

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

DÜŞÜK YOĞUNLUKLU PULSE ULTRASON TEDAVİSİNİN
ONARILMIŞ RAT TENDONLARINDA TGF- β , KOLLAJEN DÜZEYİ,
HİSTOLOJİ, BİYOMEKANİK VE FONKSİYONA ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
DR. ALPEREN İNCEOĞLU

DANIŞMAN
PROF. DR. FÜSUN ŞAHİN

DENİZLİ – 2018

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ FİZİKSEL TIP VE REHABİLİTASYON ANABİLİM DALI

DÜŞÜK YOĞUNLUKLU PULSE ULTRASON TEDAVİSİNİN
ONARILMIŞ RAT TENDONLARINDA TGF- β , KOLLAJEN DÜZEYİ,
HİSTOLOJİ, BİYOMEKANİK VE FONKSİYONA ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
DR. ALPEREN İNCEOĞLU

DANIŞMAN
PROF. DR. FÜSUN ŞAHİN

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 03.04.2017 tarih ve PAUHADYEK-2017/12 numaralı kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ – 2018


ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Füsün Şahin danışmanlığında Dr. Alperen İnceoğlu tarafından yapılan "Düşük yoğunluklu pulse ultrason tedavisinin onarılmış rat tendonlarında TGF-β1 ve kollajen düzeyi, histoloji, biyomekanik ve fonksiyona etkisi" başlıklı tez çalışması gün.../ay.../yıl... tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Fizikiyel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim/Bilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

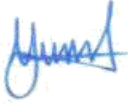
BAŞKAN

Prof. Dr. Füsün Şahin 

ÜYE

Prof. Dr. Nurettin Akbaş 

ÜYE

Prof. Dr. Yasemin Tunç 

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.
gün.../ay.../yıl... 2018

Prof. Dr.

Osman AİFTÇİ

Pamukkale Üniversitesi

Tıp Fakültesi Dekanı 

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bu uzun ve zorlu yolda bana yardımcı olan, hoşgörü ve sabrını her zaman koruyan, bilimsel kişiliğini örnek aldığım, tezimin oluşturulması, yürütülmesi, değerlendirilmesi, sonuçların yorumlanması ve yazılmasında gece gündüz demeden benden destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sn. Prof. Dr. Füsün Şahin'e, hepimizi bir çatı altında toplayan ve bilimsel yönüyle hepimize örnek olan değerli hocam Sn. Prof. Dr. Füsün Ardiç'a, eğitim sürecim boyunca bilgi ve deneyimlerinden çokça yararlanmamın yanı sıra her zaman yüzünde tebessümü eksik etmeyen değerli hocam Sn. Prof. Dr. Oya Topuz'a, eğitim sürecimde desteğini esirgemeyen, birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli hocam Sn. Prof. Dr. Necmettin Yıldız'a, çalışkanlığı ve azmine hayran olduğum değerli hocam Sn. Doç. Dr. Nuray Akkaya'ya, eğitim sürecimde bilgi ve deneyimlerinden çokça yararlandığım değerli hocam Sn. Doç. Dr. Hakan Alkan'a, her zaman arkamızda hissettiğimiz ve son derece çalışkan değerli hocalarım Sn. Dr. Öğretim Üyesi Ayşe Sarsan'a ve Sn. Doç. Dr. Gülin Fındıkoğlu'na saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimi sürecinde birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve güzel anılar paylaştığım tüm doktor arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Beni yetiştiren ve daima destek olan sevgili aileme en derin sevgilerimi sunarım.

Dr. Alperen İnceoğlu

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

İÇİNDEKİLER	iv
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xii
1.GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	1
1.1 TENDON YAPISI.....	2
1.1.1 Kollajenin Yapısı.....	5
1.1.2 Diğer Matriks Proteinleri.....	6
1.2 TENDON YARALANMALARININ MEKANİZMASI.....	7
1.3 İYİLEŞME SÜRECİ	9
1.3.1 İnflamasyon Evresi	10
1.3.2 Proliferatif Evre	11
1.3.3 Remodelasyon Evresi.....	12
1.4 TENDON İYİLEŞMESİNİN BİYOLOJİSİ.....	12
1.4.1 Tendon İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	13
1.5 AŞİL TENDONU	13
1.5.1 Aşil Tendon Anatomisi	14
1.5.2 Aşil Tendon Beslenmesi.....	16
1.5.3 Aşil Tendon İnnervasyonu	17
1.5.4 Aşil Tendon Yaralanmalarının Özellikleri.....	17
1.6 BİYOMEKANİK ve YÜRÜME ANALİZİ	17
1.7 TERAPÖTİK ULTRASON	21

1.7.1 Tanım ve Tarihçe	21
1.7.2 US Dalgalarının Elde Edilişi ve Fiziksel Özellikleri:	21
1.7.3 US Tedavisi ve Uygulama Şekli	22
1.7.4 Ultrasonun Fizyolojik Etkileri	23
1.7.5 US Tedavisinin Endikasyonları ve Kontraendikasyonları.....	26
1.8 DÜŞÜK YOĞUNLUKLU PULSE ULTRASON TEDAVİSİ	26
2. GEREÇ VE YÖNTEM	28
2.1 Çalışma Grubu ve Tedavi Protokolü	28
2.2 Ameliyat Tekniği	28
2.3 LİPUS Tedavisi	29
2.4 Değerlendirme Parametreleri	30
2.4.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile kollajen ve TGF-β1 Gen Ekspresyonu Değerlendirmesi	30
2.4.2 Histolojik Analiz.....	32
2.4.1 Biyomekanik Test.....	34
2.4.4 Fonksiyonel Analiz.....	35
2.5 İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	38
4.1 TGF-β1 ve Kollajen Ekspresyonu Sonuçları	38
4.2 Histolojik Değerlendirme Sonuçları.....	41
4.3 Biyomekanik Değerlendirme Sonuçları	43
4.4 Fonksiyonel Analiz Sonuçları	46
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ.....	60
7. KAYNAKLAR	61

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

LİPUS	:Low Intensity Pulse Ultrasound
US	:Ultrason
TGF- β	:Transforming Growth Factor- β
COL	:Kollajen
mRNA	:Messenger Ribo Nucleic Asid
cDNA	:Complementer Deoksiribo Nucleic Asid
PCR	:Polimeraze Chain Reaction
İL	:İnterlökin
FES	:Fonksiyonel Elektriksel Stimülasyon
MÖ	:Milattan Önce
AFİ	:Aşıl Fonksiyonel İndeksi
ITF	:Intermediary Toe-Spread Lenght of Foot
PLF	:Print Lenght of Foot
TSF	:Toe Spread Lenght of Foot
DYLT	:Düşük Yoğunluklu Laser Terapisi
TÖ	:Tedavi Öncesi
TS	:Tedavi Sonrası

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1. Tendonun histolojik yapısı	3
Şekil 2. Aşil tendonu anatomisi	15
Şekil 3. Yürüme siklusu.....	19
Şekil 4. Tendondaki stres-gerginlik ilişkisini gösteren eğri	20
Şekil 5. Aşil tendon cerrahisi	28
Şekil 6. LİPUS uygulaması	29
Şekil 7. Biyomekanik değerlendirme	34
Şekil 8. Rat yürüme analizi.....	35
Şekil 9. COL1A1 mRNA ekspresyonu	39
Şekil 10. COL3A1 mRNA ekspresyonu	40
Şekil 11. TGF-β1 mRNA ekspresyonu.....	40
Şekil 12. Kollajen lif özellikleri.....	42
Şekil 13. Tendon kas bağlantı bölgesi özellikleri	42
Şekil 14. Kan damarlarının görünümü	43
Şekil 15. Bimekanik değerlendirme grafikleri	45

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No:
Tablo 1. Pulse US oranı ve görev siklusu.....	23
Tablo 2. Farklı ortamlarda ses dalgalarının yayılma hızı	23
Tablo 3. cDNA sentezi reaksiyon koşulları.....	30
Tablo 4. cDNA reaksiyon şartları.....	30
Tablo 5. qRT-PCR'da kullanılan primerler	31
Tablo 6. qRT-PCR reaksiyon koşulları	31
Tablo 7. qRT-PCR reaksiyon şartları.....	32
Tablo 8. Bonar skorlaması	33
Tablo 9. Tedavi sonrası PCR ile TGF- β 1, COL1, COL3 değerlendirme parametelerinin gruplar arası karşılaştırılması	38
Tablo 10. Bonar skorlamasının gruplar arası değerlendirilmesi	41
Tablo 11. Biyomekanik değerlendirme parametrelerinin gruplar arası değerlendirilmesi	44
Tablo 12. Aşıl Fonksiyonel İndeks'inin grup içi ve gruplar arası değerlendirilmesi	46
Tablo 13. Aşıl Fonksiyonel İndeks'i değişim farkının gruplar arası değerlendirilmesi	47
Tablo 14. Aşıl Fonksiyonel İndeks'i farkının iyileşme parametreleri ile korelasyonu	47

ÖZET

Düşük Yoğunluklu Pulse Ultrason Tedavisinin Onarılmış Rat Tendonlarında TGF- β , Kollajen Düzeyi, Histoloji, Biyomekanik ve Fonksiyona Etkisi

Dr. Alperen İNCEOĞLU

Bu çalışmanın amacı; Aşil tendon hasarı oluşturulan ratlarda uygulanan düşük yoğunluklu pulse ultrason (low intensity pulsed ultrasound-LİPUS) tedavisinin ile tendon iyileşmesinde büyüme faktörleri, kollajen üretimi, histolojik, biyomekanik ve yürüme analizi ile saptanan fonksiyon üzerine etkilerini saptamaktır. Kırk Wistar Albinus cinsi erkek rat çalışmaya dahil edildi. Ratlar iki tedavi grubuna randomize edildi ve her grupta 20 rat yer aldı. Grup 1'deki ratlara Aşil tendon cerrahisi ve sonrasında LİPUS tedavisi uygulandı. Grup 2'deki ratlara Aşil tendon cerrahisi ve sonrasında sham US tedavisi uygulandı. LİPUS tedavisi dozu 1 MHz 1:5 pulse modda 0,3 watt/cm² olacak şekilde uygulandı. Tedavi cerrahi sonrası birinci gün başlanıp ardışık 15 gün boyunca uygulandı. Tedavi öncesi tüm ratlara yürüme analizi yapılarak kaydedildi. Tedavi sonrasında grupların karşılaştırılmasında TGF- β 1 ekspresyonunda LİPUS grubunda sham US grubuna göre iyileşme eğilimi görülürken bu iyileşme istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,065). COL3 ekspresyonunda LİPUS grubunda sham US grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptanırken, COL1 ekspresyonu sham US grubunda LİPUS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fazla bulundu. Histolojik analiz için bakılan Bonar skorlamasında LİPUS grubunda sham US grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptandı. Biyomekanik değerlendirmede bakılan kopma gücünde LİPUS grubunda sham US grubuna göre iyileşme eğilimi görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p=0,053). Fonksiyonel değerlendirme için uygulanan yürüme analizinde; değerlendirme parametresi olan AFİ'de LİPUS grubunda sham US grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptandı. Çalışmamızda AFİ ile değerlendirme parametrelerinin ilişkisi korelasyon analizi ile incelendiğinde AFİ farkı ile Bonar skorlaması arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı. Çalışmamız Aşil tendon hasarı sonrası uygulanan LİPUS tedavisinin tendon iyileşmesinde büyüme faktörü, kollajen üretimi, histolojik, biyomekanik ve fonksiyonel sonuçlarının birlikte değerlendirildiği ve LİPUS tedavisi ile yürüme

analizinde olumlu sonuçların alındığı ilk çalışmadır. Ayrıca tendon onarımı sonrası fonksiyonel iyileşmenin histolojik iyileşme ile korele olduğunu da gösteren ilk çalışmadır. Sonuç olarak Aşil tendon tamiri sonrası erken dönemde uygulanacak LİPUS tedavisi ile tendon iyileşmesinde olumlu sonuçlar alınabileceği, LİPUS tedavisinin Aşil tendon hasarı sonrası erken dönemde rehabilitasyon programına dahil edilmesinin faydalı olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: LİPUS, Aşil tendonu, TGF- β , tendon iyileşmesi, kopma gücü

ABSTRACT

Effects of Low Density Pulse Ultrasound Treatment on TGF- β , Collagen Level, Histology, Biomechanics and Function in Repaired Rat Tendons

Dr. Alperen İNCEOĞLU

The purpose of this study is to compare the effects of tendon healing on TGF- β , collagen level, histological, biomechanics and gait analysis with LIPUS treatment in rats with Achilles tendon injury. Forty Wistar Albinus male rats were included in the study. Rats were divided into two groups, and there were 20 rats in each group. The rats in Group 1 underwent Achilles tendon surgery and then LIPUS treatment. The rats in Group 2 underwent Achilles tendon surgery and sham US treatment. The dose of LIPUS therapy was applied with a pulse rate of 1:5, 0.3 watts/cm² and 1 MHz frequency. The treatment was started the day after surgery and applied for 15 consecutive days. All rats were recorded by walking analysis before the treatment. TGF- β 1 expression in the comparison of groups after treatment showed improvement in LIPUS group compared to sham US group, but this improvement was not statistically significant ($p = 0.065$). There was statistically significant improvement in LIPUS group compared to sham US group in COL3 expression, whereas COL1 expression was significantly higher in sham US group than LIPUS group. In Bonar grading which is used for histological grading there was statistically significant improvement in LIPUS group compared to sham US group. Although there was a tendency of improvement in tensile strength in LIPUS group, no statistically significant difference was found between groups ($p = 0,053$). In walking analysis which is the evaluation parameter for function; LIPUS group had statistically significant improvement compared to the sham US group. In our study, the relationship between AFI and evaluation parameters was analyzed with correlation analysis. There was a significant positive correlation between AFI difference and Bonar score. Our study is the first study to evaluate tendon healing with growth factor, collagen production, histological, biomechanical and functional results with LIPUS treatment applied after Achilles tendon injury. It is also the first study to demonstrate that functional recovery after tendon repair correlates with histological improvement. As a result, we conclude that it will be

possible to get positive results in tendon healing with LIPUS treatment which will be applied in the early period after Achilles tendon injury. LIPUS treatment should be included in the rehabilitation program in the early period after Achilles tendon reconstruction.

Key Words: LIPUS, Achilles tendon, TGF- β , tendon healing, tensile strenght

1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

Tendonlar temelde bağlantılı olduğu kası kemiğe birleştiren yoğun düzenli, konnektif doku yapılarıdır. Ana görevleri kasın ürettiği gücü kemiğe ileterek eklem etrafında hareket oluşturmaktır (1).

Tendonlar kollajenöz yapılar içinde en temel mimariye sahip yapılardır. Total ağırlıklarının %60-70'i sudur, kuru ağırlıklarının ise %75-80'i kollajendir. Fasikül ve lifler hiyerarşik bir düzen içinde yapılanmıştır. Temel olarak paralel ve longitudinal olarak dizilmiş kollajen fibrillerden oluşur. Bu longitudinal kollajen fibriller gücün kasta tendona aktarılmasını sağlar (2).

Tendonlar yapısal olarak 2'ye ayrılır: "İntrasinovyal tendonlar" fibröz bir kılıf veya retinakula ile sarılıdır. Bunun altında 2 ince seröz doku olan parietal ve visseral yapraklar bulunur. Bu yapraklar tendonun kaymasını kolaylaştıran kapalı bir kanal oluşturur. Sinovyal kılıflar tendonlar için kemik yüzeyleri ve diğer anatomik yapılara ulaşmayı sağlayan tüneller gibidir. Genellikle el ve ayaklardaki tendonlarda bulunur.

Bazı tendonlar gerçek bir synovial kılıfa sahip değildir. Friksiyonu önleyen paratenon denen ince bir örtüleri vardır. "Ekstrasinovyal tendon" olarak adlandırılan bu gruba verilebilecek en iyi örnek Aşil tendonudur (3).

Tendonlar fonksiyonel olarak ise 2'ye ayrılırlar: "Pozisyonel tendonlar" olarak adlandırılan grup; fizyolojik yüklenmeler altında görevleri gereği relatif olarak esnek olmayan tendonlardır. "Özelleşmiş tendonlar" ise elastik gerilme ile ortaya çıkan enerjinin depolanması ve salınması gibi daha spesifik fonksiyonları olan tendonlardır. Parmak fleksörleri veya ekstansörleri gibi tendonlar bu spesifik özellikleri nedeniyle oldukça iyi bir doğrulukta parmaklara gücü aktarırlar. Aşil gibi diğer tendonlar koşma, zıplama gibi aktivitelerde deselerasyon sırasında enerjiyi depolayarak akselerasyonun gücünün artırılmasını sağlar (1,4). Özellikle özelleşmiş yani enerji depolayan tendonlar aynı ekstremitedeki pozisyonel tendonlara göre daha ince kollajen fibrillere, daha yüksek konsantrasyonda sülfatlanmış glikozaminoglikanlara ve daha fazla hücreye sahipken kollajen turnoverları daha

yavaştır (2). Bu özellikleri nedeniyle yaralanma sonrası mekanik ve biyolojik fonksiyonlarına hemen dönememeleri yıllardır tendon yaralanmalarının geniş bir şekilde araştırılmasına neden olmaktadır (5). Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık 32000 muskuloskeletal yaralanmanın %45'i tendon/ligaman yaralanmalarına aittir ve sportif aktivitelere katılımın artması ve yaşlanma ile birlikte bu sayının artması beklenmektedir (6). Malesef mevcut tedavi stratejileri yaralanmış tendonların doğal fonksiyonel, yapısal ve biyokimyasal özelliklerini geri kazanmasında yetersiz kalmaktadır (5).

Bu çalışmada tendon iyileşmesinde kullanılan tedavi modalitelerinden biri olan terapötik US'nin kesilmiş Aşıl tendonunun iyileşmesinde TGF- β 1, kollajen üretimi, histolojik, biyomekanik ve fonksiyonel etkisinin deneysel hayvan modelinde değerlendirilmesi planlanmıştır.

1.1 TENDON YAPISI

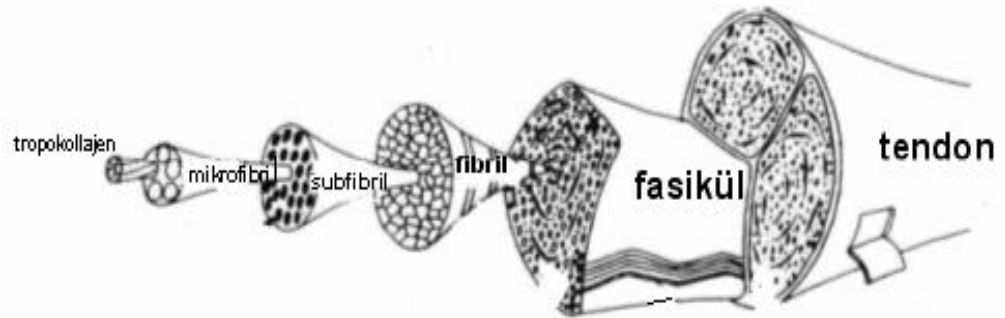
Tendon toplam ağırlığının %70'ini su meydana getirirken %30'unu kuru tendon ağırlığı oluşturur. Tendonların temel hücresel biyolojisi tam olarak açığa kavuşmamıştır. Sağlıklı tendon fibroelastik bir yapıya sahiptir ve rengi beyazdır. Hücrelerin %90–95'i tenoblast ve tenositlerden meydana gelmektedir. Tenoblastlar immatür tendon hücreleridir ve olgunlaşma gerçekleştikçe tenosit haline dönüşürler. Kalan %5–10'luk hücresel elemanlar ise kemik yapışma ve insersiyon bölgelerinde bulunan kondrositler, kapiller endotel hücre ve arteriollerin düz kas hücrelerini oluşturan vasküler hücreler, tendon kılıfında bulunan sinovyal hücrelerdir (7). Tenositler aerobik krebs siklusu, anaerobik glikoliz ve pentoz fosfat şant yollarını kullanarak enerji ihtiyacını karşılarlar ve kollajen ile ekstrasellüler matriksin diğer tüm komponentlerini sentezlerler.

Tenositler ve tenoblastlar tendon uzun aksı boyunca kollajen lifleri boyunca yerleşirler (7). Kollajen basitten komplekse doğru giden hiyerarşik bir oluşum gösterir. Üç adet hidrofilik tropokollajen zinciri çapraz bağlarla bir araya gelerek

hidrofobik kollajen molekülünü, bunlar da birleşerek mikrofibril ve fibrilleri oluşturur. Proteoglikanlar, glikoproteinler ve su matriks içerisinde fibriller ile birleşerek fasikülleri oluştururlar (7,8,9,10,11). Kollajen lif tendonun en küçük ünitesidir. Kollajen lifleri longitudinal, transvers ve horizontal olarak yerleşerek spiraller oluştururlar (7).

Ekstrasellüler matriks yapısı glikoprotein, proteoglikan, glikozaminoglikan ve diğer birkaç küçük molekülden oluşur. Proteoglikanlar oldukça hidrofilik olup, suda çözünen moleküllerin difüzyonunu ve hücrelerin migrasyonunu sağlarlar. Fibronektin gibi adeziv glikoproteinler tendon tamir ve rejenerasyonunda görev alırlar (7).

Kollajen lifleri endotenon olarak isimlendirilen gevşek bağ dokusuyla çevrelendirilmiştir. Endotenonla çevrili fasiküllerin birbiri üzerinden kayma hareketi bulunur (8,9). Endotenonlar birleşip bütün tendonu çevreleyen epitenonu meydana getirirler. Epitenon, tendon çevresindeki ve tendona giren damar, sinir ve lenfatikleri içerir. Epitenon kas tendon bileşkesinden başlayarak kas üzerinde epimisyum olarak devam eder. En son katman da tendonu çevre dokulardan ayıran paratenondur (7,10) (Resim 2). Paratenon, tendonun dış yüzeyini saran beyaz, ince, parlak, sinovya benzeri gevşek bağ dokusu kılıfıdır, genel olarak kollajen Tip I ve Tip III kollajen fibrillerini, sinovyal hücreleri ve bazı elastik fibrillerin yerleştiği iç düzeyi bulundurur (7).



Şekil 1. Tendonun histolojik yapısı

Paratenon gevşek areolar çok ince bir konnektif doku kılıfı ile çevrelenmiştir. Esas fonksiyonu her bir tendonun kendisine yakın yapılarla ilişkisi olmaksızın serbest olarak hareket etmesini sağlamaktır. Birçok tendonda epitenon ile paratenon arasında kan damarları bulunan mezotenon yer alır (9). Mezotenon, tendona gelen damarları taşır ve paratenonla sıkı temastadır. Bununla birlikte tendon kan damarlarından zengin değildir ve metabolik aktivitesi oldukça yavaştır (9,12,13).

Mekanik strese maruz kalan ve yeterli miktarda lubrikasyon sağlanması gereken el ve ayaklar benzeri bölgelerde tendonlarda sinovyal tendon kılıfı bulunmaktadır. Sinovyal kılıfın iç tabakası tendon cismini kuşatır ve sinovyal sıvı üretmek hedefi ile ultrafiltrasyon membranı gibi davranır (7). Kılıf, sinovyal sıvı içinde bulunduruyorsa tenosinovyum, buldurmuyorsa tenovajinum adını alır (9).

Myotendinöz bileşke epimisyum, perimisyum ve endomisyumun tendon fibrilleri arasında kenetlenmiş parmaklar şeklinde birbirine geçtiği ve kas dokusu içine girdiği bir alandır. Kas liflerindeki intrasellüler kontraktıl proteinler tarafından meydana getirilen gerim kuvvetinin kollajen fibrillere iletildiği yerdir. Bu kompleks mimari ile kas kontraksiyonu boyunca tendon üzerinde meydana gelen gerim kuvveti azaltılır. Kas tendon ünitesinin en zayıf alanı burasıdır (7). Osteotendinöz bileşke ise üç ayrı katman içerir. Bunlar yoğun tendon, fibrokartilaj ve kemikten oluşan katmandır.

Osteotendinöz bileşkenin özelleşmiş yapısı kollajenin ya da liflerin aşınmasını, kırılmasını zayıflamasını ve rüptürünü engeller (7). Kemiğe yapışma bölgesinde "Sharpey lifleri" adı verilen tendonun santral fibrilleri, korteksi delerek kemik içerisinde kaybolurlar. Periferik fibriller ise periost fibrilleri ile birbirine karışırlar. Kıkırdak yapışma alanında ise tendon fibrilleri perikondriuma ulaşarak yaygın olarak dağılırlar (9,13).

1.1.1 Kollajenin Yapısı

Tendon dokusu diğer konnektif dokularla kıyaslandığında, göreceli olarak daha az hücre ve daha fazla ekstrasellüler matriksten meydana gelmektedir (9). İnsan tendon toplam ağırlığının %30'unu kuru tendon ağırlığı meydana getirirken %70 ağırlık ise içerdiği su tarafından oluşturulur (14). Tendonun kuru ağırlığının %75-90'ını ise kollajen meydana getirir. Tendon yapısında bulunan kollajenin yaklaşık %95'i Tip I kollajen kalan kısmı ise Tip III kollajendir (15).

İnsan vücudunda en fazla bulunan protein bağ dokusunun esas bileşeni olan kollajendir. Tendonda diğer dokulara göre en yüksek oranda mevcuttur (16). İnsan vücudunda 30 kadar farklı polipeptid zincirinden oluşan bilinen 27 tip kollajen bulunur (17). Tip I kollajen tendon, kemik, deri ve diş dahil olmak üzere bağ dokunun büyük bir kısmında bulunur (18).

Kollajen yapım ve yıkım hızı tendonda oldukça yavaştır. Kollajen molekülü tenoblastlar tarafından prokollajen olarak sentezlenir. Prokollajen, peptidaz enzimleri tarafından ekstrasellüler bölgede parçalanır ve tropokollajen molekülü oluşur. Hidroksiprolin, polipeptid zincirleri arasında hidrojen bağlarını oluşturarak üçlü tropokollajen sarmalının dayanıklılığına yardımcı olur. Tropokollajen kümelenerek kollajen fibrillerini meydana getirir. Fibriler yapı tropokollajen molekülleri arasındaki çapraz bağların meydana gelmesi ile güçlenir. Çapraz bağlar ise bağ dokusunun gerilme kuvvetini sağlar. Kollajen molekülündeki çapraz bağların sayısı ve kalitesinde artış olması tendonun gerilme kuvvetinde artış ile sonuçlanır (19). Tendonlar gerilme güçlerine karşı oldukça dirençli olmalarına rağmen esneme yetenekleri yok denecek kadar azdır (20). Oldukça sık aralıklarla ve birbirine paralel seyir gösteren kollajen lifleri yer yer kalın demetler meydana getirirler. Bu yapısal özellik, tendonun çekme ve gerilme güçlerine karşı direnebilmesine olanak sağlar.

Kollajen basitten komplekse doğru ilerleyen hiyerarşik bir yapılanma gösterir. Üç adet hidrofilik tropokollajen zinciri çapraz bağlarla birlikte hidrofobik kollajen molekülünü, bunlar da örgütlenerek mikrofibril ve fibrilleri meydana getirir. Proteoglikanlar, glikoproteinler ve su matriks içinde fibriller ile birleşerek fasikülleri

meydana getirirler (21). Kollajen lif, mekanik olarak test edilebilen ve ışık mikroskobu altında gözlenebilen tendonun en küçük birimidir. Kollajen lifleri longitudinal olarak yerleşmelerine rağmen transvers ve horizontal olarak yerleşerek spiraller meydana getirirler (19).

Kollajen ve tenositleri çevreleyen ekstrasellüler matriks tabakası glikozaminoglikan, proteoglikan, glikoprotein ve diğer birkaç küçük molekülden meydana gelir. Proteoglikanlar hidrofilik olup, suda çözünen moleküllerin difüzyonunu ve hücrelerin migrasyonunu gerçekleştirirler. Fibronektin ve trombospondin gibi adheziv glikoproteinler tendonda tamir ve rejenerasyon döngüsünde yer alırlar (21).

1.1.2 Diğer Matriks Proteinleri

1.1.2.1 Elastin

Sert ve esnemeye dirençli kollajenin tersine elastin lastik benzeri özellikleri olan bir bağ dokusu proteinidir. Elastin ekstremite tendonlarında çok az vardır. Elastin lifleri normal uzunluklarının birkaç katına kadar uzayabilirler ve germe kuvveti ortadan kalkınca tekrar eski şekillerine dönerler. Tendon kuru ağırlığının yaklaşık %2 kadarını elastin meydana getirir (21).

1.1.2.2 Zemin Maddesi

Zemin maddesi glikozaminoglikanlar, proteoglikanlar, yapısal proteinler ve plazma proteinlerinden oluşan kompleks bir karışımdır. Bağ dokusunun hücre ve lifleri arasında kalan boşlukları doldurur. Tendonlarda çok az konsantrasyonlarda (%12'den daha az) bulunsa da tendonun yapısına ve kollajen dokunun fonksiyonuna önemli katkılar sağlayarak matriksin en önemli elemanı durumundadır. Doku zorlanması ve stres uygulanması esnasında sürtünmeyi azaltan visköz bir jeldir (18,19).

Özellikle glikozaminoglikanlar negatif yüklü olmaları sayesinde kollajen lifleri ve proteoglikanlar ile etkileşerek gerim sonrası kollajen lif boyu restorasyonunu, kollajen lif dizilimini ve lifler arası mesafeyi etkileyerek aralarındaki çapraz bağların sayısını belirlerler. Glikozaminoglikanlar ayrıca kollajen lif çapını da etkilerler. Tendonların sıkıştırılan bölümlerinde kondroitin sülfat esas glikozaminoglikandır, dermatan sülfat ise esas olarak tensil yük altında olan tendon alanlarında yoğunlaşmıştır. Kollajen lif çapı düzenlenmesinde, tek tek lifleri ayırmada ve hareket sırasında makaslama kuvvetlerini azaltmada tendon içerisindeki proteoglikanlar önemli rol oynar. Proteoglikanlardan en önemlileri dekorin, lumikan, biglikan ve fibromodulindir. Fibronektin ise hücre-matriks adezyonunda önemlidir. Elastik lifler tendonun şok absorbe edici kapasitesine etki ederler ve kollajen dizilim paterninin sağlanmasında önemlidir. Dejeneratif tendonlarda Tip III kollajen miktarının artışı, azalmış oksidatif enzim aktivitesi, proteoglikan depolanmasının artışı ve artmış hidrolitik enzim aktivite artışı görülür (19,22).

1.2 TENDON YARALANMALARININ MEKANİZMASI

Tendon yaralanmaları ani başlangıçlı ya da kronik, intrinsek veya ekstrinsek nedenlerle, ya da bunların kombinasyonu şeklinde oluşabilir. Aşıl tendon rüptürleri özellikle tendona ani yük bindirip sonra aniden yükün kalktığı spor aktivitelerinde çok sık meydana gelir. En sık görülen mekanizma diz ekstansiyon pozisyonunda iken ayağın ani olarak aşırı dorsifleksiyona gitmesiyle oluşur. Ani gelişen rüptürlerin %90'ı bu tip yaralanmalardır. Ayrıca yüksekte atlama sonrasında ayağın sert bir şekilde dorsifleksiyona zorlanması sonucunda da oluşabilir (23).

Muskulotendinöz bileşkede yer alan, koruyucu inhibitör yolakta meydana gelen fonksiyon bozukluğu da yaralanmadan sorumludur. Tendon rüptürleri genellikle orta yaşlarda (30-50 yaş) ve erkeklerde daha sık olur (23). Yıllık vaka sayısı sosyal çevreye göre değişiklik göstermekle birlikte yaklaşık 100.000 nüfusta 7 ile 9 kişidir (24). Etiyolojisi halen tam netlik kazanmamış olmakla beraber büyük oranda sportif travma sonucu meydana gelir. En sık suçlanan neden dejeneratif

tendinopatidir (10,25). Ayrıca hipoksi, oksidatif stres, iskemik hasar, hiperlipidemi, hiperkolesterolemi, enflamatuar mediatörler, matriks metalloproteinaz düzensizliği ve fluorokinolon grubu antibiyotik kullanımı sorumlu tutulan faktörler olarak belirtilmektedir. Literatüre bakıldığında bazı hastalıkların da Aşil tendon yırtıklarına neden olduğu veya zemin hazırladığı görülmektedir. Romatoid Artrit, Gut, Sistemik Lupus Eritematosus gibi sistemik hastalıklar ve Osteogenezis İmperfekta ile Ehlers Danlos Sendromu gibi kollajen sentezinde ve yapısında defektlerle karakterize kalıtsal hastalıklar örnek olarak verilebilir (26). Ruptürlerin, tendon yapışma yerinin 2-6 cm'lik proksimalinde yer alan hipovasküler bölgede olması, daha çok yaşa bağlı tekrarlayan mikrotravmalarla da olabileceğini göstermiştir (27). Kadavra üzerinde yapılan çalışmalarda, kalkaneal yapışma yerinin 3-6 cm üzerindeki alanda intravasküler volumün azaldığı bunun tendinopati ve spontan ruptüre neden olabileceği gösterilmiştir (28). Ayrıca yaşla beraber kollajen çapraz bağlarda olan değişiklikler nedeniyle tendonun sertliğinde artış olur ve viskoelastik yapısı bozulur (29). Kannus ve Jozsa (30) 891 spontan tendon ruptürünün 865'inde (%97) dejeneratif değişiklikleri göstermiş, 445 kontrol grubunun ise yalnızca 149'unda (%34) dejeneratif değişiklik olduğunu saptamışlardır.

Aşırı eksantrik yüklenme tendon ruptürlerinin en sık nedenidir. Strainler en sıklıkla, iki eklemi geçen kas tendon ünitelerinde, antagonist-agonist grupların zayıf olanlarında ve Tip II hızlı kas lifi ünitelerinde meydana gelir. Yorgunluk tendonun eksantrik kasılmada absorbe edeceği gücü azaltması sebebiyle zedelenmeye zemin hazırlar. Kas tendon ünitesinin intrinsek gerginliği de zedelenmeyi kolaylaştırır. Pasif germe pozisyonunda atel yapılan ünitelerde risk azalmaktadır. Riski arttırdığı kesin olarak gösterilen önemli bir olumsuz etki de direkt tendon bölgesine enjeksiyon veya steroid kullanımındır (31).

Yaşın tendon özelliklerine belirgin etkisi vardır. Yaşlanma kollajen döngüsünde azalma, çözünmez kollajen miktarında artış, proteoglikan ile su içeriğinde azalma, sellülarite ve vaskülaritede azalma ile sonuçlanır (19). Yaşamın üçüncü dekadında meydana gelebilecek bu yaşa bağlı değişiklikler daha sert, daha zayıf ve daha az uyumlu tendona yol açarak yaralanmaya hassasiyeti artırır.

Yaralanmaya karşı hassasiyet özellikle mukoid dejenerasyon ya da hipoksik dejenerasyon, kalsifikasyon gibi eşlik eden patolojik değişiklikler varlığında artar (32). İlerleyen yaş ile birlikte aerobik metabolik yollar anaerobik enerji üretimi yolları ile yer değiştirirler.

Tendonların oksijen tüketimi iskelet kaslarına oranla 7,5 kat daha azdır. Düşük metabolik oran ve mükemmel derecede gelişen anaerobik enerji depolama kapasiteleri tendonların uzun süre gerimlerini ve yük taşımaları sağlayabilmelerini sağlar. Ayrıca iskemi ve nekrozdan korunmaları da bu sayede gerçekleşir. Ancak tendon yaralanmalarında metabolik hızın düşük olması tendonun yavaş iyileşmesine neden olur (21,33). Yaşa bağlı değişikliklerin azalan fiziksel aktivite nedeni ile olduğu hipotezi mevcuttur ve deneysel veriler egzersizin yaşlanmayla meydana gelen tendon özelliklerindeki bozulmayı yavaşlattığını belirtmektedir (22).

1.3 İYİLEŞME SÜRECİ

Tendon yapısı herhangi bir nedenle bozulduğunda iyileşme ve skar oluşturma süreci başlar. Tendon iyileşme süreçleri genel olarak hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar sonucu ortaya konmuştur. Tendon iyileşmesi üzerine iki teori ön plana çıkmaktadır. Ekstrinsik iyileşme modelinde, tendon iyileşmesi için çevre dokulardan gelen inflamatuvar hücrelerin, tenositlerin ve tendon dışı kanlanmanın rolü vardır. İntrensek iyileşme modelinde ise endotenon ve epitenondaki fibroblastların çoğalması ve bu kılıfların sağladığı kanlanma görev alır (34). Genelde tendonda esas iyileşme intrinsik aktivite ile gerçekleşmektedir. Eğer ekstrinsik iyileşme baskın hale geçerse tendon ve etraf dokular arasında yapışıklık daha belirgin olacaktır.

Ekstrinsik iyileşme; hücrelerin ve damarların çevre dokulardan migrasyonu ile başlatılan iyileşme mekanizmasıdır. Bu iyileşme çeşidinde periferal yapışıklık oluşur ve bu da bu iyileşme türünün olağan bir sürecidir. Bu adezyon oluşumunu; travmanın şiddeti, tendon iskemisi, uygunsuz cerrahi müdahaleler, tendon kılıfının kaybı ve

immobilizasyon etkiler. Yapışıklıkta tendon uçlarındaki tenositler pasif durumda kalır ve iyileşmeye katılamazlar. İmmobilize tendonlarda çok uzun zaman geçse bile tendon kılıfı oluşumu gecikir ya da oluşmaz ve bu adezyon çözülmez. Bu iyileşmede sadece bölgeye invaze olan fibroblastlar proliferere olabilirken, tendonun kendi hücreleri ise proliferere olamadan sadece diferansiye olur ve matriks üretirler.

Ekstrinsik iyileşmede zamanla tendon sinovyal tabakası restore olurken adezyon içerisindeki kollajen lifleri rezorbe olurlar. Tendon içindeki kollajen olgunlaşıp, boyutları büyür ve çapraz bağlanmalarla güçlenirken, adezyon içindeki kollajen lifleri gevşek ve uzamış durumda kalır ve zamanla absorbe edilir. Ancak pratikte bu adezyon harekete engel fibroz bir skar dokusu şeklinde kalmış olarak da karşımıza çıkabilir.

İntrinsik iyileşme; tendonun kesilen uçlarında oluşan kendi iyileşme kapasitesi ile gerçekleştirilen tamir mekanizmasıdır. Burada tendon kılıfı bütünlüğü korunmaktadır. Tenositler aktif tenoblastlara dönüşür ve proliferere olurlar. Tenoblastlar yeni kollajen üretimini sağlarlar. Bu iyileşmede intra-tendinöz vaskülarite ve sinovyal sıvı difüzyonu ana besleyici rolündedir. Tendon yüzeyel tabakasında yapışıklık meydana gelmeden fibroplazi ve yeni kollajen sentezi yapılmaktadır. Burada tendon kılıfından bağımsız bir şekilde endotenon ve epitenon hücrel aktiviteleri ile iyileşme gerçekleştirilmektedir. İntersik iyileşmede, damar adventisiyalarındaki çok yüksek diferansiyasyon ve proliferasyon kapasiteli immatür mezenşimal hücreler ve yine iyileşmeye katıldığı tahmin edilen ancak henüz kesinleştirilemeyen başka hücreler bu mekanizmalarda rol almaktadır (35).

Tendonun iyileşme süreci 6-8 hafta devam eder ve birbirini takip eden 3 safhaya ayrılır:

1.3.1 İnflamasyon Evresi

İlk 24-48 saat arasında, öncelikle vazodilatasyon ve kan akımında lokal artış meydana gelir. Ardından küçük damarlarda geçirgenlik ve ödem oluşur. Takiben staz

oluşur. Bütün bunları lökositlerin diapedezi, kemotaksisi ve fagositozu izler. Nötrofiller 4-6 saat arasında yara bölgesine gelir ve 24-48 saat arasında da elimine olurlar. Makrofajlar ise 2 ile 3 gün içinde yaralanma bölgesine gelir ve daha kalıcıdır. Yaralanmayı takiben başlayan inflamasyon 1-3 günde giderek artarak en yüksek seviyeye ulaşır. Bu süreçte hipoksinin ve inflamasyonun etkisiyle yaralanan dokularda nekroz gelişimi başlar. Makrofajlar bu nekrotik materyalin fagositozundan sorumludurlar. Makrofajlar iki gruba ayrılırlar; klasik olarak aktive olan proinflamatuvar 'M1' makrofajlar ve alternatif yoldan aktive olan profibrotik 'M2' makrofajlar. M1 makrofajları 'T helper 1' tarafından salınan IL-12, IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinleri aktive eder, bu sayede skarlaşmayı ve fibrozisi uyarır. M2 makrofajlar ise 'T helper 2' tarafından salınan TGF- β 1, IL-10 gibi sitokinlerce aktive olarak ekstraselüler matriksteki fazla üretileni ortadan kaldırarak anti-inflamatuvar etki gösterir. Tendon iyileşmesinde M1 ve M2 makrofajlar denge içerisinde çalışırlar. Bu dengenin bozulması eksik tamire ve bozulmuş doku işlevine sebep olur. Örneğin M1 makrofajların sayıca fazlalılığı ya da yüksek aktivasyonu aşırı inflamasyon ortamının oluşmasına ve ekstraselüler matriksin gereğinden fazla oluşumuna neden olabilirken, M2 makrofaj sayısındaki artış ya da yüksek aktivasyonu fazladan doku remodelizasyonuna neden olacağından dokunun zarar görmesine de neden olabilir (36).

1.3.2 Proliferatif Evre

Tip III kollajen üretiminin en fazla olduğu fazdır. 2 gün ile 28 gün arasında oluşur. Yara bölgesine fibroblastlar 8 saat ile 10 saat arasında gelir. Eş zamanlı olarak kollajen sentezi de başlar. Fibroblast proliferasyonu 3. gün belirginleşir, 5 gün ile 7 gün arasında en yüksek seviyelere ulaşır ve yaklaşık olarak 10 gün sürer. Yara bölgesinde 3. gün anjiogenez de belirginleşir ve 5. gün en yüksek seviyelere ulaşır.

İyileşme sürecinde oluşan ana kollajen Tip III kollajendir. Tip III kollajen zamanla yerini Tip I kollajene bırakır. İlk oluşan matriksin belirgin bir kollajen fibril yönelimi ve oluşturulan tropokollajende çapraz bağlanmalar mevcut değildir.

Tropokollajen molekülündeki hidrojen bağlarının yerini güçlü çapraz bağların alması ile kollajen lifleri şekillenir ve gerilme kuvvetinde artış olur. Zedelenmeyi takip eden ilk üç haftada fibroblast konsantrasyonu gittikçe artar ve üçüncü haftanın sonunda bölge belirgin bir granülasyon dokusuyla çevrelenir. Tendonun onarım aşamasındaki dayanıklılığı oluşturulan kollajenin miktarı ve yönelimine bağlıdır. Dördüncü haftadan itibaren yeni kollajen tendon aksına paralel yönelim kazanmaya başlar. Tenositlerin sayısı bundan sonra giderek azalır (35).

1.3.3 Remodelasyon Evresi

Hücre sayısının azalması ile birlikte kollajen ve glikozaminoglikan üretimi de azalır (21,37). İyileşmenin ilk haftalarında kollajen yapımı yıkımdan fazladır. Remodelasyon fazında kollajen üretim hızı azalmasına rağmen gerilme ve kırılma kuvveti artış göstermeye devam eder (16). Remodelasyon fazı konsolidasyon ve matürasyon olmak üzere iki bölümde incelenir. Konsolidasyon 6. haftada başlar ve 10. haftaya kadar devam eder. Tamir dokusu hücresel bir halden fibröz bir hale dönüşür. Tenosit metabolizmasındaki artış devam eder. Tenositler ve kollajen lifleri, yük eksenine doğrultusunda dizilirler. Bu dönemde yüksek oranda Tip I kollajen sentezi meydana gelir. Onuncu hafta sonunda matürasyon başlar ve fibröz doku, skar benzeri tendon dokusuna dönmeye başlar (21,37). Kollajen matürasyonu sırasında kollajen molekülleri arasındaki çapraz bağların sayısı ve kalitesi artar (16). Bu dönem yaklaşık 6 ay ile bir yıl arası sürer. Dönemin ikinci 6 ayında, tenosit metabolizması ve tendon vaskülaritesi azalır (21,37).

1.4 TENDON İYİLEŞMESİNİN BİYOLOJİSİ

Yara iyileşmesinin temel biyolojisi büyüme faktörleri tarafından sağlanır. Transforming Growth Factor β (TGF- β) ailesi skar formasyonu ve kemik iyileşmesi ile ilişkili büyüme faktörü ailesidir. Sellüler fonksiyon ve gen ekspresyonu Smad yolunun aktivasyonu ile sağlanır (38). TGF- β 'nın 3 formu vardır: β 1, β 2 ve β 3. TGF- β 1 anjiogenez, kayma yüzeyinin restorasyonu ve adezyon formasyonu ile ilişkili

bulunmuştur (39,40). TGF- β 1 fibroblast ve makrofajları çağırır, proteinaz aktivitesinde azalma metalloproteinaz inhibitörlerinin aktivitesinde artış yaparak kollajen üretimini stimüle eder, bu yollarla tendon iyileşmesini sağlayan ve arttıran rolü vardır (38). Tendon yaralanması ve tamiri sonrası TGF- β 1 bu bölgede upregüle olur. Normal, yaralanmamış tenositler ve tendon kılıf hücreleri TGF- β 1 üretimi kapasitesine sahiptir. Bu sitokinin intrinsik olarak tenositlerde ekstrinsik olarak tendon kılıfı fibroblastlarında upregülasyonu ile tendon iyileşmesinde ikili bir görevi vardır (39,41).

TGF- β 2 yara çevresinde agresif inflamatuvar cevabı aktive eder. IL-2 bağımlı T hücre büyümesini kontrol eder, tümör oluşumu ve kemik kırıklarında iyileşmede önemli rol oynar. TGF- β 3 ise embriyogenez ve hücre diferensiasyonunda yer alır, yara iyileşmesinde rolünün olduğu da düşünülmektedir (42).

TGF- β 1 ekspresyonu tendona ait pek çok yaralanma modelinin tedavisi ile ilgili çalışmada, moleküler düzeyde iyileşmenin göstergesi olarak kullanılmıştır ve artışının iyileşme göstergesi olduğu kabul edilmektedir (43-48).

1.4.1 Tendon İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Hastanın yaşı, cinsiyeti, sistemik hastalık varlığı, hormonal durumu, zedelene bölgenin büyüklüğü, kronik ilaç özellikle kortikosteroid kullanımı, tendon ve çevre dokuların kanlanması bozan yaralanmalar tendon iyileşmesini etkileyen başlıca faktörlerdir (14).

1.5 AŞİL TENDONU

Kalkaneal tendon veya Aşil tendonu vücudumuzun en güçlü ve en büyük yüzeysel tendonudur. Adını tarihteki en güçlü ve en büyük savaşçı olarak kabul edilen Yunan mitoloji karakterlerinden Aşil'in (Achilleus) isminden alır. Aşil tendonundan bahsederken ilk olarak mitolojideki yerinden bahsetmek uygun olacaktır. Tendon ile

Aşil isminin ilişkisini anlatan hikaye Homeros'un M.Ö. 720'lerde yazmış olduğu 'İlyada' adlı mitolojik eserinde geçmektedir.

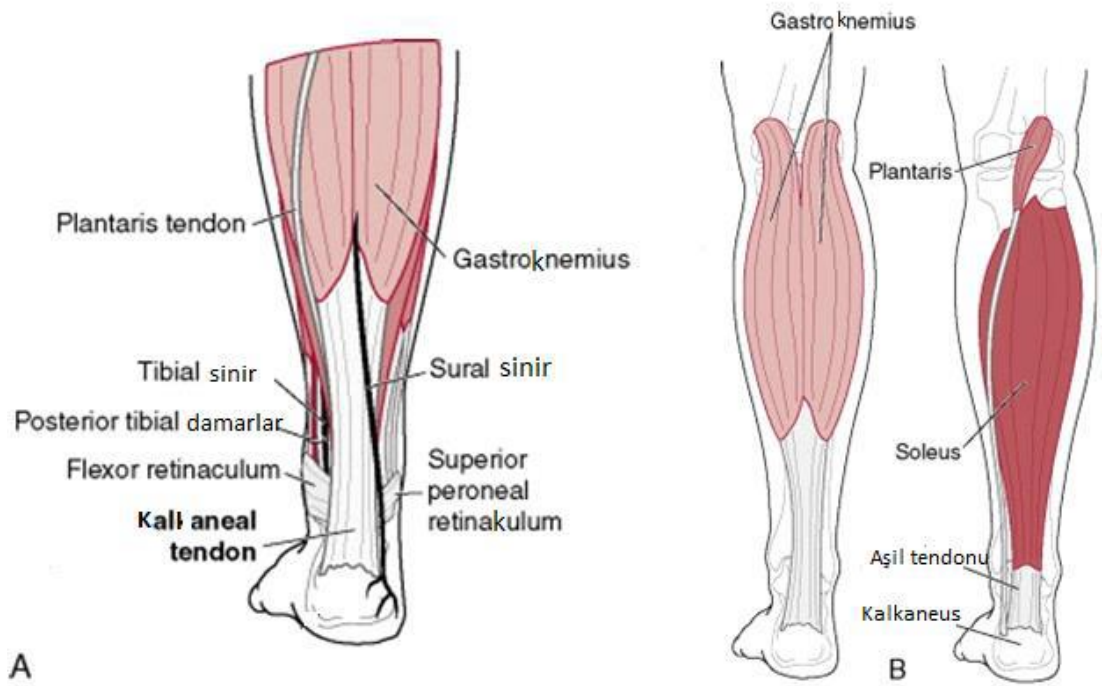
Aşil ölümlü bir baba olan Peleus ile su tanrıçası Thetis'in oğlu olan yarı tanrıdır. Dünyanın en büyük savaşçısı kabul edilir. Yunan mitolojisinin en önemli kahramanlarından biridir. Truva Savaşı'nın Grek kahramanlarının başında gelmektedir. Efsaneye göre annesi Thetis, oğlu Aşil'i ölümsüzlük nehri Styx'de yıkamıştır. Ancak Thetis'e elini suya değdirmemesi öğütlendiği için Aşil'i sol topuğundan tutup suya batırmıştır. Böylece sol topuğu suya girmeyen Aşil'in vücudunda yara alabileceği zayıf bir bölge kalmış ve yalnızca oradan vurulursa öleceğine inanılmıştır. Kahraman bir savaşçı olan Aşil, Sparta Kralı Agamennon'un kardeşi Menelaus'un kaçırılan karısı Helen'i geri almak için yapılan Truva Savaşı'na katılmış, büyük kahramanlıklar göstermiş ancak Truvalı Prenses Paris tarafından tek zayıf bölgesi olan sol topuğundan zehirli bir ok ile vurularak öldürülmüştür (49).

Aşil tendon yaralanmalarıyla ilgili ilk tanımlamalar Hipokrat tarafından yapılmıştır. Hipokrat "bu tendon, eğer ezilir veya yırtılırsa; akut ateş yapar, zihni bulandırır ve zamanla ölümü getirir" şeklinde bir ifade kullanmıştır (50). İkinci yüzyılda Galen tendonların onarıldıklarında ağrıya ve kasılmalara yol açacağını ve onarım işleminden kaçınılması gerektiğini belirtmiştir. Onikinci yüzyılda ise Guglielmo di Faliceto tendonların onarılması gerektiğini söylemiştir. Onaltıncı yüzyılda Ambroise Pare, yırtılmış Aşil tendonlarının şaraba ve baharata bulanmış bandajlarla sarılmasını önermiş, fakat sonuçların başarısız olduğunu belirtmiştir. Ondokuzuncu yüzyılda Gustave Palaillon Aşil tendon yırtıklarının cerrahi tedavisini savunmuştur (51). Abrahamson'un 1923 yılında, Quenu ve Staijanovitch'in 1929 yılında cerrahi tedavinin başarılı sonuçlarını yayınlamalarıyla birlikte cerrahi tedavinin uygulanma sıklığında artış olmuştur. Arner ve Lindholm'ün 1959 yılındaki yayınından sonra cerrahi tedavi popüler hale gelmiştir (49).

1.5.1 Aşil Tendon Anatomisi

Aşil tendonu yaklaşık olarak bir ton çekme gücündeki kuvvete dayanıklıdır. Soleus ve gastrocnemius kaslarının tendinöz kısımları birleşip Aşil tendonunu

meydana getirirler. İki tip birleşme vardır: En sık olan tipinde, tendonun kalkaneusa yapışma yerinin 12 cm proksimalinde iki kasın aponörozu birleşir ve tek tendon olarak inerler (Şekil 2). İkinci tipte ise, gastroknemius kasının aponörozu direkt olarak soleus kasının içine karışır. Gastroknemius komponentinin uzunluğu ortalama 11 cm ile 26 cm arasında değişmekte iken, soleus kasının uzunluğu 3 cm ile 11 cm arasındadır. Aşil tendonu distal kısmının yuvarlak olan transvers kesiti kalkaneusa yapışma yerinden 4 cm proksimalde incelmektedir. Aşil tendonunun lifleri distale doğru uzanırken 90° açıyla bir rotasyon yapar. Proksimalde medialde olan lifler distalde posteriora doğru döner. Böylece ayak bileği plantar fleksiyonu sırasında kasın uzaması artar ve daha az enerji ile kas kontrakte olur (8,52-54).



Şekil 2. Aşil tendonu anatomisi

Aşil tendonunun kalkaneusa yapışma yeri oldukça önemli bir bölgedir. Tendonun distal ucunda, hiyalin kartilaj tabakası ve periost ile kaplı olmayan bir kemik parçası tendon ile birlikte bulunur. Tendon ve çevre dokular arasında sürtünmeyi azaltan cilt ile arasında bulunan subkutan bursa yer alır. Retrokalkaneal

bursa, kalkaneus ile tendon arasındaki bölgede bulunur. Ön duvarı daha kalın olan fibröz kıkırdaktır ve kalkaneusun periostunun değişmesiyle oluşur. Kalkaneusun bu arka yüzeyinde makroskopik olarak üç farklı yüzey ayırt edilebilir. Boyutları ve sınırları kişiden kişiye farklılık gösteren bu yüzeylerdeki lifler, büyük oranda orta yüzeyde sonlanır. Orta ve alt yüzeyin sınırlarını belirleyen keskin kenar da tendonun en distalde sonlandığı yerin sınırını belirler. Hem orta hem de alt yüzeyi, Aşil tendonunun tutunduğu yerler olarak belirten kaynaklar bulunmaktadır. Aşil tendonunun kalkaneusun posterior yüzeyinin orta noktalarında sonlandığı yerdeki kalınlığı ortalama 3,4 cm (2,0-4,8 cm) olarak belirtilmiştir (9,25).

1.5.2 Aşil Tendon Beslenmesi

Aşil tendonu hem sinovyal diffüzyon hem de vasküler perfüzyon yoluyla beslenmektedirler. Halen beslenmelerinin ne kadarının perfüzyonla ne kadarının diffüzyonla sağlandığı bilinmemekle birlikte, yapılan çalışmalarda sinovyal diffüzyonun vasküler perfüzyona göre daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (55,56).

Aşil tendonunun kan dolaşımı, üç bölgeden sağlanır; paratenon ve kemik-tendon birleşim bölgesi, kas-tendon birleşim bölgesi ve etraf yumuşak dokular. Sürtünmeyi azaltmak için ana damarlardan çıkan dallar, sinovyal kılıfın viseral tabakasına ulaşabilmek için "vincula"lardan (mezotenon) geçer. Burada bir pleksus meydana getirirler ve tendonun yüzeyel kısmını beslerler (8,57). Bazı damarlar ise tendonun daha derinine inerler ve endotenon içinde seyrederek intratendinöz ve peritendinöz damar ağını birbirine bağlarlar. Aşil tendonunda sinovyal kılıf bulunmaz ve bu gibi tendonlarda, paratenon kanlanmaya yardımcı olur. Paratenondan ayrılan arteriyel damarlar, epitenona girerek endotenon içinde intratendinöz vasküler ağ oluştururlar. Bu sebeple, paratenon, tendon iyileşmesinde kilit bir rol oynar. Tendonun damarsal yapısı sürtünmenin, kompresyon ve torsiyon kuvvetlerinin arttığı bölgelerde yetersizdir (58). Aşil tendonunun kanlanmasını gösteren klinik çalışmalarda, tendon yapışma bölgesinin 2-7 cm proksimalinde

hipovasküler bir alan tespit edilmiştir ve bu alan, tendon yaralanmalarının sıkça karşılaştığı bölgeyi oluşturmaktadır (59). Kanlanmasının zayıf olmasının, doğrudan tendonun gerilme gücünü azalttığına ve dolaylı olarak dejenerasyona sebep olup tendonu güçsüz bıraktığı düşünülür (27).

1.5.3 Aşil Tendon İnnervasyonu

Aşil tendonunun innervasyonu esas olarak müsküler, kutanöz ve peritendinöz sinir gövdelerinden sağlanır. Sinir sonlanmalarının myelinli lifleri özelleşmiş mekanoreseptörler olarak (Golgi tendon organı) fonksiyon görürler. Bu myelinli lifler basınç ve gerime duyarlıdır. Golgi tendon organları en çok myotendinöz bileşkede bulunurlar (7,60). Myelinsiz sinir sonlanmaları ise nosiseptörler olarak fonksiyon görür ve ağrıyı algılama ve iletmekle görevlidir. Hem sempatik hem de parasempatik sinir lifleri tendonlarda mevcuttur (10).

1.5.4 Aşil Tendon Yaralanmalarının Özellikleri

Aşil tendonu insan vücudunda en sık travmaya maruz kalan ve en sık rüptüre olan tendondur (23). Aşil tendonunun kanlanmasının dağılımı uzunluğu boyunca eşit şekilde değildir ve sonlanma yerinin 2-6 cm proksimalinde yer alan kanlanmasının en zayıf olduğu kısmından yırtılır. Kanlanmasının zayıf olmasının, doğrudan tendonun gerilme gücünü azalttığı ve dolaylı olarak dejenerasyona sebep olup tendonu güçsüz bıraktığı düşünülür (27).

1.6 BİYOMEKANİK ve YÜRÜME ANALİZİ

Aşil tendonunun biyomekanik özelliklerini anlamak için yürümenin biyomekaniğini incelemekte yarar vardır. Çünkü yürüme, koşma ve spor faaliyetleri esnasında Aşil tendonu sürekli siklik yüklenmelere maruz kalmakta, bu da

tendinopatiye ve dolayısıyla rüptüre zemin hazırlamaktadır (61,62). Yürüme siklusu %60 basma ve %40 salınım olarak iki safhadan meydana gelir. Basma (a-Stance) ve salınım (b-Swing) fazları da kendi içinde bölümlere ayrılır (Şekil 3).

İlk yere dokunma (Initial Contact–Heelstrike) yürüme siklusunun %0-2 arasını oluşturur. Basma fazının başlangıcı olup ayağın yere dokunması ile başlar. Hedef ayağı ilk önce topuk yere degecek şekilde yere indirmektir. Ayak bileği dorsifleksörlerin yardımı ile nötral pozisyonda tutulur (20,21).

Yüklenme (Taban Vuruşu) (Loading response-Footflat) yürüme siklusunun %2-10 arasını oluşturur. Aynı zamanda birinci çift destek fazıdır. Diğer ayak yerden kaldırılincaya kadar gövde ağırlığı bu ayağa iletilir. Ayak bileğinde dorsifleksörler kasılır ve ayak bileği 10 derece plantar fleksiyondadır. Amaç; şok absorpsiyonu, ayağın tümünün yere indirilmesi ve vücut ağırlığının yüklenilmesidir (63,64).

Basma Ortası (Midstance) yürüme siklusunun %10-30 arasını oluşturur. Tek basma fazının başlangıcıdır. Kalça ve diz ekstansiyonda iken ayak bileği dorsifleksiyondadır. Salınım fazındaki bacak basan bacağı yanından geçer. Hedef yerde sabit olan ayak üzerinde gövdeyi öne doğru ilerletmektir (63,64).

Basma Sonu (Topuk Kalkışı) (Terminal stance-heel off) yürüme siklusunun %30-50 arasını oluşturur. Tek basma fazı sonlanmaktadır. Ayak bileği plantar fleksiyondadır. Hedef bacağı yerden kesilmesidir (63,64).

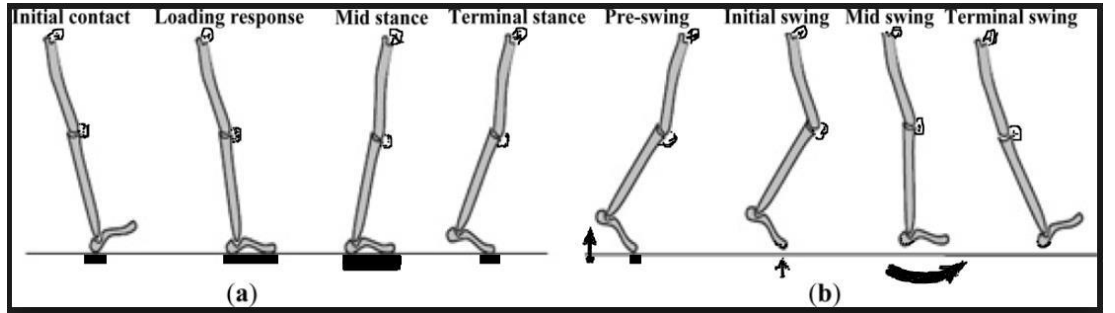
Salınım Öncesi (Parmak Kalkışı) (Preswing-toe off) yürüme siklusunun %50-60 arasını oluşturur. Basma fazının sonlanıp salınım fazının başladığı dönemdir, ayrıca ikinci çift destek dönemini oluşturur. Karşı ekstremiten yere değdiğinde başlar ve parmakların yerden kesilmesiyle biter. Bu dönemde gövde ağırlığı ekstremiten üzerinden kalkar. Hedef bacağı salınımına hazırlamaktır.

Erken Salınım (Akselerasyon) (Initial swing) yürüme siklusunun %60-73 arasını oluşturur. Ayağın yerden kaldırılması ile başlar, ayak diğer ekstremitenin hizasına geldiğinde sonlanır. Hedef havadaki bacağı hızla öne ilerletmektir.

Salınım Ortası (Midswing) yürüme siklusunun %73-87 arasını oluşturur. Salınan bacak basma fazındaki bacağı yanına gelir ve önüne geçer. Hedef ayağın yere değmeden aktarılmasıdır.

Salınım Sonu (Deselerasyon) (Terminal swing) yürüme siklusunun %87-100 arasını oluşturur. Salınan bacak basan bacağın önüne geçtiğinde başlar, ayağın yere değdiği ana kadar devam eder. Hedef ayağın yere basmaya hazırlanmasıdır. Dizin tam ekstansiyonu ile adım uzunluğu artar.

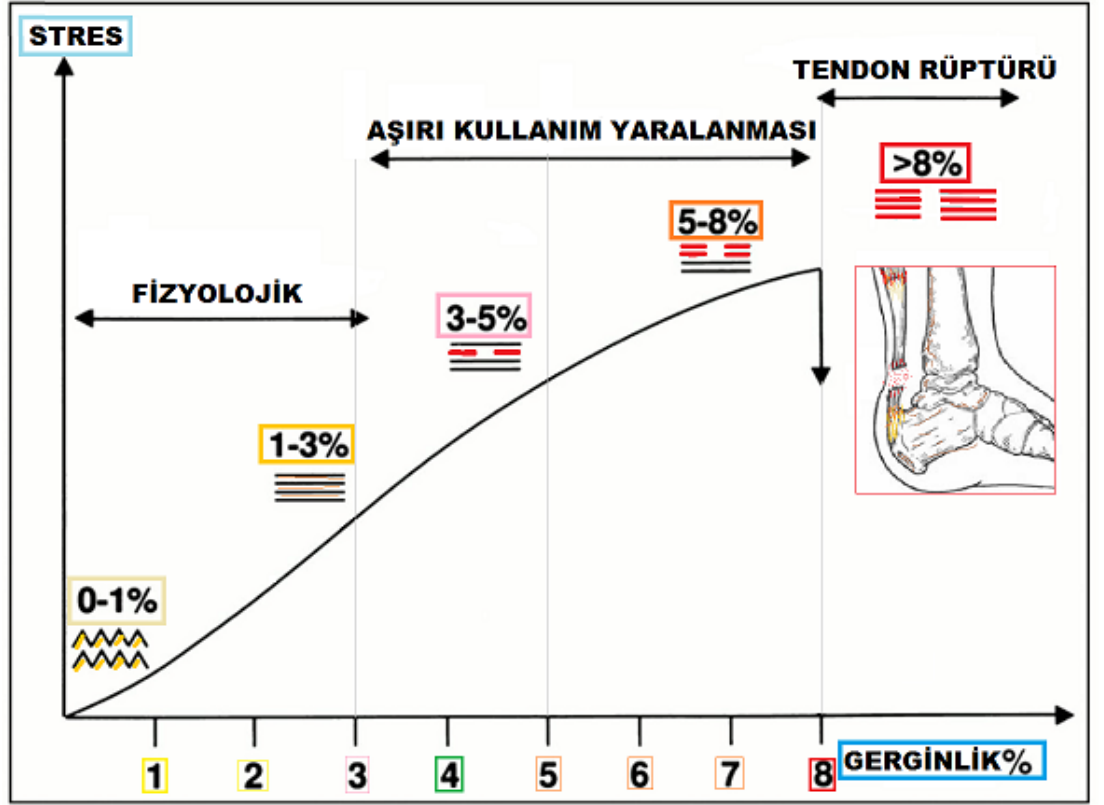
Gastroknemius ve soleus kasları basma fazı sonunda vücudun hızlanmasını sağlarlar (63,64). Yürüme siklusu sırasında, Aşil tendonunun kalkaneusa aktaracağı kuvvet parmakların yerden kalkması fazında (*push off*) oldukça hızlı bir şekilde yükselir ve topuğun yere teması fazında (*heel strike*) birden düşer. Kaslardan gelen kuvveti kemiğe aktarmanın yanı sıra, Aşil tendonu şok emici etkisi ile gastro-soleus kas kompleksinin hasarlanmasını engeller. Vücut ağırlığının sekiz katına kadar olan yüklenmelere dayanabilir (63,64). Yapılan çalışmalarda Aşil tendonunun, hızlı koşma sırasında vücut ağırlığının 12,5 katına kadar, bisiklet sürme ve zıplama sırasında da vücut ağırlığının 6 ile 8 katına kadar gerilme kuvvetlerine maruz kaldığı ortaya konmuştur (65). Bu kadar büyük kuvvetlere maruz kalan Aşil tendonunun oksijen tüketimi ise iskelet kasına oranla 7,5 kat daha azdır. Metabolik hızın yavaş ve anaerobik metabolizmanın daha yoğun olması, tendon patolojilerinde iyileşmenin yavaş olmasına sebep olur (36,66).



Şekil 3. Yürüme siklusu

İstirahat durumunda tendonlardaki kollajen fibrilleri kıvrımlı halde iken tensil kuvvetlere tendonun ilk yanıtı bu fibrillerin düzleşmesidir. Bu durum kollajenin ve elastinin elastik özelliklerine bağlıdır ve 'stres-gerginlik' eğrisinin başlangıcını meydana getirir. Eğer tendondaki gerilim %4'den fazla değilse tendon orijinal

boyutuna geri döner. Eğer tendondaki gerilme seviyesi %4 ile %8 arasındaysa, lifler birbirleri üzerinde kayarlar ve kollajen fibriller arasındaki kovalent çapraz bağlar ayrılmaya başlayarak mikro düzeyde bozulmalar meydana gelir. Gerilme seviyesi %8'i geçtiğinde ise, lifler gerilme kuvvetlerine karşı çıkamadığından yırtık oluşmaya başlar (22) (Şekil 4).



Şekil 4. Tendondaki stres-gerinlik ilişkisini gösteren eğri (gerinlik arttıkça tendondaki stres artmakta ve gerinlik %8'i geçince tendon rüptüre olmaktadır)

1.7 TERAPÖTİK ULTRASON

1.7.1 Tanım ve Tarihçe

Ultrason (US), işitilebilir aralığın üzerindeki frekanslara sahip akustik titreşim olarak tanımlanır (67). İnsan kulağı ortalama 50 ile 20000 frekans arasındaki sesleri işitebilmektedir. Bu frekans üzerindeki sesler US dalgalarını oluşturur ve frekans arttıkça bu dalgalar tedavi açısından önem kazanır (68).

US ilk kez 2. Dünya Savaşı sırasında kullanılmıştır. Medikal amaçlı ilk kullanımı ise 1944'te Horvath tarafından olmuştur (69).

1.7.2 US Dalgalarının Elde Edilişi ve Fiziksel Özellikleri:

Kullanılan terapötik US cihazları yüksek frekanslı alternatif akım veren bir jeneratör ile bu akımı ses dalgalarına çeviren US başlığında oluşmaktadır. Başlığın içinde elektrik enerjisini mekanik enerjiye çevirebilen piezoelektrik kristal bulunur.

Piezoelektrik fenomen; yapay/doğal kuvarz, kristal ya da seramik gibi bazı katı maddelerin elektriksel olarak uyarılabileceği ve böylece akım uygulanan bölgenin karşı tarafında mekanik bir stres oluşacağı esasına dayanır. Piezoelektrik materyalde oluşan tekrarlı osilasyonlar hava, su ve insan dokularından geçebilen ultrasonik dalgaların meydana gelmesine sebep olurlar ve bu olayın olduğu yapıya transduser denir (70).

Bir ultrasonik dalganın üretimi sırasında US başlığının içinde yer alan piezoelektrik transdusere uygulanan yüksek frekanslı alternatif akım, transduserin daralıp genişlemesine sebep olur, bu hareket sonucunda biyolojik dokulara iletilecek düzeyde bir ses dalgası oluşur (70). Ses dalgaları mekanik titreşimlerle meydana geldiğinden ancak bir ortam içerisinde yayılabilirler, boşlukta yol alamazlar. Tüm diğer dalgalarda olduğu gibi ses dalgaları da yansır, kırılır, dağılır, absorbe olur, girdaplaşır, konverje olur. Bir ortamdan geçerken enerjilerinin bir miktarını kaybederler (71).

US enerjisi elde etmek için kullanılan kristallerin en uygunu kuvarzdir. Ancak yüksek enerjiye gereksinim duyduğundan dolayı, çok daha ucuz olan ve bu kadar yüksek gerilim gerektirmeyen Baryum tisonat ile Lityum sülfat kristalleri tercih edilmektedir (69).

1.7.3 US Tedavisi ve Uygulama Şekli

US uygulamasında en sık kullanılan teknik, hareketli tekniktir. Tedavi edilmekte olan bölge üzerinde enerjinin daha iyi dağılması sağlanır. US başlığı 25 cm²'lik bir alanda dairesel veya longitudinal olarak yavaşça hareket ettirilir (68).

Terapötik US için yoğunluk ayrıntılı olarak santimetre kare başına Watt cinsinden belirtilir. Terapötik US için klinikte yaygın olarak kullanılan frekanslar 0,8 ile 3 MHz arasındadır, yoğunluk ise sıklıkla 0,5-2,0 W/cm²'dir. En yaygın kullanılan frekans 1 MHz'dir (68,72).

US sürekli (devamlı, *continuous*) veya kesikli (aralıklı, *pulse*) formlarda kullanılabilir. Sürekli uygulama US'nin ısı etkisinden faydalanmak için kullanılır. Bu yöntemde kullanılan US yoğunluğu 0,5-2,5 W/cm² dir. İkinci yöntem ise pulse US uygulama yöntemidir. Bu yöntemde aralıklı olarak yüksek yoğunluklu US uygulanır. Bu yöntem genel olarak ani başlangıçlı ağrılı ve inflamasyonla seyreden durumlarda kullanılır (73). Pulse oranı; birim zaman bazında enerjinin konsantrasyonunu belirler. Örneğin 1:1 pulse oranı, cihazın enerjinin verilmediği süreye eşit zaman biriminde US uygulandığı anlamına gelir. Cihazın fonksiyon siklusu bu nedenle %50'dir. Dört birimlik istirahat periyodunu bir birimlik enerjinin izlediği 1:4'lük pulse oranında cihaz sürenin %20'si oranında enerji verir. Bazı cihazlar oran, bazıları % kullanırlar. İdeal olan akut lezyonlarda 1:4 ya da 1:3, subakut lezyonlarda 1:2 ya da 1:1, kronik lezyonlarda 1:1 ya da sürekli formun kullanımınıdır. Tablo 1'de pulse US oranları ve görev siklusu gösterilmiştir (72,73).

Tablo 1. Pulse US oranı ve görev siklusu

Mod	Pulse Oranı	Görev Siklusu
Sürekli	-	%100
Kesikli	1:1	%50
	1:2	%33
	1:3	%25
	1:4	%20
	1:9	%10

Hava US enerjisi için zayıf bir iletkenidir. Dokulara US enerjisinin daha iyi iletilmesi için jel, losyon, mineral yağ veya su gibi ara iletkenler kullanılmalıdır. En iyi ara iletken jeldir. Su çok iyi bir ara iletken değildir ve ses enerjisinin %65'ini iletir. Tablo 2’de farklı ortamlarda ses dalgalarının yayılma hızları gösterilmiştir (74).

Tablo 2. Farklı ortamlarda ses dalgalarının yayılma hızı

Ortam	Hız (m/s)
Hava	340
Su	1490
Yağ Dokusu	1450
Kas Dokusu	1540
Kemik Dokusu	3360
Demir	5850
Gliserin	1950
Berilyum	13000

1.7.4 Ultrasonun Fizyolojik Etkileri

US'nin dokular üzerindeki etkileri termal ve termal olmayan etkilerdir.

1.7.4.1 Termal Etkiler

US uygulaması sonucunda oluşan ısı enerjisinin etkileri dokularda ısı artışı meydana getirerek elde edilebilmektedir. US'nin termal olarak dokularda etki oluşturabilmesi için doku sıcaklığının 40-45 °C arasında 5 dakika kalması gerekmektedir.

Kapsam Isınması:

US enerjisinin homojen bir ortamdan geçerken emilmesi ve ısı enerjisine dönüşmesiyle ilgilidir. Meydana gelen ısı miktarı dokunun absorpsiyon özelliğine, doza, uygulama süresine, uygulama şekline bağlı olarak değişir. Örneğin sinir, kemik ve tendonlar en çok ısınan dokularken yağ dokusu US enerjisini en az absorbe eden dokudur. Kaslar yağ dokusundan 2 kez, kemikler 10 kez daha fazla US enerjisi tutarlar.

Yapısal Isınma:

Farklı akustik empedansa sahip dokuların kesişme yüzeylerinde, ultrasonik dalgaların yansımaları, dağılması ve transvers dalgaların meydana gelmesi sebebiyle selektif absorpsiyon vardır ve bu noktalarda ısı artışı yoğunlaşır. Bu, özellikle kemikle periost arasındaki kesişme yerinde belirgindir ve o noktada çok fazla miktarda ısınmaya yol açarak periostal ağrı ve yanıklar meydana gelebilir (75-77).

1.7.4.2 Non-Termal Etkiler

Siklik Etki:

US'nin primer etkisi, dokularda basınç dalgalarının meydana getirdiği osilasyon hareketleridir. Bu hareketler, kitle hareketleri halindedir. Buna, siklik etki denmektedir. Fakat bu hareketlerin bağ formasyonu ve diffüzyon oranı üzerindeki etkileri çok azdır (78).

Akustik Akım:

Bir US alanında bir sıvının tek yönlü hareketini ifade eder. Sıvılar ile yapılar (hücreler ve doku fiberleri) arasında oluşan yüksek hız farkı bu duruma sebep olur. Akustik akım hücre membranı ve çevresindeki sıvı sınırında meydana getirilirse hücre aktivitesini uyarır. Protein sentezini, fibroblast mobilite değişikliklerini, mast hücrelerinden sekresyonu, ikincil mesajcı kalsiyum alımını ve makrofajlardan büyüme faktörü üretimini artırır (73).

Kavitasyon:

Gaz içeren sıvılarda US dalgalarının neden olduğu mikrometre boyutunda baloncuk veya kavite oluşumudur. Basınç değerinin düzeyine göre meydana gelen bu baloncuklar yararlı veya zararlı olabilir. Düşük basınç değerlerinde oluşan baloncukların oluşturduğu vibrasyon, kavitasyon olayının yakınındaki hücre membranında geri dönüşümlü geçirgenlik değişikliklerine neden olur. Hücre membranının kalsiyum gibi çeşitli iyonlara geçirgenliğinin değişmesi hücre aktivitesi üzerinde derin etkilere sebep olur. Yüksek basınç düzeylerinde daha şiddetli kavitasyon meydana gelir. Buna transient ya da kollaps kavitasyon denir. Bu durum hücreler için zararlı olan yüksek reaktif serbest radikallerin oluşumunu artırır (73).

Biyolojik Etki:

- Yaralı dokuda rejenerasyonun stimülasyonu
- Mikroskobik hücre yapısının serbestleşmesi: Vazodilatasyon ve hiperemi yapar.
- Hücre membran permeabilitesinin değişmesi: İnflamatuvar olayları inhibe eder, pH'da azalma yapar.
- Otonom sinir sistemi üzerine etki: Sempatik sinirleri inhibe edici etkisi vardır fakat diğer sinir dokusu tipleri üzerine etkisi belirgin değildir. Uygun sinir köküne veya sempatik gangliyona uygulandığında kas spazmını ve vasküler spazmı azaltabilir.

-Yüksek dozlarda, anemi ve staz etkisi: İrreversibl bir etkidir.

1.7.5 US Tedavisinin Endikasyonları ve Kontraendikasyonları

1.7.5.1 Kesikli Ultrasonun Endikasyonları

- Doku iyileşmesinin ileri dönemlerinde skar dokusunun daha kuvvetli bir biçimde şekillenmesini sağlamak amacıyla,
- Yumuşak dokunun akut travmalarında ödemi gidermek amacıyla,
- Bası yaraları ve variköz ülserlerde,
- Kırık varlığında kırık iyileşmesini hızlandırmak, kemik formasyonunu stimüle etmek amacıyla kullanılır (79-81).

1.7.5.2 Ultrasonun Kontraendikasyonları

- Periferik vasküler yetersizliklerde iskemik alanlara, duyarlılığı kaybolmuş bölgelere,
- Dekompanse kalp yetmezliğinde,
- İçi su dolu boşluklar üzerine, göz, kalp, testis, beyin, gebe uterus, karaciğer, dalak gibi organlara, laminektomi sonrası medulla spinalis veya kauda ekina üzerine,
- Büyüme-gelişme çağında epifizler üzerine,
- Hemorajik diyatezlerde,
- Akut enfeksiyonlarda uygulanmamalıdır (71).

1.8 DÜŞÜK YOĞUNLUKLU PULSE ULTRASON TEDAVİSİ

Mekanik enerjinin noninvaziv bir formu olarak LİPUS kas iskelet sistemi yaralanmalarında güvenli ve uygun bir adjuvan tedavi şekli olarak kabul edilir. LİPUS yüksek enerjili akustik basınç dalgalarını ve yarattığı mekanik stresi transkütanöz olarak biyolojik dokulara iletir (82).

Terapötik US tendon hasarlarının rehabilitasyonunda klinik pratikte yaygın olarak kullanılmaktadır. US ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda hücre

proliferasyonunu, protein sentezini ve fibroblast sitokin ürünlerini arttırdığı ve kollajen ürünlerinin yapımını uyardığı gösterilmiştir (83,84). US yara iyileşmesinin hemen hemen tüm fazlarında etkili bir yöntemdir. İyileşmenin erken fazlarında inflamatuvar infiltratı azaltarak, sonrasında angiogenez ve fibroblast göçünü arttırarak, kollajen üretimini düzenleyerek etkinlik gösterir (85). Ancak sürekli olarak uygulanan US'nin termal etkilerinden dolayı tendon iyileşmesi üzerine zararlı etkileri vardır (86). Pulse US ise ısının yayılmasına izin vererek zararlı etkilerin önüne geçer. Düşük yoğunluklu US ile de yumuşak dokuda ısı hasarı minimize edilir çünkü US'nin ısı etkileri aynı zamanda yoğunluk bağımlıdır. LİPUS ile doku ısısı 1 °C den az artar ve zararlı etkiler oluşmaz. Bu nedenle LİPUS yumuşak doku hasarında avantajlı bir seçenektir.

Dokuya uygulanan mekanik uyarıya verilen cevapta TGF- β 1 önemli bir rol oynar. Yara iyileşmesi fazlarının her birinde fibroblastlar TGF- β 1'ya farklı şiddette yanıt verirler (87). Bu nedenle LİPUS uygulanmasına dokuların verdiği cevap yara iyileşmesinin fazlarına göre değişkenlik göstermektedir (88). Yapılan çalışmalarda LİPUS'un erken yara iyileşme fazlarında (inflamasyon, granülasyon) COL1A1 ve COL3A1 mRNA düzeyini arttırarak tendon iyileşmesini olumlu etkilediği ancak geç yara iyileşmesi fazlarında (remodelling fazı) etkili olmadığı hatta matriks remodellingini olumsuz etkilediği gösterilmiştir (87,89,90). Erken uygulamalar bu sayede tendonun biyomekanik parametrelerini de iyileştirmektedir. Tendokalkaneöz cerrahiden 9 gün sonra LİPUS uygulanan bir çalışmada tendondaki kopma gücü, kopma stresi ve enerji emilim kapasitesinde artış olduğu saptanmıştır (91).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Çalışma Grubu ve Tedavi Protokolü

Çalışma 40 yetişkin Wistar Albino rat (20 haftalık, 250 gr) ile yürütüldü. Hayvanlar standart hayvan laboratuvar koşulları altında, kemirgen hayvan grubu için gerekli olan hem bölgesel hem de ulusal otörler tarafından uygun görülen miktarda yiyecek ve su verilerek gözlem altında tutuldu. Çalışmaya alınan 40 ratın 20 tanesi tedavi grubu 20 tanesi kontrol grubu olarak kullanıldı. Çalışmanın sonunda hayvanlar sakrifiye edildi ve her gruptan 6 denek gen ekspresyonu ölçümü, 6 denek histolojik analiz, 8 denek biyomekanik test için kullanılmak üzere örnek alındı.

2.2 Ameliyat Tekniği

Ratlara intraperitoneal ketamin hidroklorid ve xylazine 90 mg/kg+10 mg dozunda intraperitoneal anestezi ile uygulandı. Aşil tendonu, gastrokinemius kasındaki başlangıç noktasından, kalkaneustaki sonlanma noktasına doğru uygulanan longitudinal bir kesi ile açığa çıkarıldı. Tendon, kalkaneustaki sonlanma noktasının 5 mm üstünden kesildi ve 5.0 emilebilir suture ile modifiye Kessler tekniği kullanılarak tamir edildi (Şekil 5). Deri 3.0 polypropylene kullanılarak kapatıldı. Operasyon sonrası ratlara serbest aktiviteye izin verildi (92).



Şekil 5. Aşil tendon cerrahisi

2.3 LİPUS Tedavisi

LİPUS tedavisine operasyonun üzerinden 24 saat geçtikten sonra başlandı. Operasyon sonrası 15 ardışık gün boyunca 5 dk/gün, toplam 15 seans tedavi yapıldı (90,93-95). LİPUS tedavisi 2 cm'lik prob ile yapıldı. Ratlar standart bir sabitleyici materyale yerleştirildikten sonra proba akustik jel sürülüp ince bir poşet ile sarıldıktan sonra kesi alanı üzerindeki cilt sahasına US uygulaması yapıldı (96). Bir gruba sham uygulama için US cihazı açılmaksızın sadece prob tutuldu, diğer gruba LİPUS uygulandı. LİPUS dozu 1 MHz 1:5 pulse modda 0,3 watt/cm² olacak şekilde uygulandı (Şekil 6) (90,93-95).



Şekil 6. LİPUS uygulaması

2.4 Değerlendirme Parametreleri

2.4.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile kollajen ve TGF- β 1 Gen Ekspresyonu Değerlendirmesi

2.4.1.1 RNA İzolasyonu

De kapite edilen rat tendonlarından toplam RNA izole edilene kadar tendonlar RNA'nın stabilizasyonunu sağlayan RNAlater (QIAGEN) solüsyonunda -20°C'de muhafaza edildi. Tendonlar öncelikle doku homojenizatörü (Wise Tis, HG-15D, Kore) yardımıyla 1000 rpm'da 90 saniye olacak şekilde homojenize edildi. Homojenize edilen dokulardan Gene Extraction Kit (Hibrigen, Ankara, Türkiye) kullanılarak toplam RNA izole edildi. İzolasyon, kitin protokolünde belirtildiği şekilde gerçekleştirildi.

2.4.1.2 cDNA sentezi

Elde edilen toplam RNA'lar SensiFAST cDNA Synthesis Kit (BIO-65053, Bioline, Londra, İngiltere) kullanılarak cDNA'ya çevrildi. Reaksiyon kitin protokolünde belirtildiği şekilde yapıldı (Tablo 3-4).

Tablo 3. cDNA sentezi reaksiyon koşulları

Bileşen	Miktar (mikrolitre)
Toplam RNA	5 μ l
5xTransAmp Buffer	4 μ l
Reverse Transcriptase	1 μ l
DNase/RNase olmayan su	11 μ l

Tablo 4. cDNA reaksiyon şartları

Sıcaklık	Süre
25°C	10 dakika
42°C	15 dakika
85°C	5 dakika
4°C	2 dakika

2.4.1.3 Real-Time PCR (qRT-PCR)

COL1A1, COL3A1 ve TGF- β 1 genlerinin mRNA düzeyinde ekspresyon seviyelerini belirlemek için qRT-PCR tekniği kullanıldı. Elde edilen cDNA'lar, Rat genlerine (COL1A1, COL3A1, TGF- β 1 ve Beta-Aktin) spesifik primerler (Tablo 5) ve KiloGreen MasterMix (ABM, Kanada) kullanılarak reaksiyon gerçekleştirildi (Tablo 6). qRT-PCR reaksiyonları için Rotor-Gene 6000 (Corbett Life Science) cihazı kullanıldı. Reaksiyon şartları Tablo 7'de verildiği şekilde gerçekleştirildi. Reaksiyon sonuçlarında örnekler arasındaki COL1A1, COL3A1 ve TGF- β 1 genlerin ekspresyon seviyelerini karşılaştırmak için Beta-Aktin geni normalizatör olarak kullanıldı. Reaksiyon sonucu elde edilen her bir örnek için tüm genlerin Ct değerleri kullanılarak $2^{-\Delta Ct}$ metodu ile analiz edildi. Elde edilen değerler gruplar arasındaki gen ekspresyon farklılıklarını karşılaştırmak için kullanıldı. Karşılaştırmalı analiz sonucu grafikler GraphPad Prism™ yazılımı (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) kullanılarak çizildi.

Tablo 5. qRT-PCR'da kullanılan primerler

Genler	Sol Primer	Sađ Primer
COL1A1	5'-ATCAGCCCAAACCCCAAGGAGA-3'	5'-CGCAGGAAGGTCAGCTGGATAG-3'
COL3A1	5'-TGATGGGATCCAATGAGGGAGA-3'	5'-GAGTCTCATGGCCTTGCGTGTTT-3'
TGF- β 1	5'-ACCTGCAAGACCATCGACATG-3'	5'-CGAGCCTTAGTTTGGACAGGAT-3'
Beta Aktin	5'-GCGCAAGTACTCTGTGTGGA-3'	5'-GCTCAGTAACAGTCCGCCT-3'

Tablo 6. qRT-PCR reaksiyon koşulları

Bileşen	Miktar (mikrolitre)
cDNA (1:15 Sulandırılmış)	5 μ l
KiloGreen 2xqPCR	10 μ l
Sađ Primer (300 Nm)	0,5 μ l
Sol Primer (300 Nm)	0,5 μ l
DnASE/RNase olmayan su	4 μ l

Tablo 7. qRT-PCR reaksiyon şartları

Sıcaklık	Süre	Döngü
95°C	10 dakika	1
95°C	10 saniye	40
60°C	1 dakika	
Erime Eğrisi (melting curve) 55°C-95°C	-	

2.4.2 Histolojik Analiz

Tenosit özellikleri, kollajen yapısı, matriks ve vaskülarizasyon derecesini saptamak için yapıldı.

Doku örnekleri bir gece boyunca nötral tamponlanmış %10'luk formalin ile sabitlenip saklandı, daha sonra alkol ile kurutuldu, sonrasında da parafine gömüldü. Sonrasında bloklar longitudinal olarak 5 mikrometre kalınlığında kesildi. Hematoksilen Eozin ile standart protokole uygun olarak boyanarak tedaviye kör bir histolog tarafından değerlendirme gerçekleştirildi. Değerlendirmede vaskülaritenin, kollajenin ve tenositlerin değerlendirildiği Bonar skorlaması (Tablo 8) kullanıldı (97).

Tablo 8. Bonar skorlaması

Değişkenler	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Tenosit	Belirgin olmayan iğ şeklinde uzamış nükleus ile ışık mikroskopunda belirgin görülemeyen sitoplazma	Artmış yuvarlaklık: nükleus daire biçimini almaya başlamış, belirgin görülebilen sitoplazma yok	Artmış yuvarlaklık ve genişlik: nükleus daire biçiminde ve biraz genişlemiş, küçük bir miktar görülebilen sitoplazma	Nükleus yuvarlak ve geniş, bol miktarda görülebilen ve lakuna formasyonunda (kondroid değişiklik) sitoplazma
Zemin yoğunluğu (tendonun Hemotoksilen Eosin boyanmasında mavimsi amorf 'miksoid' materyalin miktarına dayanarak)	Boyanabilir zemin yok	Fibriller arası müsün boyası var, ancak demetler hala ayrık	Fibriller arası müsün boyası var ve demetler arası sınır boyanmaya başlamış	Baştan başa müsün ile boyanmış ancak kollajen boyanması belirgin değil
Kollajen	Kollajenler sıkıca birbirine bağlı. Demetler yoğun, parlak, sınırları düzgün, homojenize polarizasyon paterninde	Kısa fibril polarizasyonu: Kollajen demetlerinin sınırları devam edecek şekilde fibrillerin ayrışması	Demet değişiklikleri: Kollajen demetlerinin sınırının bozulması ve dokunun genişlemesi ile birlikte normal polarizasyon paterninin kaybolması	Fibrillerin belirgin ayrılması ile yapının tamamen kaybı
Vaskülarite	Demetler arasında belirgin olmayan kan damarları	Birkaç küme şeklinde kapiller, 10 sulama alanı başına, birden az düşecek şekilde	10 sulama alanı başına, 1-2 düşecek şekilde kapiller kümesi	10 sulama alanı başına, 2'den fazla düşecek şekilde kapiller kümesi

2.4.1 Biyomekanik Test

Tendon dayanıklılığını tespit etmek için yapıldı. Biyomekanik ölçümler Başkent Üniversitesi Makine Mühendisliği Fakültesi Laboratuvarında Universal Test Machine Hydraulic kontrol cihazı kullanılarak yapıldı.

Tendonlar diseksiyonu takiben test gününe kadar -20°C derecede saklandı. Test sırasında test ortamı sıcaklığı 20°C , nemi %40 olarak sabitlendi. Donmuş spesimenler oda sıcaklığında çözdürülerek test zamanına kadar nemlerini kaybetmemeleri için salin solüsyonuna kondu. Her tendonun proksimal kısmı cihazın üst kelepçesine, kalkaneal distal kısmı ise alt kelepçeye yerleştirildi. Üst kelepçe güç uygulanacak yük sistemi ile, alt kelepçe makinenin zemini ile bağlantılıydı. Stres testi; sistem dakikada 5 mm yer değiştirme ve 250 N güçle çalışarak uygulandı. Her bir tendona kopuncaya kadar yükleme yapılarak kayıt edildi (Şekil 7) (97).



Şekil 7. Biyomekanik değerlendirme

2.4.4 Fonksiyonel Analiz

Fonksiyonel durumun belirlenmesi için ratlara yürüme analizi yapıldı ve AFİ hesaplandı.



Şekil 8. Rat yürüme analizi

Ratlar cerrahi işlem uygulanmadan önce normalin belirlenmesi için yürüme analizi ile değerlendirildi. US tedavisi tamamlandıktan sonra, LİPUS ve sham US grubu tekrar yürüme analizi ile değerlendirildi. Yürüme analizi için daha önceki çalışmalarda tanımlanan şekilde (98), şeffaf cam bir platform (80 cm x 6 cm x 12 cm) hazırlandı ve platform altına 45 derecelik eğim ile bir ayna yerleştirildi (Şekil 8). Dijital bir kamera yürüme platformundan bir metre uzakta olacak şekilde

yerleştirildi. Ratlar yürürken, eş zamanlı olarak ratlardan ve platform altındaki aynadan sagittal planda görüntü elde edildi. Ratların kendi yürüme hızlarında serbest aktivitelerine izin verildi. Elde edilen görüntülerden Murrel ve ark. (99) tarafından tanımlanan AFİ hesaplandı. Tüm parametreler her iki ayak yer ile temas halindeyken elde edildi. AFİ ratların anatomik iyileşmesini değerlendirmek için ayak ölçümlerinin kullanıldığı bir metoddur. Basma uzunluğu (the longitudinal length of the foot contact length) (PLF, ayak yer ile temas ettiği longitudinal olarak ölçülen uzunluk) sagittal görüntüden ölçülür, ayak parmak yayılım uzunluğu (toe-spread length) (TSF, 1. ve 5. parmak arasındaki mesafe) ve ayak ara parmak yayılım uzunluğu (intermediary toe-spread length) (ITF, 2. ve 4. parmak arasındaki mesafe) alt görüntüden ölçülür. İdeal olarak AFİ normal rat tendonunda yaklaşık olarak 0'dır. AFİ değeri negatifleştikçe hasarlı tarafta daha kötü fonksiyonel bozukluk olduğunu gösterir.

$AFI = 74(PLF) + 161(TSF) + 48(ITF) - 5$ formülüyle hesaplanır.

Bu formüldeki $PLF = (NPL - EP) / EPL$, $TSF = (ETS - NTS) / NTS$, $ITF = (EIT - NIT) / NIT$ (N:normal taraf, E:hasarlı taraf)'dır.

2.5 İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde "SPSS 17.0 İstatistik Programı" kullanıldı. Veriler $ort \pm SS$ olarak sunuldu. Verilerin gruplar arasında karşılaştırılmasında non-parametrik testler kullanıldı. Bağımsız iki grubun ortalamasının karşılaştırılması için Mann Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arasında kategorik verilerin karşılaştırılması için ki-kare testi kullanıldı. Her bir grubun kendi içinde tedavi öncesi ile tedavi sonrası ortalamaları arasında fark olup olmadığına Wilcoxon testi kullanılarak bakıldı. Değerlendirme parametreleri ile fonksiyonel değişim parametresi (AFİ) farkı arasındaki ilişkinin araştırılmasında Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Analizlerde $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Çalışmaya başlamadan önce “Power Analiz” yapıldı ve çalışmanın gücü en az %80 olacak şekilde (Beta=20 ve alfa=0,05) tasarlanmış olup çalışmadaki her bir parametre için (gen ekspresyonu, histolojik analiz, biyomekanik değerlendirme) her iki gruba 6’şar rat alınmasına karar verilmiş ve planlanma her bir grup için 20 rat olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda yer alan 40 Wistar Albinus cinsi rat Aşil tendonu tendon cerrahisinde deneyimli bir ortopedist tarafından tarif edilen şekilde kesilip tamir edildi. Postop 16. saatte kontrol grubundan 4 rat öldüğü için (3 anestezi komplikasyonu, 1 enfeksiyon) ek 4 rat tekrar opere edilerek çalışmaya dahil edildi, toplam 44 rat kullanılmış oldu. Post operatif yaklaşık 30. saatte tedavi uygulamalarına başlandı. Sonradan opere olan 4 rat da operasyon saatleri gözetilerek yaklaşık 30 saat sonra tedaviye alındı.

Çalışmanın sonunda ratlar sakrifiye edildi ve her gruptan 6 denek TGF- β 1 ve kollajen ekspresyonu ölçümü, 6 denek histolojik analiz, 8 denek biyomekanik test için kullanılmak üzere örnek alındı.

4.1 TGF- β 1 ve Kollajen Ekspresyonu Sonuçları

Tedavi sonrası PCR ile gen analizi değerlendirme parametrelerinin gruplar arası karşılaştırılması Tablo 9'da gösterilmiştir.

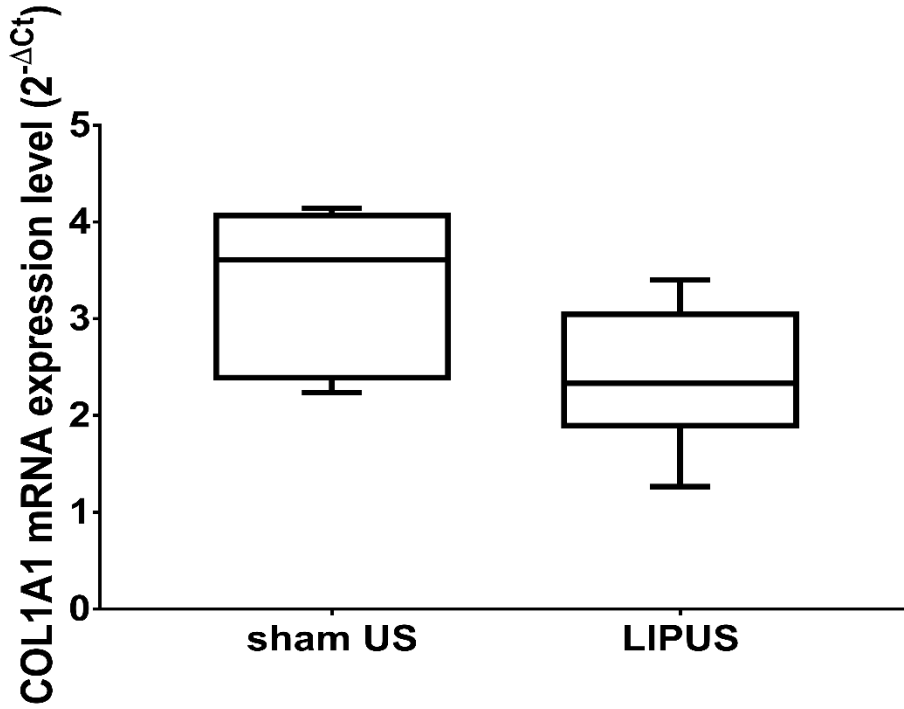
Tablo 9. Tedavi sonrası PCR ile TGF- β 1, COL1, COL3 değerlendirme parametrelerinin gruplar arası karşılaştırılması

	LİPUS (Ort \pm SS) (n=6)	Sham US (Ort \pm SS) (n=6)	P
COL1	2,4 \pm 0,7	3,3 \pm 0,8	0,045*
COL3	47,8 \pm 1,2	24,6 \pm 1,4	0,028*
TGF- β 1	0,4 \pm 0,5	0,03 \pm 0,03	0,065

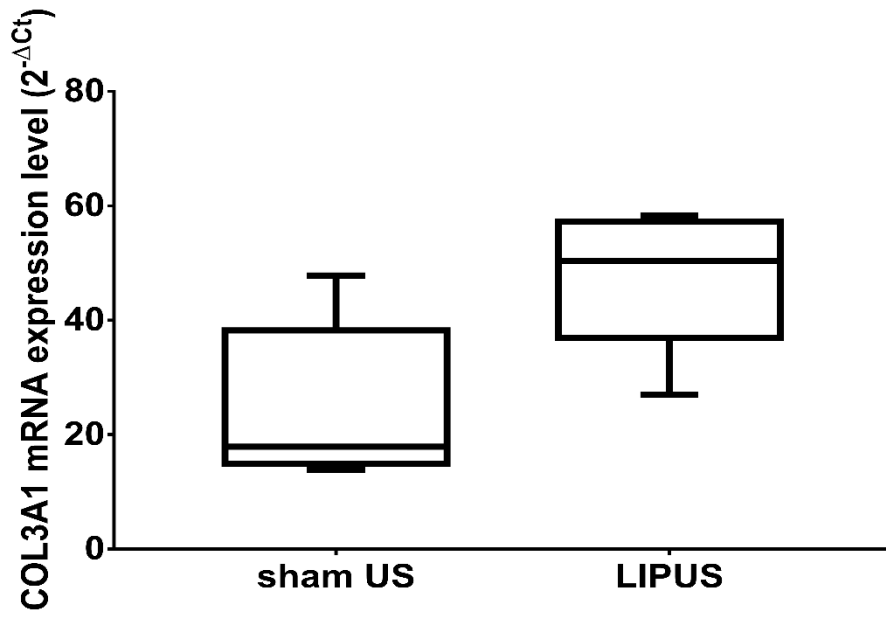
COL1: Kollajen 1 Geni, COL3: Kollajen 3 Geni, TGF- β 1: Transforming Growth Faktör β 1, LİPUS: Low Intensity Pulse Ultrason, US: Ultrason, Mann Whitney U Test * p<0,05 anlamlıdır.

Tedavi sonrası PCR ile gen analizi değerlendirme parametrelerinin gruplar arası karşılaştırılmasında; COL3A1 mRNA ekspresyonunda LİPUS grubu ile sham US grubu arasında LİPUS grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken, COL1A1 mRNA ekspresyonunda iki grup arasında sham US grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı. TGF- β 1 mRNA düzeyinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 9). COL3A1 analizi değerlendirilmesinde LİPUS grubundaki bir ratın analizde kullanılan kiti arızalanması sebebiyle bu rata ait sonuçlar değerlendirmeye alınamamıştır.

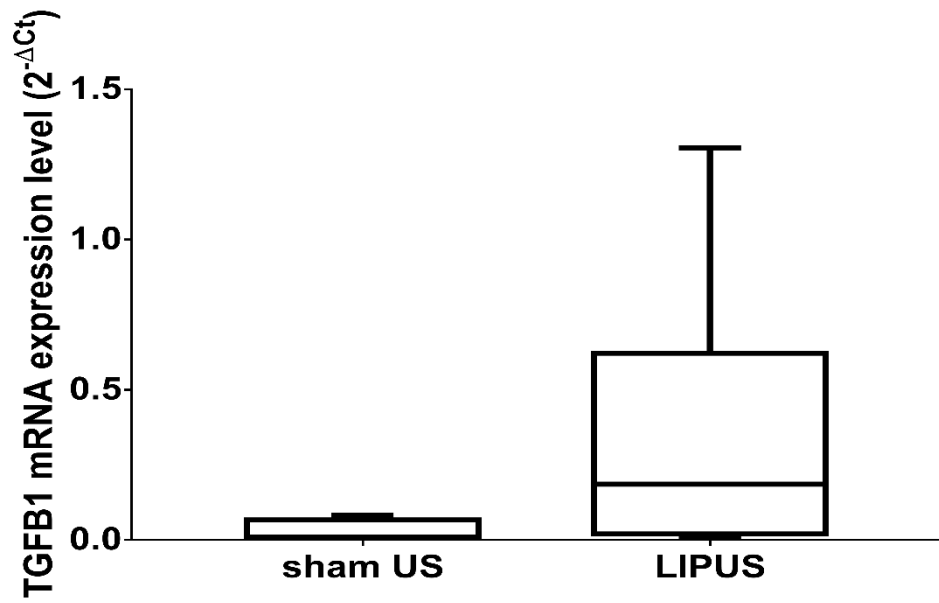
COL1A1, COL3A1, TGF- β 1 mRNA ekspresyonunun gruplar arasında karşılaştırılması Şekil, 9, 10 ve 11’de verilmiştir.



Şekil 9. COL1A1 mRNA ekspresyonu



Şekil 10. COL3A1 mRNA ekspresyonu



Şekil 11. TGF- β 1 mRNA ekspresyonu

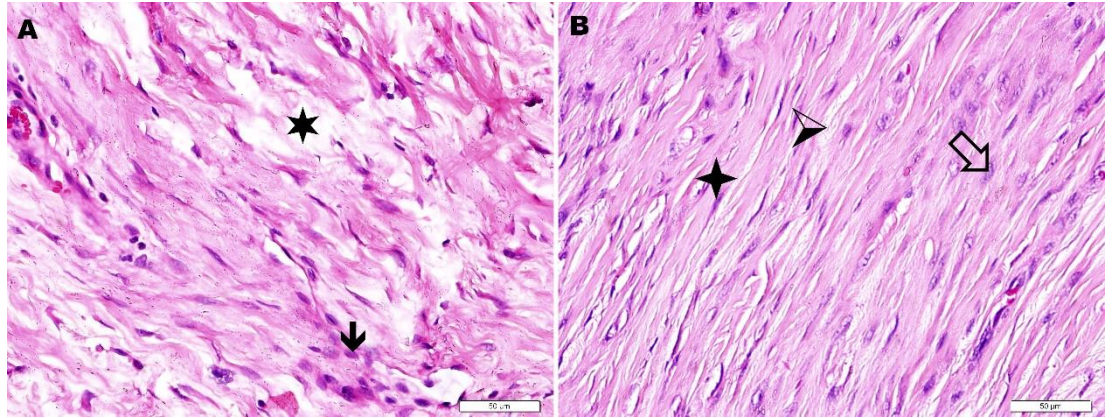
4.2 Histolojik Değerlendirme Sonuçları

Tedavi sonrası histolojik analiz Bonar skorlamasına göre evrenlenmiştir. Bu evreleme skoruna göre yapılan karşılaştırmada; LİPUS grubu sham US grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha iyiydi (Tablo 10). LİPUS grubunda bir rat Bonar Evre 3 olarak saptanırken bir rat Bonar evre 2, 4 rat Bonar evre 1 olarak saptanmıştır. Sham US grubunda ise tüm ratlar Bonar Evre 3 olarak saptanmıştır.

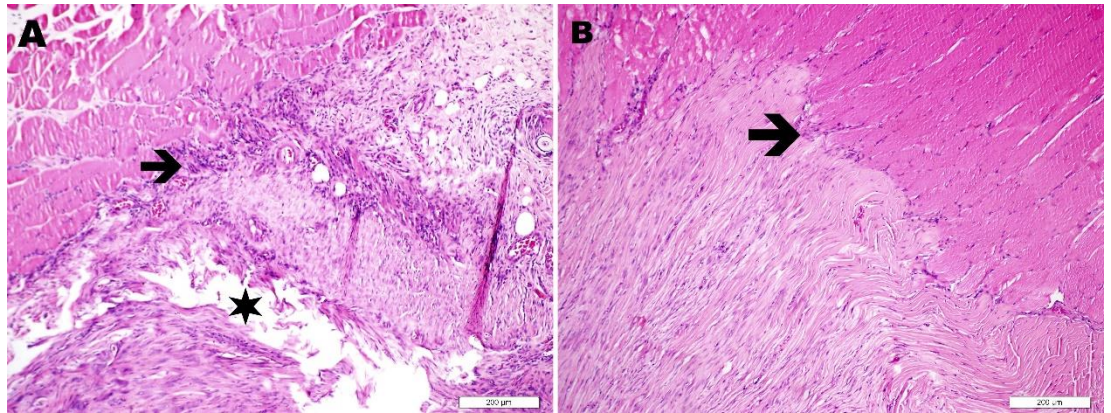
Tablo 10. Bonar skorlamasının gruplar arası değerlendirilmesi

	LİPUS (n:6)	Sham US (n:6)	p
Bonar Grade 1	4(%66,7)	0	0,014*
Bonar Grade 2	1(%16,7)	0	
Bonar Grade 3	1(%16,7)	6(%100)	

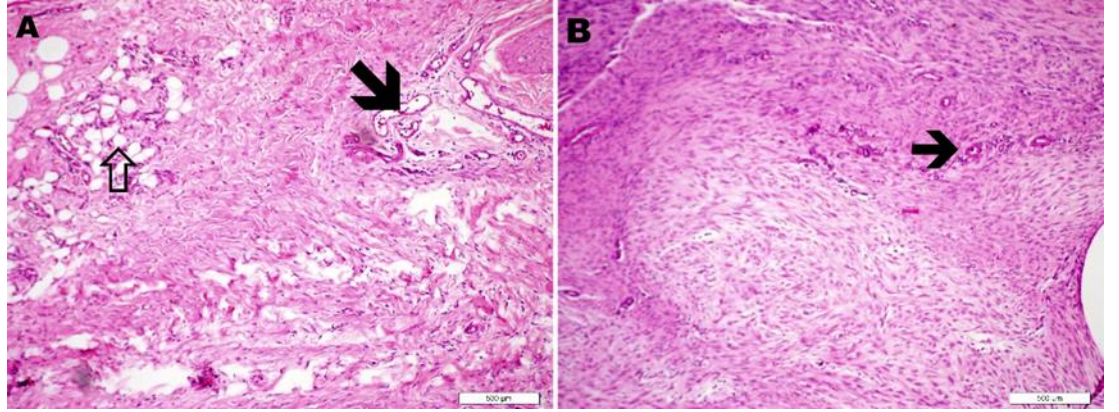
LİPUS: Low Intensity Pulse Ultrason, US: Ultrason, Ki-Kare Test * p<0,05 anlamlıdır.



Şekil 12. Kollajen lif özellikleri (A: Sham US yapılan grubun kollajen lif özellikleri görünmektedir. Lifler normal yapısını ve düzenini kaybetmiş, liflerde dejenerasyon belirgin. Lifler arası açılmalar yıldız ile gösterilmiştir, yuvarlak çekirdekli hücreler ok ile gösterilmiştir. B; LİPUS yapılan grupta normale yakın görünüm. Lifler arasındaki ayrılmalar içi boş ok ile gösterilmiştir, oval çekirdekli hücreler artı işareti ile gösterilmiştir, iğsi çekirdekli tendinosit ok başı ile gösterilmiştir. (Hematoksilen&Eosin. X400, Bar= 50µm)



Şekil 13. Tendon kas bağlantı bölgesi özellikleri (A: Sham US grubunda tendon kas bağlantı bölgesi özellikleri görülmektedir. Tendon ile kaslar arasında bağlantı bölgesi oldukça dejenere görünümündedir (Ok ile gösterilmiştir), dokuda boşluklar bulunmaktadır (Yıldız ile gösterilmiştir). B; LİPUS yapılan grupta kaslarla tendon arasında normale yakın olarak izlenen bağlantı bölgesi (Ok ile gösterilmiştir). (Hematoksilen&Eosin. X100, Bar= 200µm)



Şekil 14. Kan damarlarının görünümü (A: Sham US yapılan grup, B: LİPUS yapılan grup, kan damarları ok ve yağ hücreleri içi boş ok ile gösterilmiştir. (Hematoksilen&Eosin. X40, Bar= 500µm)

4.3 Biyomekanik Değerlendirme Sonuçları

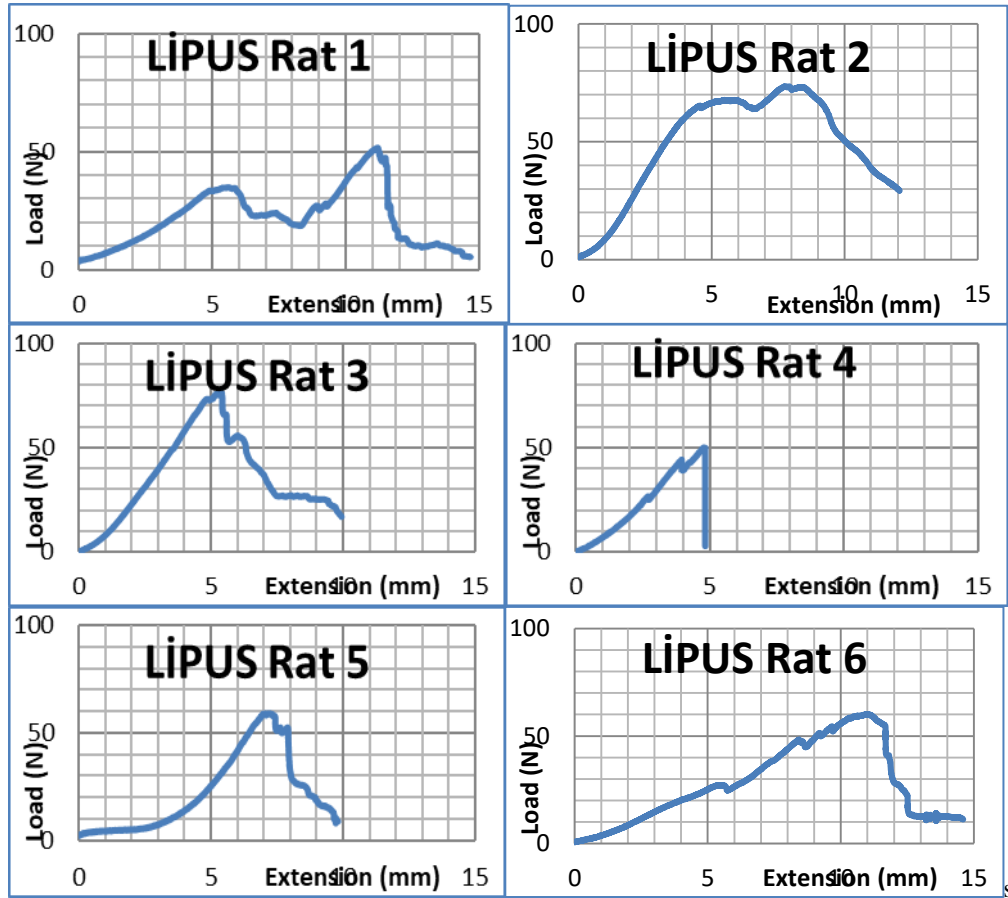
Biyomekanik değerlendirme için 8'er Aşil tendonu biyomekanik laboratuvarında değerlendirilmiştir. Ancak LİPUS grubunda bir ratın kalkaneusunun küçük olması ve cihaz kelepçesine tutturulamaması sebebiyle, bir ratın da üst kelepçeye tutturulan kas kısmının cihaza uyumlu olmaması sebebiyle değerlendirmeden çıkarılmıştır. Değerlendirme LİPUS grubundan 6, sham US grubundan 8 rat tendonu ile gerçekleştirilmiştir. Tedavi sonrası biyomekanik değerlendirme parametrelerinden kopma gücünün gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Tablo 11).

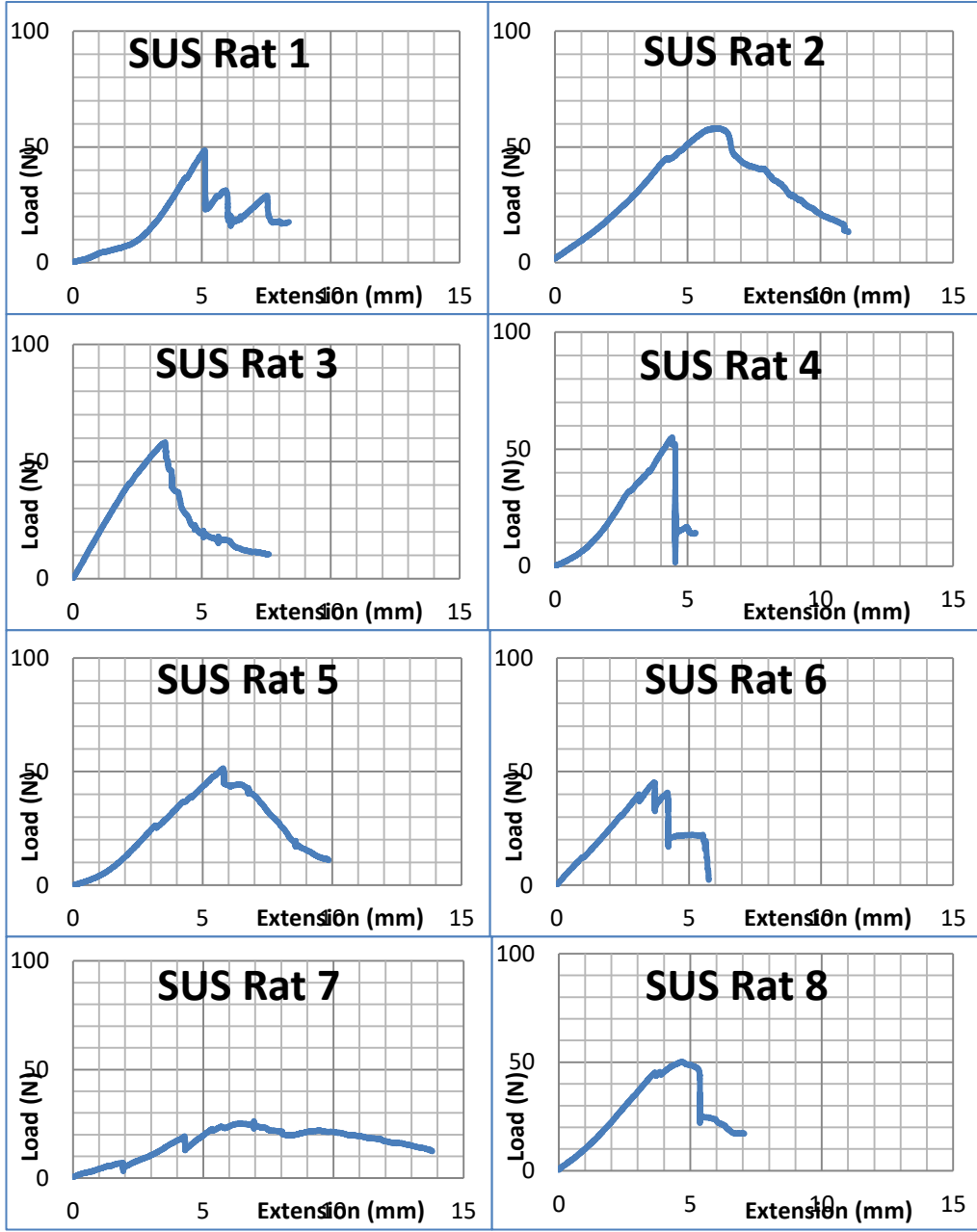
Tablo 11. Biyomekanik değerlendirme parametrelerinin gruplar arası değerlendirilmesi

	LİPUS	Sham US	p
	(n=8)	(n=6)	
	(Ort ± SS)	(Ort ± SS)	
Kopma Gücü (N)	61,8±11,1	49,1±10,6	0,053

LİPUS: Low Intensity Pulse Ultrason, US: Ultrason, Mann Whitney U Test * p<0,05 anlamlıdır.

Her bir rat Aşil tendonunun biyomekanik değerlendirme grafiği Şekil 15’de gösterilmiştir.





Şekil 15. Bimekanik değerlendirme grafikleri (LİPUS grubu ve Sham US (SUS) Grubu)

4.4 Fonksiyonel Analiz Sonuçları

Operasyon öncesi tüm ratlara uygulanan AFİ değerlendirmesinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 12).

Tedavi sonrası gruplar arası değerlendirmede LİPUS grubunda sham US grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptandı. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası grup içi karşılaştırmada her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı (Tablo 12).

Tablo 12. Aşıl Fonksiyonel İndeks'inin grup içi ve gruplar arası değerlendirilmesi

	LİPUS (n=20) (Ort±SS)	Sham US (n=20) (Ort±SS)	p*
AFİ TÖ	-8,4±3,5	-7,3±4,1	0,279
AFİ TS	-34,8±8,5	-42,0±8,6	0,009*
p**	0,001*	0,001*	

LİPUS: Low Intensity Pulse Ultrason, US: Ultrason, AFİ: Aşıl Fonksiyonel İndeks, TÖ: Test Öncesi, TS: Test Sonrası, Mann Whitney U Test *p<0,05, Wilcoxon Test ** p<0,05 anlamlıdır.

Aşıl Fonksiyonel İndeks'inin değişim farkının gruplar arası değerlendirilmesinde sham US grubundaki kötüleşme LİPUS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha fazla saptandı (Tablo 13).

Tablo 13. Aşıl Fonksiyonel İndeks'i değişim farkının gruplar arası değerlendirilmesi

	LİPUS	Sham US	p
	(n=20)	(n=20)	
	(Ort ± SS)	(Ort ± SS)	
AFİ (TS-TÖ)	-26.4±6,3	-34,8±6,1	0,001*

LİPUS: Low Intensity Pulse Ultrason, US: Ultrason, AFİ: Aşıl Fonksiyonel İndeks, TÖ: Test Öncesi, TS: Test Sonrası, Fonksiyonel durum değerlendirmesindeki değişim (AFİ değişim farkı): $\Delta = \text{TS AFİ} - \text{TÖ AFİ}$ olarak tanımlandı. Mann Whitney U Test $p < 0,05$ anlamlıdır.

AFİ ile diğer değerlendirme parametrelerinin ilişkisi korelasyon analizi ile incelendiğinde AFİ farkı ile kopma gücü, COL1A1 mRNA ekspresyonu, COL3A1 mRNA ekspresyonu ve TGF- β 1 mRNA ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmazken ($p > 0,05$), Bonar skorlaması ile AFİ farkı arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı (Tablo 14).

Tablo 14. Aşıl Fonksiyonel İndeks'i farkının iyileşme parametreleri ile korelasyonu

	p	R
Kopma Gücü – AFİ farkı	0,175	-0,385
COL1 – AFİ farkı	0,456	0,238
COL3 – AFİ farkı	0,265	-0,350
TGF-β1 – AFİ farkı	0,457	-0,238
Bonar skoru – AFİ farkı	0,015*	0,678

COL1: Kollajen 1 Geni, COL3: Kollajen 3 Geni, TGF- β 1: Transforming Growth Faktör β 1, AFİ: Aşıl Fonksiyonel İndeks, Spearman Korelasyon Testi * $p < 0,05$ anlamlıdır.

5. TARTIŞMA

Tendon yaralanmaları sonrası tendonun eski dayanıklılığına mümkün olduğunca hızlı dönmesi, sağlam olması ve uygun fonksiyonlarını görebilmesi temel amaçlardır. Bu amaçla tendon cerrahisi giderek gelişen yöntemlerle tekniklerini geliştirmeye çalışmakla birlikte, cerrahiye takiben gelişmiş rehabilitasyon programları ile tamamlanarak en iyi sonuca ulaşılmaya çalışılmaktadır (87).

Tendon yaralanmasını takiben iyileşmenin temel biyolojisi büyüme faktörleri salgılanması ile başlar. Sonrasında fibroblast repozisyonu, kollajen oluşumu ve kollajenin remodelingi ile devam eden süreçte meydana gelen uygun kompozisyon doku sağlamlığını sağlar ve bu sağlamlık ne kadar hızlı sağlanırsa fonksiyona o derece erken dönülebileceğinden artmış fonksiyonel kazanç sağlanır (51).

Rehabilitasyon metodlarına yardımcı olacak fizik tedavi modaliteleri tendon rehabilitasyon sürecinin vazgeçilmez öğeleridir. Özellikle terapötik US iyileşmenin en erken döneminden ileri eklem kontraktürü, tendon ve kas kısalmasına kadar her dönem kullanılabilir. Bu amaçla terapötik US kullanım zamanı, dozu, süresi ile ilgili pek çok çalışma yapılarak büyüme faktörleri (özellikle TGF- β), kollajen üretimi ve repozisyonu, histolojik konfigürasyona etkileri belirlenmeye çalışılmıştır (82,83,87,88). Ancak tüm bu çalışmalara ek olarak fonksiyonel duruma etki henüz çalışılmamış bir alan olarak göze çarpmaktadır.

Bu çalışmada amacımız tendon yaralanmalarında etkinliği gösterilen LİPUS uygulamasının TGF- β 1, kollajen düzeyleri, histolojik düzelme, tendon biyomekanik gücü ve fonksiyonel duruma etkisini araştırmaktır.

Çalışmamız, Temmuz 2018 ile Ağustos 2018 tarihleri arasında, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda toplam 44 adet Wistar Albinus cinsi rat kullanılarak tendon iyileşmesinde kullanılan tedavi modalitelerinden biri olan terapötik US'nin kesilmiş Aşil tendonunun cerrahi onarımını takiben iyileşmesinde biyokimyasal, histolojik, biyomekanik ve

fonksiyonel katkılarının değerlendirilmesi üzerine randomize kontrollü olarak yapılmıştır.

Tendon iyileşmesinin temel biyolojisinin büyüme faktörleri olduğu belirtilmiştir. Özellikle TGF- β ailesi skar formasyonu ve kemik iyileşmesi ile ilişkili büyüme faktörü ailesidir ve hasarlanmış tendon ile ligamentlerde fibroblast göçünü ve ekstrasellüler matris proteinlerin sentezini yöneterek iyileşme sürecinde önemli rol oynar. TGF- β 'nın 3 farklı formu bulunmaktadır fakat TGF- β 1 ekspresyonu tendon yaralanmalarında moleküler düzeyde iyileşmenin göstergesi olarak pek çok çalışmada kullanıldığı ve artışının iyileşme göstergesi olduğu kabul edilmesi sebebiyle bizim çalışmamızda TGF- β 1 ölçümü yapıldı (43-48). TGF- β 1 ekspresyonu kollajen üretimini indükleyen bir büyüme faktörüdür. Bu nedenle çalışmamızda TGF- β 1 yanında COL1 ve COL3 mRNA ekspresyon düzeyleri de PCR ile gen analizi yöntemini kullanarak belirlendi.

Pulse US tedavisi ile tendon hücrelerinde TGF- β 1 salınımının uyarıldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (100). Çalışmamızda TGF- β 1 mRNA ekspresyonu LİPUS grubunda sham US grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,065$). Sonuçlarımıza göre COL3A1 mRNA ekspresyon düzeyi LİPUS grubunda sham US grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunurken, COL1A1 mRNA ekspresyon düzeyi ise sham US grubunda LİPUS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Ancak fizyolojik yara iyileşmesi sürecini izleyen çalışmalar erken dönemde COL3 düzeyinin yükseleceğini sonraki dönemde bunun COL1'e dönüş şeklinde olacağını gösterdiğinden LİPUS grubunda COL3'ün anlamlı fazlalığı iyileşme fizyolojisi ile uyumlu görünmektedir.

US tedavisinin zamanlamasının yanı sıra uygulanacak doz ile TGF- β 1, kollajen Tip 1 ve Tip 3 düzeyleri arasındaki ilişki de araştırılmıştır (100). LİPUS tedavisi dozu 1 MHz 1:5 pulse modda 0 watt/cm² (kontrol), 0.1 watt/cm², 0.5 watt/cm², 1.0 watt/cm² olarak 4 farklı şekilde uygulanmıştır. LİPUS tedavisi, cerrahi sonrası tek doz olarak 5 dakika süresince uygulanmıştır. Cerrahiden 24 saat sonra TGF- β 1,

kollajen Tip 1 ve Tip 3 düzeyleri PCR gen analizi yöntemiyle ölçülmüş ve LİPUS tedavisi uygulanan tendonlarda kontrol grubuna göre TGF-β1, kollajen 1 ve 3 düzeylerinde artış saptanmıştır. Ama uygulanan LİPUS dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Çalışmamızda klinik uygulamalarda yapılan şekilde ardışık günlerde US tedavisi yapmayı planladık. Yapılan çalışmalarda LİPUS'un erken dönem etkinliği daha ön planda olduğu için erken dönemde başlamayı tercih ettik. TGF-β1 ve Tip 3 kollajen düzeylerinde literatür ile yakın benzerlik gösteren sonuçlar elde ettik.

Tendon iyileşmesinde eksprese edilen büyüme faktörleri ve kollajenin histolojik olarak düzgün yapılanması da önemli bir husustur ve pek çok çalışmaya konu olmuştur. Histolojik değerlendirme için farklı analiz ve evreleme yöntemleri kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda histolojik analizlerde en çok kollajen dağılımı ve organizasyonu incelendiği saptanmıştır. Çalışmamızda tendonun histolojik yapısını değerlendirmek için Bonar skorlaması kullanıldı. Bonar skorlaması tenositlerin yapısı, kollajenlerin dağılım ve organizasyonu, zemin boyanması ve vaskülaritenin değerlendirildiği ve tendon iyileşmesinin kapsamlı olarak analiz edildiği bir skorlamadır. Histolojik olarak iyileşme evre 0, 1, 2, 3 şeklinde belirlenir ve evre arttıkça tendon hasar derecesinin de artması söz konusudur. Çalışmamızda LİPUS grubundaki tendonlarda 15. günde yapılan analizde %66,7 (n=4) tendonun evre 1 olduğu saptanmış olup sham US grubunda tüm tendonlar evre 3'de idi ve LİPUS grubu lehine anlamlı farklılık göze çarpıyordu.

Da Cunha ve ark.'nın (94) Aşil tendon cerrahisi sonrası uygulanan LİPUS ve devamlı US tedavisinin karşılaştırıldığı randomize kontrollü çalışmasında 60 yetişkin erkek Wistar Albino rat randomize edilerek 4 gruba ayrılmıştır. Birinci kontrol grubundaki ratlara cerrahi uygulanmazken, ikinci kontrol grubundaki ratlara Aşil tendon cerrahisi ve sham US uygulanmıştır. Üçüncü gruptaki ratlara Aşil tendon cerrahisi ve LİPUS tedavisi, dördüncü gruptaki ratlara ise Aşil tendon cerrahisi ve devamlı US uygulanmıştır. LİPUS tedavisi dozu 1 MHz 1:5 pulse modda 0,5 watt/cm² olacak şekilde, devamlı ultrason dozu da aynı şekilde 1 MHz 0,5 watt/cm²

olarak cerrahi sonrası birinci günden itibaren başlanıp toplam 14 ardışık gün boyunca uygulanmıştır. Tendonlar cerrahi sonrası 15. günde çıkarılıp histolojik analiz için polarize ışık mikroskobunda incelenmiştir. Histolojik analizde kollajen fibrillerindeki çift kırılım miktarı ölçülerek kollajen demetlerinin organizasyonu değerlendirilmiştir. En yüksek çift kırılım miktarı ve buna bağlı olarak en iyi kollajen demeti organizasyonu beklenildiği gibi cerrahi uygulanmayan kontrol grubunda görülmüştür. Tedavi gruplarının karşılaştırılmasında LİPUS grubunda kontrol grubuna (cerrahi+sham US) ve devamlı US grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptanırken, devamlı US grubunda kontrol grubuna (cerrahi+sham US) göre tendon iyileşmesinde istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür. Çalışmamızda da bu çalışmaya benzer dozlarda LİPUS tedavisi ardışık 15 gün boyunca uygulandı ve histolojik analizde LİPUS tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptandı. Bu çalışmanın ve bizim çalışmamızın sonuçlarına bakarak tendon iyileşmesinin erken fazında uygulanacak olan LİPUS tedavisinin histolojik iyileşme sürecine olumlu katkıları olduğunu söyleyebiliriz. Çalışmamızda devamlı US kullanılmamıştır ama bahsedilen çalışmanın sonuçları devamlı US tedavisinin tendonun histolojik iyileşmesini olumsuz etkilediği sonucunu ortaya koymuştur.

Çalışmamızda US uygulaması günlük 5 dk olarak planlanmıştır. Ancak farklı sürelerde yapılan uygulamaların etkisinin araştırıldığı bir çalışmada günlük 3 dk, 4 dk ve 5 dk US uygulaması US yapılmayan grup ile karşılaştırılmıştır (96). Randomize kontrollü olarak planlanan çalışmada 40 adet Wistar cinsi rat kullanılmıştır. US tedavisine cerrahi sonrası birinci gün başlanıp on ikinci güne kadar kadar devam edilmiştir. US tedavisi dozu 1 MHz 1:5 pulse modda 0,5 watt/cm² olacak şekilde uygulanmıştır. Postoperatif 12. günde ratlar sakrifiye edilip histolojik analiz için hazırlanmışlardır. Histolojik analizde kollajen fibrillerinin organizasyonuna ve agregasyonuna bakılırken US yapılan tüm gruplarda kontrol grubuna göre histolojik olarak tendon iyileşmesinde daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmada 5 dk uygulama yapılan grupta diğer gruplara göre kollajen fibrillerinin organizasyonu ve agregasyonunun daha iyi olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma ile beraber çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde US tedavisinin 5

dakika uygulanması ile histolojik olarak iyi sonuçlar alınmasının mümkün olacağı sonucuna ulaşılabilir.

Yeung ve ark. (101) Aşil tendon operasyonu sonrası uygulanan LİPUS tedavisinin cerrahi sonrası 2. hafta ile 4. haftadaki tendon iyileşmesine etkilerini inceledikleri randomize kontrollü çalışmalarını 48 Sprague–Dawley cinsi rat ile gerçekleştirmişlerdir. Ratların yarısı cerrahi sonrası 2. haftada, kalan yarısı ise cerrahi sonrası 4. haftada sakrifiye edilip histolojik analiz yapılmıştır. US tedavisi doz olarak çalışmamıza benzer iken (1 MHz 1:5 pulse modda 0,5 watt/cm²) uygulama haftada 3 gün olacak şekilde 2 hafta boyunca yapılmıştır. Kontrol grubundaki ratlara sham US yine 2 hafta boyunca haftada 3 gün uygulanmıştır. Çalışmanın sonunda cerrahi sonrası 2. haftadaki histolojik değerlendirmede fibroblast-kollajen matriks oranı US grubunda kontrol grubuna göre daha az bulunmuştur ancak US grubundaki kollajenler daha gelişmiş fusiform nükleusları sebebiyle daha olgun görünümde saptanmıştır. Kollajen fibrillerinin dizilimlerinin ise kontrol grubunda US grubuna göre daha düzensiz olduğu görülmüştür. Cerrahi sonrası görülen bu bulguların hiçbirinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık taşımadığı görülmüştür. Cerrahi sonrası 4. haftadaki histolojik değerlendirmede ise fibroblast-kollajen matriks oranı iki grupta benzer olup skar dokusu US grubunda daha fazla paralel kollajen fibrilleri içermesi sebebiyle daha olgun görünümde bulunmuştur.

Bir başka randomize kontrollü çalışmada 60 Sprague-Dawley cinsi rat patellar tendonu kesilip dikilerek postoperatif birinci günden itibaren 2 hafta boyunca LİPUS ve sham US uygulamasının 2, 4, 6. haftadaki histolojik sonuçları incelenmiştir (90). Aynı çalışmada başka gruplarda postoperatif 2. hafta, 4. hafta US tedavisi başlanarak 2 haftalık sonuçlar incelenmiştir. Son olarak iki gruba da postoperatif birinci günde tedavi başlanmış 4 hafta ve 6 hafta US tedavisi yapılarak 6. haftada değerlendirilmişlerdir. LİPUS tedavisi dozu 1 MHz 1:5 pulse modda 0,3 watt/cm² olacak şekilde 2 cm² çaplık ultrason başlığı ile 20 dakika boyunca uygulanmıştır. Çalışmanın sonunda histolojik analiz için tendonlar değerlendirildiğinde birinci günden başlanarak LİPUS tedavisi uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre daha

iyi kollajen fibril organizasyonu elde edildiği görülmüştür. Ancak LİPUS tedavisine cerrahi sonrası 2. haftada başlanırsa, kollajen fibrillerin organizasyonunda LİPUS tedavi grubu ile kontrol grubu arasında fark görülmezken, LİPUS tedavisine cerrahi sonrası 4. hafta başlanınca kollajen fibrillerinin organizasyonunda kontrol grubunda LİPUS tedavi grubuna göre daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Yazarlar bunu US'nin geç dönemde kollajen remodeling sürecini bozarak zayıf kollajen lif dizilimine neden olmasına bağlamışlardır. Çalışmamıza benzer şekilde bu çalışmanın sonunda, operasyon sonrası LİPUS tedavisine erken dönemde başlama ile tendon iyileşmesinin histolojik analizinde daha iyi sonuçlar elde edilebileceği görülürken, geç dönemde uygulanan US tedavisinin tendon iyileşmesi üzerine olumsuz etkilerinin olabileceği de görülmüştür.

Biyomekanik değerlendirme, yapılan çalışmalarda tendon iyileşmesinin göstergesi olarak birçok kez kullanılmıştır. Biyomekanik değerlendirme parametrelerinden kopma gücü tendonun kopmadan önce dayanabildiği en son yükü göstermektedir ve en sık kullanılan parametredir. Çalışmamızda Aşil tendon cerrahisi sonrası 15 gün boyunca uygulanan LİPUS tedavisi ile biyomekanik değerlendirme parametrelerinden kopma gücünde sham US grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir, ancak LİPUS tedavi grubunda sham US grubuna göre daha yüksek kopma gücü değerleri elde edilmesi LİPUS tedavi grubunun daha fazla iyileşme eğiliminde olduğu şeklinde yorumlanabilir ($p=0,053$). Çalışmamızda biyomekanik değerlendirmede sınırda bir farklılık saptanmasının nedeni US uygulama süremiz olabilir. Çünkü çalışmamızda kullandığımız doz (1 MHz 1:5 pulse modda 0,5 watt/cm²) ve uygulama süresi (5 dk/gün) aynı olan bir başka randomize kontrollü çalışmada tedavi süresi 28 gün olarak belirlenmiş ve bu sürenin sonunda LİPUS uygulanan grupta sham US grubuna göre kopma gücünde ve nihai yükte istatistiksel olarak anlamlı iyileşme görülmüştür (93).

İki ya da 4 haftadan fazla tedavinin tendonun biyomekanik gücüne etkisinin olup olmadığının değerlendirildiği randomize kontrollü çalışmada 60 rat patellar tendonu değerlendirilmiştir. LİPUS tedavisi dozu 1 MHz 1:5 pulse modda 0,3 watt/cm² olacak şekilde 2 cm² çaplık ultrason başlığı ile 20 dakika boyunca

uygulanmıştır. Postoperatif birinci günden itibaren 2 hafta günde 20 dk uygulama ile 2, 4, 6. haftalarda tendon dayanıklılığı sham US grubuna göre daha iyi bulunmuştur. Aynı çalışmada postoperatif birinci günden başlayıp 4 ve 6 hafta boyunca LİPUS tedavisi yapıp izlenen gruplarda ise 6. haftada yapılan değerlendirmede 2 hafta uygulamaya göre tendonun kopma gücü ile bakılan biyomekanik dayanıklılığının daha fazla artmadığı saptanmıştır. LİPUS ile 2 haftalık uygulama yeterli bir süre gibi görünmekle beraber bu çalışmanın sonuçlarını çalışmamızla karşılaştırdığımızda; kopma gücünde 2 grup arasında anlamlı fark bulamamış olmamızı tedavi süremizin biraz kısa olmasına bağlayabilir, tendon iyileşmesinde tedavi süresinin uzatılması ile daha iyi sonuçlar elde edilebileceği yorumunu yapabiliriz.

Ancak Yeung ve ark. (101) yaptığı çalışma bu yorumlarımızı destekler nitelikte değildir. Bu randomize kontrollü çalışmada 48 Sprague–Dawley cinsi rat Aşil tendon operasyonu geçirmiş ve bir gruba LİPUS (1 MHz 1:5 pulse modda 0,5 watt/cm² olacak şekilde 0,8cm²’lik US başlığı ile) diğer gruba sham US uygulanmıştır. Uygulama 2 hafta boyunca haftada 3 gün, günde 5 dk olacak şekilde planlanmıştır. Bu çalışmada tedavi sonrası 2 ve 4. haftalarda yapılan değerlendirmede hem kopma gücü hem de tendon sertliği LİPUS grubunda anlamlı olarak daha iyi bulunmuştur.

Devamlı US uygulamasının yine rat Aşil tendonu iyileşmesine etkisinin araştırıldığı randomize kontrollü bir çalışmada ratlar randomize edilerek 3 gruba ayrılmıştır. Tedavi grupları olarak birinci gruba 1 watt/cm² olacak şekilde günde 4 dakika devamlı US, ikinci gruba 2 watt/cm² olacak şekilde günde 4 dakika devamlı US uygulanmıştır. Üçüncü gruba kontrol grubu olarak sadece Aşil tendon cerrahisi uygulanmıştır. US tedavisi operasyon sonrası 6. gün başlanıp ve haftada 6 seans olacak şekilde operasyon sonrası 30. güne kadar uygulanmıştır. Ratlar postoperatif 30. günde sakrifiye edilip biyomekanik değerlendirme parametrelerine bakılmıştır. Çalışmanın sonunda biyomekanik değerlendirme parametrelerinden kopma gücü her iki US tedavisi grubunda da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı iyileşme göstermiştir. Diğer biyomekanik değerlendirme parametresi olan sertlikte ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (102). Sürekli US tedavisinin termal etkilerinden dolayı tendon iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri olduğu

bilindiğinden ve postoperatif birinci günden itibaren uygulama yaptığımızdan çalışmamızda US tedavisi kesikli olarak uygulandı (86). Ama söz edilen bu çalışmada da postoperatif 6. günden itibaren yapılan devamlı US'nin de faydalı etkileri ortaya konmuştur.

Pulse US dozları ile ilgili değerlendirme yapan çalışmalar da bulunmaktadır. Gabriel Ng ve ark.'nın (103), Aşil tendon cerrahisi sonrası uygulanan düşük doz ve yüksek doz pulse US tedavisi ile egzersizin tendon iyileşmesi üzerine etkilerinin karşılaştırıldığı ve 49 yetişkin erkek ratın yer aldığı çalışmalarında ratların hepsine Aşil tendon cerrahisi uygulanmış ve randomize edilerek 5 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba sadece Aşil tendon cerrahisi uygulanmıştır ve kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir, ikinci ve üçüncü gruptaki ratlara sırasıyla 1 watt/cm² ve 2 watt/cm² olacak şekilde pulse ultrason uygulanmıştır, dördüncü gruptaki ratlara koşma egzersizi verilirken, beşinci gruptaki ratlara ise yüzme egzersizi verilmiştir. Bütün ratlara US tedavisi ve egzersizler operasyon sonrası 5. gün başlanıp 30. güne kadar her gün uygulanmıştır. Tedavinin sonunda ratlar sakrifiye edilmiş biyomekanik ölçümleri yapılmıştır. Çalışmanın sonunda 3. (2 watt/cm² US uygulanan grup) ve 4. grupta (koşma egzersizi verilen grup) kontrol grubuna göre biyomekanik değerlendirme parametrelerinden kopma gücünde istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptanırken diğer 2 tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Diğer bir biyomekanik parametre olan sertlik açısından tedavi gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bizim çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmada düşük doz US ile biyomekanik değerlendirme parametrelerinden kopma gücünde iyileşme saptanmazken, yüksek doz US tedavisi ile istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptanmıştır. Bu farklılığın oluşmasında tedaviye başlama zamanlarının farklılık göstermesi rol oynayabilir. Çalışmamızda egzersiz uygulanan grubumuz bulunmamakla beraber deneklerimize aktivite kısıtlaması da yapmamıştık.

Çalışmamızda fonksiyonel değerlendirme için yürüme analizi kullanıldı. Bu amaçla ratlarda yürüme özelliklerinin tanımlı olduğu AFİ değerlendirildi. AFİ ratların sağlam ve hasarlı tendonlarının yürüme siklusunun basma fazında parmak-

topuk arası ve parmaklar arası mesafeleri ölçülerek hesaplanan bir indekstir. Çalışmamızda tüm ratlar randomize edildi ve AFİ ölçümü gerçekleştirildi ve cerrahi öncesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Cerrahi sonrası ise beklendiği gibi AFİ indeksi her iki grupta da kötüleşmişti. Ama bu kötüleşme LİPUS grubunda sham US grubuna göre istatistiksel anlamlı şekilde daha azdı. US tedavisinin tendon iyileşmesine olumlu etkilerinin yapılan birçok çalışmada gösterilmesine rağmen US'nin yürüme üzerine fonksiyonel etkisi nispeten daha az araştırılmıştır. Bizim çalışmamız Aşil tendon hasarı sonrası LİPUS tedavisi ile yürümenin daha fizyolojiye uygun şekilde olabildiğini gösteren ilk çalışmadır.

Christine Ng ve ark (102), Aşil tendon cerrahisi sonrası uygulanan yüksek doz ve düşük doz devamlı US tedavisinin tendon iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmak için yaptıkları çalışma ile Gabriel Ng ve ark (103), Aşil tendon cerrahisi sonrası uygulanan düşük doz ve yüksek doz pulse US tedavisi ile egzersizin tendon iyileşmesi üzerine etkilerinin karşılaştırıldığı çalışma literatürde US tedavisinin yürüme üzerine etkisinin araştırıldığı iki randomize kontrollü çalışmadır.

Christine Ng ve ark.'nın çalışmasında cerrahi sonrası 6.gün başlanıp haftada 6 seans olacak şekilde cerrahi sonrası 30. güne kadar uygulanan düşük doz ve yüksek doz devamlı US tedavisi alan ratlar kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. AFİ ölçümü cerrahi sonrası 3., 10. ve 30. günlerde bakılmıştır ve AFİ'de istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Çalışmamızda US tedavisi pulse olarak uygulanması ve cerrahi sonrası birinci günden itibaren tedaviye başlanması AFİ sonuçlarında olumlu etkinin görülmüş olmasını sağladığını düşünmekteyiz. Bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda yürüme analizi cerrahiden önce ve cerrahi sonrası 15. günde uygulanmıştır.

Gabriel Ng ve ark.'nın çalışmasında cerrahi sonrası 5. gün başlanıp cerrahi sonrası 30. güne kadar uygulanan düşük doz ve yüksek doz pulse US tedavisi ile yürüme ve yüzme egzersiz grupları karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonunda yürüme analizinin değerlendirilmesinde AFİ ölçümünde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak

egzersiz grupları yer almadı. Ancak iki gruba aktivite kısıtlaması da yapılmadı. Bu çalışmada yürüme analizinde iyileşme saptanmamasının nedeni US tedavisine cerrahi sonrası nispeten daha geç dönemde başlanmasının neden olduğu yorumunu yapabiliriz.

Çalışmamızda AFİ ile değerlendirme parametrelerinin ilişkisi korelasyon analizi ile incelendiğinde AFİ farkı ile kopma gücü, COL1A1 mRNA ekspresyonu, COL3A1 mRNA ekspresyonu ve TGF-β1 mRNA ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmazken, Bonar skorlaması ile AFİ farkı arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı. Literatürde fonksiyonel değerlendirme ile tendon biyolojisi, histolojisi ve biyomekanik iyileşme parametreleri açısından karşılaştırma bulunmamaktadır. Sonuçlarımıza göre AFİ farkının histoloji ile olan pozitif yöndeki anlamlı ilişkisi yapısal olarak iyi organize olmuş dokunun fonksiyona olumlu katkı sağladığını düşündürmüştür.

LİPUS tedavisi tendonun histolojik iyileşmesinde tek başına yeterli sonuçlar alınmasını sağlayan bir fizik tedavi modalitesi olarak görünmektedir. Ancak son yıllarda tendon iyileşmesi tedavisinde çalışmaları yapılan bir diğer tedavi modalitesi Düşük Yoğunluklu Laser Terapisi'dir (DYLT). Bu tedavinin LİPUS ile karşılaştırıldığı çalışmalar değerlendirildiğinde iki çalışma göze çarpmaktadır. Wood ve ark. (104), Aşil tendon cerrahisi sonrası ratlarda uygulanan LİPUS ve DYLT tedavisini karşılaştırdıkları randomize kontrollü çalışmalarında bir grup kontrol olarak kalmış, 2. grup sadece US, 3. grup sadece DYLT, 4. grup önce US sonra DYLT, 5. grup önce DYLT sonra US tedavisi almıştır. Postoperatif birinci günden itibaren 5 gün boyunca 3 MHz 1:5 pulse modda 0,2 watt/cm² olacak şekilde US tedavisi uygulanmıştır. Altıncı günde yapılan histolojik analizde kollajen fibrillerinin dağılımı ve organizasyonu sadece US grubunda (grup 2) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha iyi bulunurken, diğer gruplarda istatistiksel anlamlı iyileşme saptanmamıştır.

Demir ve ark. (103), Aşil tendon cerrahisi sonrası uygulanan US ve DYLT'nin tendon iyileşmesi üzerine etkilerini araştırmak için 54 Swiss Albino cinsi rat

kullanarak randomize kontrollü bir çalışma yapmışlardır. Ratların hepsine Aşil tendon cerrahisi uygulanmıştır ve ratlar randomize edilerek 6 gruba ayrılmıştır. 1., 3. ve 5. gruplar tedavi grubu olarak değerlendirilmiştir ve 1. gruba US tedavisi, 3. gruba DYLT tedavisi uygulanırken 5. gruba US+DYLT tedavisi uygulanmıştır. 2., 4. ve 6. gruplar kontrol grubu olarak yer almıştır ve 2. gruba sham US, 4. gruba sham DYLT ve 6. gruba ise sham US ve sham DYLT uygulanmıştır. US tedavisi dozu 1 MHz devamlı modda 0,5 watt/cm² olarak ve haftada 5 gün olacak şekilde uygulanmıştır. US ve DYLT'ye cerrahi sonrası birinci gün başlanıp 21. güne kadar uygulanmıştır. Ratlar 21. günde sakrifiye edilip biyomekanik analiz için hazırlanmıştır. Çalışmanın sonunda biyomekanik parametrelerden kopma gücünde US, DYLT ve US+DYLT gruplarında aynı tedavilerin sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptanırken, tedavi grupları arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Sonuç olarak çalışmamızda LİPUS tedavisi ile onarılmış rat Aşil tendonlarında PCR ile gen analizinde Tip 3 kollajen düzeyinde, histolojik analizde kullanılan Bonar skorlamasında ve yürüme analizinin değerlendirildiği AFİ ölçümünde istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptanırken, biyomekanik değerlendirme parametrelerinden kopma gücünde ve PCR ile gen analizi ölçümünde TGF β1 düzeyinde LİPUS tedavi grubunda kontrol grubuna göre iyileşme eğilimi görülürken istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilemedi.

Çalışmamızın kısıtlılıklarından bir tanesi, ratlara verilen tedavinin uzun dönem etkinliğinin değerlendirilememesidir. Cerrahi sonrası 15. günde ratlar sakrifiye edilip örnekler alındığı için bu süreçten sonraki iyileşme dönemindeki LİPUS tedavisinin etkilerinin devamlılığı gösterilememiştir. Ayrıca tendon iyileşmesinde etkili faktörlerden biri olan ve çalışmalarla da desteklenmiş egzersiz tedavisinin eklenmemesi de kısıtlılık sayılabilir. Aktivite kısıtlaması yapılmamasına rağmen ek aktivitelerin özellikle fonksiyonel duruma etkisinin olacağı düşünülmektedir.

Çalışmamız Aşil tendon hasarı sonrası uygulanan LİPUS tedavisi ile tendon iyileşmesinin doku gen analizi ölçümü, histolojik, biyomekanik ve fonksiyonel değerlendirmenin birlikte kullanıldığı ve LİPUS tedavisi ile yürüme analizinde

olumlu sonuçların alındığı ilk çalışmadır. Ayrıca tendon onarımı sonrası fonksiyonel iyileşmenin histolojik iyileşme ile korele olduğunu da gösteren ilk çalışmadır. Bu açıdan çalışmamızın özgün olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; dört farklı değerlendirme yönteminin kullanıldığı ilk çalışma olan çalışmamızın sonuçlarına göre, Aşil tendon hasarı sonrası erken dönemde uygulanacak LİPUS tedavisi ile tendon iyileşmesinde olumlu sonuçlar alınabileceği, bu nedenle tendon hasarı sonrası erken dönemde rehabilitasyon programına dahil edilmesinin faydalı olacağı kanaatindeyiz.

6. SONUÇ

Bu çalışmada Aşil tendon hasarı sonrası ratlarda tendon iyileşmesinde LİPUS tedavisinin TGF-β1, kollajen üretimi, histolojik değerlendirme, biyomekanik değerlendirme, yürüme analizi parametreleri üzerindeki etkileri araştırılmış olup aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

1-) LİPUS tedavi grubunda sham US grubuna göre PCR ile ölçülen TGF-β1 düzeyi daha yüksek değerde olduğu halde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,065$).

2-) LİPUS tedavi grubunda sham US grubuna göre PCR ile ölçülen COL3 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

3-) Sham US grubunda LİPUS tedavi grubuna göre PCR ile ölçülen COL1 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

4-) LİPUS tedavi grubunda sham US grubuna göre histolojik analizde Bonar skorlamasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

5-) LİPUS tedavi grubunda sham US grubuna göre biyomekanik değerlendirme parametrelerinden kopma gücünde daha yüksek değerler olduğu halde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,053$).

6-) LİPUS tedavi grubunda sham US grubuna göre yürüme analizinde AFİ'de istatistiksel olarak anlamlı iyileşme saptandı.

7-) AFİ ile değerlendirme parametrelerinin ilişkisi korelasyon analizi ile incelendiğinde AFİ farkı ile kopma gücü, COL1A1 mRNA ekspresyonu, COL3A1 mRNA ekspresyonu ve TGF-β1 mRNA ekspresyonu arasında anlamlı ilişki saptanmazken, Bonar skorlaması ile AFİ farkı arasında anlamlı pozitif korelasyon saptandı.

7. KAYNAKLAR

1. Birch HL. Tendon matrix composition and turnover in relation to functional requirements. *Int J Exp Path* 2007; 88: 241-8.
2. Herod TW, Chambers NC, Veres SP. Collagen fibrils in functionally distinct tendons have differing structural responses to tendon rupture and fatigue loading. *Acta Biomaterialia* 2016; 42: 296-307.
3. Kannus P. Structure of the tendon connective tissue. *Scand J Med Sci Sports* 2000;10: 312-20.
4. Quigley AS, Bancelin S, Deska-Gautier D, Legare F, Kreplak L, Veres SP. In tendons, differing physiological requirements lead to functionally distinct nanostructures. *Sci Rep* 2018; 8: 4409.
5. Sammer DM, Chung KC. Advances in the healing of flexor tendon injuries. *Wound Rep Reg* 2014; 22: 25-9.
6. Butler DL, Juncosa N, Dressler MR. Functional efficacy of tendon repair processes. *Annu Rev Biomed Eng* 2004; 6: 303–29.
7. Yang G, Rothrauff BB, Tuan SS. Tendon and ligament regeneration and repair: clinical relevance and developmental paradigm. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2013; 99: 203–22.
8. Azar FM. Traumatic Disorders. In: Canale ST, ed. *Campbell's Operative Orthopaedics*. 9th Ed. Memphis: Elsevier 2012:1413–28.
9. Buckwalter JA. Healing of the musculoskeletal tissues. In: Rockwood CA, ed. *Fracture in adults*. New York: JB Lippincott Co 1991: 203-32.
10. Maffulli N, Kader D. Tendinopathy of tendo achillis. *J Bone Joint Surg Br* 2002; 84: 1-8.
11. Meier Bürgisser G, Calcagni M, Bachmann E, Fessel G, Snedeker JG, Giovanoli P, et al. Rabbit Achilles tendon full transection model wound healing, adhesion formation and biomechanics at 3, 6 and 12 weeks post-surgery. *Biol Open* 2016; 5: 1324-33.
12. Docheva D, Müller SA, Majewski M, Evans CH. Biologics for tendon repair *Adv Drug Deliv Rev* 2015; 84: 222–39.

13. Frairia R, Berta L. Biological effects of extracorporeal shock waves on fibroblasts. A review. *Muscles Ligaments Tendons J* 2012; 1: 138-47.
14. O'Brien M. Functional anatomy and physiology of tendons. *Clin Sports Med* 1992; 11: 505-20.
15. Maffulli N, Benazzo F. Basic science of tendons. *Sports Med Arthroscopy Rev* 2000; 8: 1-5
16. Chiu DT, Edgerton BW. Repair and grafting of tendon. In: McCarthy JG, ed. *Plastic Surgery*. Philadelphia: WB Saunders 1990:527-32.
17. Riley GP. Gene expression and matrix turnover in overused and damaged tendons. *Scand J Med Sci Sports* 2005;15: 241-51.
18. Johnson DL, Ticker JB. Soft tissue physiology and repair. In: Beaty JH, ed. *Orthopaedic Knowledge Update Home Study Syllabus*, Rosemont IL: AAOS Press 1999; 13-5.
19. Sağol A. Kortikosteroid enjeksiyonu ile oluşturulan rat Aşil tendinozisinde terapotik ultrason kullanımının etkileri: deneysel çalışma. *Uzmanlık Tezi*. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı; 2006.
20. Skinner HB. *Current Ortopedi Güncel Tanı ve Tedavi*. Editör: Alpaslan M. İstanbul: Güneş Kitabevleri, 2005; 12-23.
21. Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *J Bone Joint Surg (Am)* 2005; 87: 187-202.
22. Hyman J, Rodeo SA. Injury and repair of tendons and ligaments. *Phys Med Rehab Clin North Am* 2000; 11: 267-88.
23. Khan RJ, Fick D, Keogh A, Crawford J, Brammar T, Parker M. Treatment of acute Achilles tendon ruptures. A meta-analysis of randomized, controlled trials. *J Bone Joint Surg (Am)* 2005; 87: 2202-10.
24. Cretnik A, Frank A. Incidence and outcome of rupture of the Achilles tendon. *Wien Klin Wochenschr* 2004; 116 Suppl 2: 33-8.
25. Kader D, Saxena A, Movin T, Maffulli N. Achilles tendinopathy. Some aspects of basic science and clinical management. *Br J Sport Med* 2002; 26: 239- 49.

26. Dent CM, Graham GP. Osteogenesis imperfecta and Achilles tendon rupture. *Injury* 1991; 22: 239-40.
27. Leitze Z, Sella EJ, Aversa JM. Endoscopic decompression of the retrocalcaneal space. *J Bone Joint Surg (Am)* 2003; 85-A(8): 1488-96.
28. Tatari H, Gülbahar S, Manisalı M. Aşıl tendinopatisi, *TOTBİD Dergisi* 2005; 4: 77-86.
29. Sargon MF, Ozlu K, Oken F. Age-related changes in human tendo calcaneus collagen fibrils. *Saudi Med J* 2005; 26: 425-28.
30. Kannus P, Jozsa L. Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients. *J Bone Joint Surg Am* 1991; 73: 1507-25.
31. Duffy FJ Jr, Seiler JG, Gelberman RH, Hergrueter CA. Growth factors and canine flexor tendon healing initial studies in uninjured and repair models. *J Hand Surg* 1995; 20: 645-9.
32. Shadwick RE. Elastic energy storage in tendons: mechanical differences related to function and age. *J Appl Physiol* 1990; 68: 1033-40.
33. Bhandari M, Guyatt GH, Siddiqui F, Morrow F, Busse J, Leighton RK, et al. Treatment of acute Achilles tendon ruptures: a systematic overview and meta analysis. *Clin Orthop Relat Res* 2002; 400: 190-200.
34. Alim MA, Ackermann PW, Eliasson P, Blomgran P, Kristiansson P, Pejler G, et al. Increased mast cell degranulation and co-localization of mast cells with the NMDA receptor-1 during healing after Achilles tendon rupture. *Cell Tissue Res* 2017; 370: 451-60.
35. Koval KJ. Soft-Tissue Physiology and Repair. In: *Orthopaedic Knowledge Update 7*. Rosemont 2002: 3-18.
36. Thomopoulos S, Parks WC, Rifkin DB, Derwin KA. Mechanism of tendon injury and repair. *J Orthop Res* 2015; 33: 832- 9.
37. Halici M, Karaoğlu S, Canoz O, Kabak S, Baktir A. Sodium hyaluronate regulating angiogenesis during Achilles tendon healing. *Knee Surg Sports Travmatol Arthrosc* 2004; 12: 562-7.

38. Tsubone T, Moran SL, Subramaniam M, Amadio PC, Spelsberg TC, An KN. Effect of TGF- β inducible early gene deficiency on flexor tendon healing. *J Orthop Res* 2006; 24: 569-75.
39. Chang J, Thunder R, Most D, Longaker MT, Lineaweaver WC. Studies in flexor tendon wound healing: neutralizing antibody to TGF-beta1 increases postoperative range of motion. *Plast Reconstr Surg* 2000; 105: 148-55.
40. Klein MB, Yalamanchi N, Pham H, Longaker MT, Chang J. Flexor tendon healing in vitro: effects of TGF-beta on tendon cell collagen production. *J Hand Surg Am* 2002; 27: 6156-220.
41. Majewski M, Heisterbach P, Jaquíery C, Dürselen L, Todorov A, Martin I, Evans CH, et al. Improved tendon healing using bFGF, BMP-12 and TGF β 1 in a rat model. *Eur Cell Mater* 2018; 35: 318-34.
42. Poniatowski AA, Wojdasiewicz P, Gasik R, Szukiewicz D. Transforming growth factor beta family: Insight into the role of growth factors in regulation of fracture healing biology and potential clinical applications. *Mediators Inflamm* 2015; 2015:137823.
43. Heisterbach PE, Todorov A, Flückiger R, Evans CH, Majewski M. Effect of BMP-12, TGF- β 1 and autologous conditioned serum on growth factor expression in Achilles tendon healing. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2012; 20: 1907-14.
44. Farhat YM, Al-Maliki AA, Chen T, Juneja SC, Schwarz EM, O'Keefe RJ, et al. Gene expression analysis of the pleiotropic effects of TGF- β 1 in an in vitro model of flexor tendon healing. *PLoS One* 2012; 7: e51411.
45. Chen Q, Lu H, Yang H. Chitosan inhibits fibroblasts growth in Achilles tendon via TGF- β 1/Smad3 pathway by miR-29b. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 8462-70.
46. Zhang C, Liu YJ. Biomechanic and histologic analysis of fibroblastic effects of tendon-to-bone healing by transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) in rotator cuff tears. *Acta Cir Bras* 2017; 32:1054-55.

47. Seabaugh KA, Thoresen M, Giguère S. Extracorporeal shockwave therapy increases growth factor release from equine platelet-rich plasma in vitro. *Front Vet Sci* 2017; 4: 205.
48. Kang SH, Choi MS, Kim HK, Kim WS, Bae TH, Kim MK, Chang SH. Polydeoxyribonucleotide improves tendon healing following Achilles tendon injury in rats. *J Orthop Res* 2018; 36: 1767-76.
49. O'Brien M. The anatomy of Achilles tendon. *Foot Ankle Clin.* 2005; 10: 225-38.
50. Anagnostopoulou S, Mavridis I. Achilles' death: anatomical considerations regarding the most famous trauma of the Trojan War. *J Trauma Acute Care Surg* 2013;7 4: 946-47.
51. Cetti R, Christensen SE, Ejsted R, Jensen NM, Jorgensen U. Operative versus nonoperative treatment of Achilles tendon rupture. A prospective randomized study and review of the literature. *Am J Sports Med* 1993; 21: 791-99.
52. Mafulli N. Rupture of Achilles tendon. *J Bone Joint Surg* 1999; 81: 1019-35.
53. Sorosky B, Pree J, Plastaras C, Rittenberg J. The practical management of Achilles Tendinopathy. *Clin J Sports Med* 2004; 14: 40–4.
54. Svensson RB, Mulder H, Kovanen V, Magnusson SP. Fracture mechanics of collagen fibrils: influence of natural cross-links. *Biophys J* 2013; 104:2476-84.
55. Wong KF, Metcalfe AD, Wong R, Bush J, Platt C, Garcon A, Goldspink N, McGrouther DA, Ferguson MWJ. Reduction of tendon adhesions following administration of Adaprev, a hypertonic solution of mannose-6-phosphate: mechanism of action studies. *PLoS One* 2014; 9: e112672.
56. Curzi D, Salucci S, Marini M, Esposito F, Agnello L, Veicsteinas A, et al. How physical exercise changes rat myotendinous junctions: an ultrastructural study. *Eur J Histochem* 2012; 56: e19.
57. Astrom M, Westin N. Blood flow in the human Achilles tendon assessed by Laser Doppler flowmetry. *J Orthop Res* 1999; 12: 246-52.
58. Mayer L. The physiological method of tendon transplantation. *Sur Gynec Obstet* 1996; 22: 182-97.

59. Benjamin M, Theobald P. Achilles tendon anatomy. London: Springer Verlag, 2007; 5-16.
60. Hughes T, Rochester P. The effects of proprioceptive exercise and taping on proprioception in subjects with functional ankle instability: a review of the literature. *Phys Ther Sport* 2008; 9: 136-47.
61. Jarvinen TA, Kannus P, Maffulli N, Khan KM: Achilles tendon disorders: Etiology and epidemiology. *Foot Ankle Clin* 2005;10: 255-66.
62. Holmes GB, Lin J. Etiologic factors associated with symptomatic Achilles tendinopathy. *Foot Ankle Int* 2006; 7: 952-59.
63. Mühür H. Alt ekstremite kineziyolojisi ve yürüme. In: OĖuz H. ed. *Tıbbi Rehabilitasyon*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 2015:130-5.
64. Komi PV, Fukashiro S, Jarvinen M. Biomechanical loading of Achilles tendon during normal locomotion. *Clin Sports Med* 1992;11: 521-31.
65. Soma CA, Mandelbaum BR. Achilles tendon disorders. *Clin Sports Med* 1994; 13: 811-23.
66. Doral MN, Donmez G, Kaya G, Atay OA, Turhan E, Demirel M. Aşıl tendinopatisi: Sporcularda tendon sorunları. *TOTBİD yayımı* 2011: 57.
67. Weber DC, Hope KM. Physical Agent Modalities. In: Braddom RL, Buschbacher RM, Chan L, Kowalske KJ, Laskowski ER, Matthews DJ et al, eds. *Physical Medicine and Rehabilitation*. W.B.Saunders Company 2007: 459-77.
68. Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *Phys Ther* 2001; 81: 1351-58.
69. Leung MC, Ng GY, Yip KK. Effect of ultrasound on acute inflammation of transected medial collateral ligaments. *Arch Phys Med Rehabil* 2004; 85: 963-6.
70. Yakut E, Dalkılınç M, Kaya D. Ultrason. In: Yakut E, editor. *Kanıtı Dayalı Elektroterapi*. Ankara: Feryal Matbaacılık, 2008: 181-213.

71. Karamehmetođlu SS. Derin ısıtıcılar. In: Sarı H, Tüzün S, Akgün K, eds. Hareket Sistemi Hastalıklarında Fiziksel Tıp Yöntemleri. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 2002: 51-60.
72. Perret DM, Rim J, Cristian A. A geriatrician's guide to the use of the physical modalities in the treatment of pain and dysfunction. Clin Geriatr Med 2006; 22: 331-54.
73. Watson T, Young SR. Therapeutic ultrasound In: Watson T, editor. Electrotherapy Evidence-Based Practice. China: Elsevier Ltd, 2008: 179-201.
74. Denegar CR, Saliba E, Saliba S. Therapeutic modalities for musculoskeletal injuries, (3rd Ed.). U.S.A: Human Kinetics, 2010: 173-91.
75. Kozanođlu E, Bařaran S, Güzel R, Güler-Uysal F. Short term efficacy of ibuprofen phonophoresis versus continuous ultrasound therapy in knee osteoarthritis. Swiss Med Wkly 2003; 133: 333-8.
76. Tuna N, Elektroterapi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2001:93-140.
77. Kahn J: Physical agents: Electrical, sonic, radiant modalities. Physical Therapy Intervention, Baltimore USA 1992:346-58
78. Dyson M, Pond JB. The effect of pulsed ultrasound on tissue regeneration. Physiotherapy 1970; 56: 136-42.
79. Wilder RP, Jenkins J, Seto C. Treatment techniques and special equipment. In: Braddom RL, editor. Physical Medicine & Rehabilitation (3th ed). Philadelphia: Saunders Elsevier Inc, 2007: 413–36.
80. Balmaseda MT, Fatehi MT, Koozekanani SH, Lee AL. Ultrasound therapy: A comparative study of different coupling media. Arch Phys Med Rehabil 1986; 67: 147-50.
81. Warren CG, Koblanski JN, Sigelmann RA. Ultrasound coupling media: Their relative transmissivity. Arch Phys Med Rehabil 1978; 57: 218-22.
82. Lu H, Qin L, Cheung W, Lee K, Wong W, Leung K. Low-intensity pulsed ultrasound accelerated bone-tendon junction healing through regulation of vascular endothelial growth factor expression and cartilage formation. Ultrasound Med Biol 2008; 34: 1248-60.

83. Doan N, Reher P, Meghji S, Harris M. In vitro effects of therapeutic ultrasound on cell proliferation, protein synthesis, and cytokine production by human fibroblasts, osteoblasts, and monocytes. *J Oral Maxillofac Surg* 1999; 57:409-19.
84. Zhang ZJ, Huckle J, Francomano CA, Spencer RG. The influence of pulsed low-intensity ultrasound on matrix production of chondrocytes at different stages of differentiation: an explant study. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28: 1547-53.
85. Gan BS, Huys S, Sherebrin MH, Scilley CG. The effects of ultrasound treatment on flexor tendon healing in the chicken limb. *J Hand Surg Br* 1995; 20: 809-14.
86. Nyborg WL. Biological effects of ultrasound: development of safety guidelines. Part II: general review. *Ultrasound Med Biol* 2001; 27: 301-33.
87. Fu SC, Cheuk YC, Chan KM, Hung LK, Wong MW. Is cultured tendon fibroblast a good model to study tendon healing? *J Orthop Res* 2008; 26: 374-83.
88. Robbins JR, Evanko SR, Vogel KG. Mechanical loading and TGF-beta regulate proteoglycan synthesis in tendon. *Arch Biochem Biophys* 1997; 342: 203-11
89. Fu SC, Hung LK, Shum WT, Lee yW, Chan LS, Ho G, et al. In vivo low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) following tendon injury promotes repair during granulation but suppresses decorin and biglycan expression during remodeling. *J Orthop Sports Phys Med Ther* 2010; 40: 422-29.
90. Fu SC, Shum WT, Hung LK, Wong MWN, Qin L, Chan KM. Low-intensity pulsed ultrasound on tendon healing. A study of the effect of treatment duration and treatment initiation. *Am J Sport Med* 2008; 36: 1742-49.
91. Enwemeka CS, Rodriguez O, Mendosa S. The biomechanical effects of low-intensity ultrasound on healing tendons. *Ultrasound Med Biol* 1990; 16: 801-7.
92. Dabak TK, Sertkaya, O, Acar N, Donmez BO, Ustunel I. The effect of phospholipids (surfactant) on adhesion and biomechanical properties of

- tendon: a rat Achilles tendon repair model. *Bio Med Res Int* 2015; 2015: 689314.
93. Júnior SLJ, Camanho GL, Bassit ACF, Forgas A, Ingham SJ, Abdalla RJ. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates healing in rat calcaneus tendon injuries. *J Orthop Sport Phys Med Ther* 2011; 41: 526-31.
 94. Da Cunha A, Parizotto NA, de Campos Vidal B. The effect of therapeutic ultrasound on repair of the Achilles tendon (tendo calcaneus) of the rat. *Ultrasound Med Bio* 2001;27: 1691-96.
 95. Ng GY, Fung DT. The effect of therapeutic ultrasound intensity on the ultrastructural morphology of tendon repair. *Ultrasound Med Bio* 2007; 33: 1750-54.
 96. Farcic TS, Baldan CS, Cattapan CG, Parizotto NA, João S, Casarotto RA. Treatment time of ultrasound therapy interferes with the organization of collagen fibers in rat tendons. *Braz J Phys Ther* 2013;17: 263-71.
 97. Çınar BM, Cırcı E, Balçık C, Güven G, Akpınar S, Derincek A. The effects of extracorporeal shock waves on carrageenan-induced Achilles tendinitis in rats: a biomechanical and histological analysis. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2012;47: 266-72.
 98. Liang JI, Chen MY, Hsieh TH, Liu CY, Lam CF, Chen JJJ, et al. Video-based gait analysis for functional evaluation of healing Achilles tendon in rats. *Annals of biomedical engineering* 2012; 40: 2532-40.
 99. Murrell GA, Lilly EG, Davies H, Best TM, Goldner RD, Seaber AV. The Achilles functional index. *J Orthop Res* 1992;10:398-404.
 100. Tsai WC, Pang JH, Hsu CC, Chu NK, Lin MS, Hu CF. Ultrasound stimulation of types I and III collagen expression of tendon cell and upregulation of Transforming Growth Factor β . *J Orthop Res* 2006; 24:1310-16.
 101. Yeung CK, Guo X, Ng YF. Pulsed ultrasound treatment accelerates the repair of Achilles tendon rupture in rats. *J Orthop Res* 2006; 24:193-201.
 102. Ng CO, Ng GY, See EK, Leung MC. Therapeutic ultrasound improves strenght of Achilles tendon repair in rats. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29:1501-06.

103. Ng GY, Ng CO, See EK. Comparison of therapeutic ultrasound and exercises for augmenting tendon healing in rats. *Ultrasound Med Biol* 2004; 30:1539-43.
104. Wood VT, Pinfildi CE, Neves MAI, Parizoto NA, Hochman B, Ferreira LM. Collagen changes and realignment induced by Low-Level Laser Therapy and Low-Intensity Ultrasound in the calcaneal tendon. *Lasers Surg Med* 2010; 42:559-65.
105. Demir H, Menku P, Kirnap M, Calis M, İkizceli İ. Comparison of the effects of laser, ultrasound, and combined laser+ultrasound treatments in experimental tendon healing. *Lasers Surg Med* 2004; 35:84-9.

