflexion stiffness in rats. *J Orthop Sports Phys Ther.* 1996 ;23(1):27-33.
91. Zhang F, Liu H, Stile F, Lei MP, Pang Y, Oswald TM, et al. Effect of vascular endothelial growth factor on rat Achilles tendon healing. *Plast Reconstr Surg.* 2003;112(6):1613-9.
92. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* 2003;83(3):835-70.
93. Warden SJ. Animal models for the study of tendinopathy. *Br J Sports Med.* 2007;41(4):232-40.
94. Lake SP, Ansoorge HL, Soslowky LJ. Animal models of tendinopathy. *Disabil Rehabil.* 2008;30(20-22):1530-41.
95. Soslowky LJ, Thomopoulos S, Tun S, Flanagan CL, Keefer CC, Mastaw J, et al. Neer Award 1999. Overuse activity injures the supraspinatus tendon in an animal model: a histologic and biomechanical study. *J Shoulder Elbow Surg.* 2000;9(2):79-84.
96. Barbe MF, Barr AE, Gorzelany I, Amin M, Gaughan JP, Safadi FF. Chronic repetitive reaching and grasping results in decreased motor performance and widespread tissue responses in a rat model of MSD. *J Orthop Res.* 2003;21(1):167-76.
97. Backman C, Boquist L, Friden J, Lorentzon R, Toolanen G. Chronic achilles paratenonitis with tendinosis: an experimental model in the rabbit. *J Orthop Res.* 1990;8(4):541-7.



98. Archambault JM, Hart DA, Herzog W. Response of rabbit Achilles tendon to chronic repetitive loading. *Connect Tissue Res.* 2001;42(1):13-23.
99. Messner K, Wei Y, Andersson B, Gillquist J, Rasanen T. Rat model of Achilles tendon disorder. A pilot study. *Cells Tissues Organs.* 1999;165(1):30-9.
100. Nakama LH, King KB, Abrahamsson S, Rempel DM. Evidence of tendon microtears due to cyclical loading in an in vivo tendinopathy model. *J Orthop Res.* 2005 ;23(5):1199-205.
101. Perry SM, McIlhenny SE, Hoffman MC, Soslowky LJ. Inflammatory and angiogenic mRNA levels are altered in a supraspinatus tendon overuse animal model. *J Shoulder Elbow Surg.* 2005;14(1 Suppl S):79S-83S.
102. Lee EW, 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.
103. Stone D, Green C, Rao U, Aizawa H, Yamaji T, Niyibizi C, et al. Cytokine-induced tendinitis: a preliminary study in rabbits. *J Orthop Res.* 1999;17(2):168-77.
104. Marsolais D, Duchesne E, Cote CH, Frenette J. Inflammatory cells do not decrease the ultimate tensile strength of intact tendons in vivo and in vitro: protective role of mechanical loading. *J Appl Physiol.* 2007;102(1):11-7.
105. Wang JH, Jia F, Yang G, Yang S, Campbell BH, Stone D, et al. Cyclic mechanical stretching of human tendon fibroblasts increases the production of prostaglandin E2 and levels of cyclooxygenase expression: a novel in vitro model study. *Connect Tissue Res.* 2003;44(3-4):128-33.
106. Anitua E, Andia I, Sanchez M. PRGF (Plasma Rich in Growth Factors). in: *Dental Dialogue* 2004; (3): 1-15

107. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(4):489-96.
108. Hall MP, Band PA, Meislin RJ, Jazrawi LM, Cardone DA. Platelet-rich plasma: current concepts and application in sports medicine. *J Am Acad Orthop Surg.* 2009;17(10):602-8.
109. Griffin XL, Smith CM, Costa ML. The clinical use of platelet-rich plasma in the promotion of bone healing: a systematic review. *Injury.* 2009;40(2):158-62.
110. Creaney L, Hamilton B. Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: the state of play. *Br J Sports Med.* 2008;42(5):314-20.
111. Schneider BS, Tiidus PM. Neutrophil infiltration in exercise-injured skeletal muscle: how do we resolve the controversy? *Sports Med.* 2007;37(10):837-56.
112. Bielecki TM, Gazdzik TS, Arendt J, Szczepanski T, Krol W, Wielkoszynski T. Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study. *J Bone Joint Surg Br.* 2007;89(3):417-20.
113. McCarrel T, Fortier L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. *J Orthop Res.* 2009;27(8):1033-42.
114. Menetrey J, Kasemkijwattana C, Day CS, Bosch P, Vogt M, Fu FH, et al. Growth factors improve muscle healing in vivo. *J Bone Joint Surg Br.* 2000;82(1):131-7.
115. Sanchez M, Anitua E, Azofra J, Andia I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *Am J Sports Med.* 2007;35(2):245-51.

116. Weibrich G, Kleis WK, Buch R, Hitzler WE, Hafner G. The Harvest Smart PRePTM system versus the Friadent-Schutze platelet-rich plasma kit. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(2):233-9.
117. Aspenberg P, Virchenko O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand.* 2004;75(1):93-9.
118. Virchenko O, Aspenberg P. How can one platelet injection after tendon injury lead to a stronger tendon after 4 weeks? Interplay between early regeneration and mechanical stimulation. *Acta Orthop.* 2006;77(5):806-12.

