



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**TAM KAT ROTATOR MANŞET YIRTIĞI TAMİRİNDE
TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (PRF) VE KONSANTRE
BÜYÜME FAKTÖRÜ'NÜN (CGF) ETKİSİNİN
BİYOMEKANİK, HİSTOLOJİK VE ANATOMİK OLARAK
İNCELENMESİ**

MERT ÇELİKTEN

ANATOMİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. BAYRAM UFUK ŞAKUL

İKİNCİ DANIŞMAN

Prof. Dr. İSMAİL KEREM BİLSEL

İSTANBUL – 2023

TEZ ONAY FORMU

Kurum : İstanbul Medipol Üniversitesi
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans () Doktora (X)
Anabilim Dalı : Anatomi Anabilim Dalı Klinik Anatomi
Tez Sahibi : Mert ÇELİKTEN
Tez Başlığı : Tam kat rotator manşet yırtığı tamirinde trombositten zengin fibrin (PRF) ve konsantre büyüme faktörü' nün (CGF) etkisinin biyomekanik, histolojik ve anatomik olarak incelenmesi
Sınav Yeri : İstanbul Medipol Üniversitesi Güney Yerleşkesi
Sınav Tarihi : 09.01.2023

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve nitelik yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

<u>Danışman</u>	<u>Kurumu</u>	<u>İmza</u>
Prof.Dr. Bayram Ufuk ŞAKUL	İstanbul Medipol Üniversitesi	
<u>Sınav Jüri Üyeleri</u>		
Prof.Dr. Alper ATASEVER	İstanbul Medipol Üniversitesi	
Doç.Dr. Neslihan YÜZBAŞIOĞLU	İstanbul Medipol Üniversitesi	
Doç.Dr. İsmail Kerem BİLSEL	Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi	
Doç.Dr. Gözde ERKANLI ŞENTÜRK	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa	

Yukarıdaki jüri kararıyla kabul edilen bu Doktora Tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../ tarih ve/..... - sayılı kararı ile şekil yönünden Tez Yazım Kılavuzuna uygun olduğu onaylanmıştır.

Prof.Dr. Neslin EMEKLİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurullar içerisinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Mert ÇELİKTEN

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanmasında, hayata geçmesinde ve neticelenmesinde bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli danışman hocalarım, Prof. Dr. Bayram Ufuk ŞAKUL ve Prof. Dr. İsmail Kerem BİLSEL'e,

Doktora eğitimim süresince bana karşı göstermiş oldukları anlayış, hoşgörü ve desteklerinden dolayı Sn. Prof. Dr. Alper ATASEVER'e, Sn. Doç. Dr. Neslihan YÜZBAŞIOĞLU'na ve Anatomi Anabilim Dalı'nda görev yapan tüm arkadaşlarıma,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sekreteri Göknil ERBATU ÇELİK ve tüm enstitü personeline,

Çalışmamın son haline gelmesindeki önemli katkıları için Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Güzde ERKANLI ŞENTÜRK'e ve Hakan ŞAHİN'e,

Ortopedi ve Travmatoloji bölümünden Dr. Anıl PULATKAN'a ve Dr. Muzaffer AĞIR'a,

Başta eşim Sabiha Begüm ÇELİKTEN olmak üzere bu uzun yolculukta bana olan inançlarını hiç eksiltmeden her daim yanımda olan aileme,
Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY FORMU	i
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
RESİMLER LİSTESİ.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT.....	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER.....	9
4.1 Rotator Manşet Embriyolojisi, Anatomisi ve Biyomekaniği.....	9
4.1.1 Rotator manşet embriyolojisi	9
4.1.2 Rotator manşet (omuz ekleminin musculetendinöz kılıfı) anatomisi	10
4.1.3 Rotator manşet biyomekaniği	12
4.2 Rotator Manşet Yırtıklarının Patofizyolojisi.....	15
4.2.1 Ekstrinsik mekanizma	15
4.2.2 İntrinsik mekanizma.....	17
4.3 Rotator Manşet Yırtıklarının Sınıflandırılması	19
4.3.1 Parsiyel yırtıklar	20
4.3.2 Tam kat yırtıklar.....	21
4.3.3 Yırtığın şekline göre sınıflandırma	21
4.3.4 Etiyolojisine göre rotator manşet yırtıkları	25
4.3.5 Büyüklüğüne göre rotator manşet yırtıkları	25
4.3.6 Oluş zamanına göre rotator manşet yırtıkları.....	25
4.3.7 Yırtığa katılan tendon sayısına göre.....	25

4.3.8 Topografik ve patolojik sınıflama.....	26
5. MATERYAL VE METOT	28
5.1 Deney Hayvanları ve Gruplandırma	28
5.2 Anestezi ve Cerrahi İşlem	30
5.3 PRF ve CGF Elde Edilmesi ve Uygulanması	37
5.3.1 PRF elde edilmesi ve uygulanması	37
5.3.2 CGF elde edilmesi ve uygulanması	37
5.4 Sakrifikasyon ve Dokuların Eldesi	38
5.5 Histolojik Değerlendirme.....	39
5.5.1 Histokimyasal boyamalar.....	39
5.5.2 İmmünohistokimyasal boyamalar	41
5.6 Biyomekanik Değerlendirme	42
5.7 İstatistiksel Analiz.....	42
6. BULGULAR	43
6.1 Histolojik Bulgular.....	43
6.1.1 Hematoksilen&Eozin ve Mason'un üçlü boyaması.....	43
6.1.2 Kİ-67 immunohistokimya bulguları.....	50
6.1.3 CD34 immünohistokimya bulguları.....	50
6.1.4 CD31 immünohistokimya bulguları.....	52
6.1.5 TUNEL bulguları	52
6.2 Biyomekanik Bulgular	54
7. TARTIŞMA	55
8. SONUÇ.....	63
9. KAYNAKLAR	65
10. ETİK KURUL ONAYI.....	79
11. ÖZGEÇMİŞ.....	80

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

CGF: Konsantre büyüme faktörü

bFGF: Fibroblastik büyüme faktörü

DAB: Diaminobenzidine

FFPE: Formalin-fixed parafin (formalin ile sabitlenmiş parafin)

H&E: Hematoksilen ve eozin

IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü

PRP: Plateletten zengin plasma

PRF: Plateletten zengin fibrin

SSC: Subscapularis

TGF- β : Transforming büyüme faktörü- β

TdT: Terminal deoksinükleotidil transferaz

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4.1. Üst ekstremité tomurcuğunun embriyolojik gelişimi (44).....	10
Şekil 4.2. Rotator manşet kasları	12
Şekil 4.3. Omuz ekleminde tork, moment kolu ve hareket merkezinin gösterimi.....	13
Şekil 4.4. Rotator manşet kaslarının omuz eklem stabilitesine etkisi.....	14
Şekil 4.5. Bigliani ve arkadaşlarının tanımladıkları acromion tipleri (67)	16
Şekil 4.6. Mikrotravma modeline göre yırtıklar	19
Şekil 4.7. Habermeyer ve arkadaşlarına göre, transvers plandaki parsiyel yırtıklarının sınıflandırılması (82).....	21
Şekil 4.8. Rotator manşet tendonlarının çalışma şekli ve traksiyon yönleri.....	22
Şekil 4.9. Supraspinatus insesiyosunda transvers lineer yırtık (a), hilal şeklinde yırtık (b) (80)	23
Şekil 4.10. L-şeklinde şeklinde yırtık (a), ters L-şeklinde yırtıklar (b) (80).....	24
Şekil 4.11. Dörtgen yırtıklar, supraspinatus ve infraspinatus uzantıları olan retrakte transvers yırtıklardır (a); dörtgen masif yırtıklarda, teres minor veya subscapularis tendonları da yırtığa katılır (b) (80)	24
Şekil 5.1. Deney hayvanlarını gruplandırma ve uygulanan işlemler	29
Şekil 6.1. Büyük çaplı lifler dağılımı. * = $p<0,05$, **= $p<0,01$	43
Şekil 6.2. Paralel dizilimli hücreler dağılımı. * = $p<0,05$, **= $p<0,01$	44
Şekil 6.3. Paralel dizilimli liflerin dağılımı. * = $p<0,05$, **= $p<0,01$	44
Şekil 6.4. Vaskülarite düzeylerinin değerlendirmesi. **= $p<0,01$	45
Şekil 6.5. Sellülarite düzeylerinin değerlendirilmesi. * = $p<0,05$, **= $p<0,01$	46
Şekil 6.6. Tendon kemik geçişi (1). **= $p<0,01$	46
Şekil 6.7. Tendon kemik geçişi (2). **= $p<0,01$	47
Şekil 6.8. Fibrosit düzeylerinin değerlendirilmesi.....	48
Şekil 6.9. Modifiye Watkins skoru'nun dağılımı. * = $p<0,05$, **= $p<0,01$	48
Şekil 6.10. Sağlıklı kontrol grubundan alınmış temsili Hematoksilen&eosin (a) ve Mason'un üçlü boyaması (b) yapılmış doku görüntüleri. Ölçek 200 μ m.	49
Şekil 6.11. Tamir grubundan alınmış temsili Hematoksilen&eosin (c) ve Mason'un üçlü boyaması (d) yapılmış doku görüntüleri. Ölçek 200 μ m.	49
Şekil 6.12. Tamir+PRF grubundan alınmış temsili Hematoksilen&eosin (e) ve Mason'un üçlü boyaması (f) yapılmış doku görüntüleri. Ölçek 200 μ m.....	49

Şekil 6.13. Tamir+CGF grubundan alınmış temsili Hematoksilen&eozin (g) ve Mason'un üçlü boyaması (h) yapılmış doku görüntüleri. Ölçek 200 µm.	50
Şekil 6.14. Ki67-Sağlıklı kontrol (A), Tamir (B), Tamir+PRF (C) ve Tamir+CGF (D) gruplarında immünpozitif hücreler. Ölçek 50 µm.	51
Şekil 6.15. CD34-Sağlıklı kontrol (A), Tamir (B), Tamir+PRF (C) ve Tamir+CGF (D) gruplarında immünpozitif hücreler. Ölçek 200 µm.	51
Şekil 6.16. CD31-Sağlıklı kontrol (A), tamir (B), tamir+PRF (C) ve tamir+CGF (D) gruplarında immünpozitif hücreler. Ölçek 50 µm.	52
Şekil 6.17. TUNEL: Sağlıklı kontrol (A), tamir (B), tamir+PRF (C) ve tamir+CGF (D) gruplarında TUNEL pozitif hücreler (ok) gözlenmektedir. Ölçek: 50 µm.	53
Şekil 6.18. TUNEL pozitif hücreler (%). ** = p<0,01	53
Şekil 6.19. <i>Failure Load (Kopma kuvveti)</i> verilerinin karşılaştırılması	54

RESİMLER LİSTESİ

Resim 5.1. Asepsi kurallarına uygun olarak cerrahi bölgenin lokal hazırlığı	30
Resim 5.2. Eklem bölgesinde 2 cm'lik vertikal cilt insizyonu	31
Resim 5.3. Cilt ve cilt altı fasya geçildikten sonra deltoid kasa ulaşım	32
Resim 5.4. Deltoid kası geçildikten sonra subscapularis kası ve tendon bağlantısı ..	32
Resim 5.5. Subscapularis kası ekleme tutunma bölgesinden tam kat kesilerek serbestlenmesi	33
Resim 5.6. Subscapularis tendonunun kesilmiş hali.....	33
Resim 5.7. Çevre dokulara yapışmaması için tendonun serbest ucu penroz dren ile tespit edildi	34
Resim 5.8. Penroz drenin sabitlenmesi.....	34
Resim 5.9. Deltoid kası ve fasya kapatıldı	35
Resim 5.10. Cilt 3-0 kalıcı Prolene suture ile kapatıldı (Ethicon)	35
Resim 5.11. Subscapularis tam kat yırtığının transosseöz tekniği ile primer tamiri .	36
Resim 5.12. Santrifüj işlemi sonrası CGF'nin ayrılması.....	38

TABLolar LİSTESİ

Tablo 4.1. Elmann tam kat yırtık şekillerine göre sınıflaması (80).....	23
Tablo 4.2. Harryman'ın sınıflandırması (81)	26
Tablo 4.3. Patolojik sınıflandırma (84)	26
Tablo 4.4. Yırtığın sagittal plandaki topografisi	27
Tablo 4.5. Yırtığın frontal plandaki topografisi	27
Tablo 5.1. Modifiye Watkins skorlaması (89-91)	40



1. ÖZET

TAM KAT ROTATOR MANŞET YIRTIĞI TAMİRİNDE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (PRF) VE KONSANTRE BÜYÜME FAKTÖRÜ'NÜN (CGF) ETKİSİNİN BİYOMEKANİK, HİSTOLOJİK VE ANATOMİK OLARAK İNCELENMESİ

Rotator manşet kaslarında cerrahi tedavi sonrası nükslerin meydana gelmesindeki temel nedenin tendondaki orijinal doku yapısının bozulması ve böylelikle yaralanmaya daha açık hale gelmesinin olduğu düşünülmektedir. Doku rejenerasyonu sürecinde büyüme faktörleri; hücre göçü, hücre çoğalması ve anjiyogenez üzerinde kritik öneme sahiptir. PRF, PRP ve CGF kandan elde edilen ve büyüme faktörlerinden zengin ara maddelerdir. Yapılan çalışmalar özellikle PRF'nin etkinliğini ortaya koymaktadır. Ancak bazı çalışmaların sonuçları birbirleri ile çelişmektedir. Biz çalışmamızda bu alanda daha önce çalışılmamış CGF ile PRF'yi kıyaslayarak etkinliğini belirlemeyi ve literatüre CGF'nin rotator manşet yırtığı tamirine olan etkisi hakkında katkı sağlayarak yeni bir tedavi yaklaşımı ortaya koymayı amaçladık. Bu amaçla anestezi altında 21 adet yetişkin Yeni Zelanda cinsi tavşanın her iki omuz bölgesinde m. subscapularis tendonu tanımlandı ve tam kat rotator manşet yırtığı oluşturuldu. 8 hafta sonra tavşanların her iki omuzu transosseöz yöntemle dikilerek tamir edildi. PRF ve CGF'nin tamir üzerindeki etkinliğini tespit etmek amacıyla bir gruba tamirin yanı sıra PRF, diğer bir gruba da tamirin yanı sıra CGF uygulandı. Tedavinin tamamlanmasından 8 hafta sonra dokular alınarak biyomekanik ölçümler ve histolojik değerlendirmeler yapıldı. Histolojik olarak bakıldığında Watkins skorlamasına göre CGF ve PRF alan tavşanların sadece tamir grubuna oranla sağlıklı kontrol grubu değerlerine daha yakın değerler gösterdiği özellikle PRF alan tavşanlarda anlamlı derecede iyileşmenin olduğu kaydedildi. Biyomekanik açıdan yapılan değerlendirmede gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Hücre yıkımını azaltması ve tedaviye olumlu yönde etki göstermesi nedeniyle tamirle birlikte CGF'nin, PRF'ye alternatif olabilmesi açısından umut vaat ettiği görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: CGF, M. subscapularis, PRF, Rotator manşet, Transosseöz

Araştırma projemiz (Proje no: 20200908) Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi BAP birimi ve Medipol Üniversitesi BAP birimi (Proje No: 2021-12) tarafından desteklenmiştir.

2. ABSTRACT

BIOMECHANIC, HISTOLOGICAL AND ANATOMICAL INVESTIGATION OF THE EFFECT OF THROMBOCYTE-RICH FIBRIN (PRF) AND CONCENTRATED GROWTH FACTOR (CGF) ON FULL-THICKNESS ROTATOR CUFF REPAIR

It is thought that the main reason for recurrence after surgical treatment in the rotator cuff muscles is the deterioration of the original tissue structure in the tendon, thus making it more vulnerable to injury. Growth factors have a critical role on cell migration, cell proliferation and angiogenesis in the tissue regeneration process. PRF, PRP and CGF are blood-derived intermediates rich in growth factors. Studies show the effectiveness of PRF in particular. However, the results of some studies contradict each other. Therefore, in the present study, we aimed to investigate the effectiveness of CGF, which has an unknown effect in tendon-bone repair, compared to PRF, whose effects on tendon-bone repair is well established, and to provide knowledge to the literature related to the effectiveness of CGF in the repair of rotator cuff lesions as a new treatment strategy. For this purpose, m. subscapularis tendon was defined in both shoulder regions of 21 adult New Zealand rabbits under anesthesia and a full-thickness rotator cuff tear was created. After 8 weeks, both shoulders of the rabbits were repaired by suturing with the transosseous method. In order to determine the effectiveness of growth factors on repair, PRF and CGF were applied to two separate groups along with the repair. 8 weeks after the completion of the treatment tissues were collected for biomechanical measurements and histological evaluations. Histologically, it was noted that compared to the repair group only, rabbits receiving CGF and PRF showed values closer to the healthy control group values, according to the Watkins scoring system. In the evaluation made in terms of biomechanics, no statistical difference was found among the groups. It seems to be promising in terms of being an alternative to PRF with repair, since it reduces cell destruction and has a positive effect on treatment.

Key Words: CGF, M. subscapularis, PRF, Rotator cuff, Transosseous

Our research project (Project No: 20200908) was supported by the BAP unit of Bezmiâlem Vakıf University and the BAP unit of Medipol University (Project No: 2021-12).

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Omuz ağrısı lokomotor sisteme ilişkin klinik olgular değerlendirildiğinde görülme sıklığı açısından üçüncü sıradadır ve erişkinlerin %7-26'sında görülür. İnstabilite, rotator manşet hasarları, donuk omuz ve osteoartrit gibi klinik olgular omuz ağrısına yol açan başlıca sebeplerdir. Klinik vakaların %65-70'inde rotator manşet yırtığı görülür ve yaş ile birlikte görülme sıklığı da artış gösterir. Tam kat rotator manşet yırtıkları, ileri yaş grubundaki bazı hastalarda asemptomatik olabilir ve > 70 yaşındaki bireylerin %50'sinden fazlasında rotator manşet yırtıkları görülür (1-3). Rotator manşet yaralanmaları, bir tarafta rotator manşet enflamasyonu ve diğer tarafta ise bir veya daha fazla tendon kılıfının tam kalınlıkta yırtılması gibi çok çeşitli patolojik değişikliklerden oluşmaktadır (3). Rotator manşet kasları ve dış omuz kasları, özel rotasyon hareketleri gerçekleştirecek şekilde omuz çevresinde yer almaktadır. Rotator manşet yırtıkları mevcut iç dengeyi bozmaktadır. Rotator manşet yırtığının hangi mekanizma ile geliştiği tam olarak ortaya konmamış olsa da, genel kabul gören teori, akut travmadan sonra veya kronik tekrarlayan travma temelinde geliştiği yönündedir (4). Rotator manşet yırtıklarını tedavi etme seçenekleri arasında konservatif ve cerrahi yaklaşımlar yer alır. Tam kat yırtıklarda cerrahi yaygın olarak tercih edilmesine rağmen, yapılan çalışmalar sonucu konservatif tedavi ile de başarılı sonuçlar bildirilmiştir (5, 6). Tam kat rotator manşet yırtıkları primer tamir edilebildikleri halde re-rüptür oranları yüksek olması sebebiyle ek yöntemlere başvurma gereksinimi artmıştır.

Tam kat rotator manşet yırtıklarında son 20 yıldaki gelişmelere rağmen tedavi sonrası yırtılma oranı halen kabul edilemez şekilde yüksektir. Özellikle atravmatik yırtılmalara olan başarısıyla bilinen fizik tedavi sıklıkla bu hastalarda kullanılmaktadır. Ancak yırtılmaları iyileştirme etkisi bulunmayan bu tedavi yönteminin beraberinde getireceği bazı sorunlar da tartışma konusu olabilmektedir. Kayda değer derecede başarılı olan ve açık ameliyattan daha az kesiler ile cerrahi işleme olanak sağlayan atroskopi yönteminin ise rotator manşet tamirine yönelik önemli iyileşmelere katkı sağladığı ve bu açıdan klinikte tercih edildiği bilinmektedir. Ayrıca cerrahi işlemin fizik tedavi gibi diğer invaziv olmayan yöntemlere göre daha hızlı bir tedavi seçeneği olması klinisyenler ve hastalar tarafından göz önüne

alınabilmektedir (7, 8). Bunun yanı sıra Piper ve arkadaşları (8) yaptığı meta-analiz çalışmasında tam kat rotator manşet yırtığı tamirinde kullanılan cerrahi tedavilerin, cerrahi olmayanlara göre hastalarda hem özel hem de nesnel olarak daha olumlu çıktılarını elde edildiğini göstermiştir. Ayrıca rotator manşet tamirinde, tamire ilave olarak acromiona mikrokirik yapılabilmek için kök hücrelerden kemik dışına çıkması stimüle edilebileceği gibi yağ kökenli dokudan da büyüme faktörlerinin katkısının sağlanabileceği gösterilmiştir. Bununla beraber farklı büyüme faktörleri, skafolter ve kök hücre çalışmaları manşet tamirinin daha uzun vadede etkili olması ve tekrarlanma riskinin azaltılması sebebiyle literatürde öne çıkan araştırma alanlarıdır (9). Bu bilgiler göz önüne alındığında tam kat rotator manşet yırtığı tamirinde cerrahi işlemlerin daha da geliştirilmesi ile kısa sürede ve uzun vadeli olumlu sonuç alınabilecek yeni yöntemler araştırılması bu hastalıktan muzdarip insanlara önemli derecede refah sağlayabilecektir.

Rotator manşet patolojisinin daha iyi anlaşılması ve buna yönelik tedavi rejimlerinin geliştirilmesi için öncelikle bu yapıyı oluşturan tendon dokunun iyi anlaşılması gereklidir (10). Histolojik olarak düzenli sıkı bağ dokusundan oluşan tendon, kas ile kemiği birbirine bağlayan doku olarak bilinmektedir. Özellikle yoğun miktarda tip I ve tip III kolajen bulunduran bu dokunun ekstraselüler komponentlerinin devamlılığının sağlanması, tendonun farklı bölümlerinde lokalize olmuş tenosit ve interfaziküler hücreler ile sağlanmaktadır. Kolajen fibrillerin oluşturduğu fasiküllerin arasında bulunan tenositlerin mikroskobik altındaki morfolojileri uzunlaşmış şekilde görülür ve kompleks sitoplazmik ağ kurdukları bilinir. İnterfaziküler hücreler ise fibroblast, projenitör ve vasküler hücreleri içeren heterojen popülasyonu kapsamaktadır ve interfaziküler matriks (endotenon)'de bulunur (11). Tendonda vasküleritenin ve hücre popülasyonlarının diğer doku tiplerine görece az olması nedeniyle, tendon yaraları iyileşirken düzensiz ve aşırı ekstraselüler matriks sentezi sonucunda yapının orijinal halinden uzaklaştığı görülmektedir. Bunun sonucu oluşan skar dokunun, tendonda bir takım stabiliteyi sağlamanın yanı sıra mekanik olarak bazı fonksiyonlarının da zayıflamasına sebep olmaktadır. Bundan dolayı rotator manşet yırtılmalarında iyileşme sonrası yırtılmanın yüksek oranda tekrar etmesinin nedeni, tendonun orijinal doku yapısından uzaklaşması sonucu yaralanmaya daha açık hale gelmesinden kaynaklanmaktadır.

Tendonun iyileşme sürecinde ise sırasıyla inflamatuvar faz, proliferatif faz ve yeniden modellenme fazından bahsedilmektedir. İyileşme sürecine tendon dokusunun parankiması ve epitenon/endotenonundan köken alan hücreler olmak üzere iç ve çevredeki hücreler gibi farklı elemanların da dâhil olduğu dış etkenler tarafından farklı seviyelerde etkide bulunulabilmektedir. Bununla beraber iyileşmeye katkı sağlayan dış etmenlerin, iç etmenlere kıyasla tendon dokusunda daha çok nedbe yapıya sebep olduğu bilinmektedir (12). Bu nedenle embriyonik periyotta tendon rejenerasyonu yoğun olarak dokuda bulunan hücre elemanları (iç etmenler) tarafından gerçekleştirildiği için nedbe olmadan dokunun iyileştiği görülmektedir. Benzer olarak postnatal periyotta da tendon yaralanması sonucu dokunun yetişkinlere göre nedbesiz rejeneratif kapasitesinin daha yüksek olduğu raporlanmıştır (13, 14). Doku rejenerasyonu sürecinde büyüme faktörleri; hücre göçü, hücre çoğalması ve anjiyogenez üzerinde kritik öneme sahiptir (15). Bu büyüme faktörleri kanda bulunduğundan, kandan elde edilen plateletten zengin plazma (PRP), plateletten zengin fibrin (PRF) ve konsantre büyüme faktörü (CGF) gibi platelet konsantrasyonları bağ dokunun iyileşmesi için literatürde farklı çalışmalarda kullanılmıştır (16, 17).

Rotator manşet tamiri başarısının artırılması amacıyla 1500'den fazla biyoaktif protein içerdiği bilinen ve tendon iyileşmesinde rol alan birçok büyüme faktörünü içinde barındıran PRP, klinikte atroskopinin yanında yardımcı tedavi olarak kullanılabilir. Bu amaçla kullanılan PRP, hastanın kendi kanından elde edilen kanın santrifüjlenmesi yöntemiyle hazırlanmaktadır. Platelet-kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforming büyüme faktörü- β (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), epidermal büyüme faktörü ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) yapısında bulunduğundan, PRP hücre proliferasyonunu ve anjiyogenezi tetiklemektedir (18). Laboratuvar çalışmalarında PRP'nin tendon-kemik yüzeyindeki biyomekanik özellikleri ve histolojik görünümü önemli ölçüde iyileştirdiği gösterilmiştir. Bir rat çalışmasında rotator manşet yırtık modeli oluşturularak, Dolkart ve arkadaşları (19) cerrahi onarımın tamamlayıcısı olarak tek doz otolog PRP'yi ameliyat sonrası eklem içi enjeksiyon ile uyguladılar ve tendon-kemik iyileşmesine olumlu katkı sağladığını ortaya koydular. Wang ve arkadaşlarının (20) PRP'nin klinik etkilerini kanıta dayalı olarak literatüre sunmak üzerinde yaptığı meta-analiz

çalışmasında; klinikte atroskopi yöntemi ile kullanılan PRP tedavisinin tam kat rotator manşet yırtığının kısa sürede tekrarlama olasılığı da dâhil olmak üzere bazı nesnel ve öznel parametrelerin anlamlı biçimde azaldığı gösterilirken, uzun vadede bakıldığında bu sonuçlarda anlamlı bir değişim olmadığı gösterilmiştir. Sonuç olarak PRP'nin içerdiği büyüme faktörleri sayesinde tendon dokusundaki hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması bu dokunun iyileşme aşamasına kısa vadeli yardımcı olduğu ancak uzun sürede etkisinin yeterli olmadığı anlaşılmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda PRP hazırlanma yöntemleri, dozajı ve uygulama şekillerinin farklı olması, çalışmaların aynı platformda karşılaştırma şansını azaltmaktadır (21, 22). Ancak ilginç bir şekilde klinikte tam kat rotator manşet yırtılmaları atroskopik tedavisinde yan tedavi olarak kullanılan PRF (ikinci nesil PRP olarak da bilinir) hakkında Mao ve Zhan (23) yaptığı meta-analiz çalışmasında yırtılmanın tekrarlanması da dâhil olmak üzere bu patolojiye genel olarak olumlu bir etkisinin bulunmadığı raporlanmıştır. Ayrıca bir başka meta-analiz çalışması, rotator manşet yırtığı tedavisinde yine PRP ve PRF karşılaştırarak iyileşme oranları değerlendirilmiştir ve PRF'nin tendon iyileşmesine veya klinik sonuçlar üzerinde yararlı bir etkisinin bulunmadığını ortaya koymaktadır. Aynı çalışma, PRP'nin ise rotator manşet onarımında tendon iyileşme oranlarını iyileştirebileceğini göstermektedir (24).

Literatür tarandığında ilk defa Sacco tarafından geliştirilen ve PRF'ye benzer yöntemle üretilen CGF'nin rotator manşet patolojisi dâhil tendon iyileşmesi üzerine yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Aynı zamanda CGF'yi PRP ve PRF ile karşılaştıran çalışmalarda mevcuttur (25-27). Bu çalışmalardan birinde Qiao ve arkadaşları PRF, PRP ve CGF'yi TGF- β 1, IGF-1 ve VEGF gibi içerdikleri bazı büyüme faktörleri bakımından karşılaştırmışlar ve aralarında anlamlı fark bulamamışlardır (28). Bununla beraber bu çalışmada PRF ve CGF'nin içeriğinde bulunan temel fibroblastik büyüme faktörü (bFGF), PRP'de bulunana göre anlamlı olarak fazla olduğu görülmektedir (28). Yapılan farklı in vitro/vivo çalışmalar bFGF'nin tendon hücrelerinde proliferasyonu ve matriks sentezini arttırdığını göstermektedir (29-32). PRF ve CGF'de tendon iyileşmesini tetiklediği bilinen bFGF'nin PRP'ye göre daha çok olmasına rağmen PRF'nin tam kat rotator manşet patolojisinde olumlu etkisinin görülmemesi kafa karışıklığı yaratmaktadır.

CGF'nin ise bu iyileşme sürecine olası etkileri hakkında herhangi bir veri bulunmamaktadır (28).

İlk olarak Sacco (2006) tarafından bulunan CGF, büyüme faktörlerinin daha zengin katmanlarını oluşturur ve zenginleştirilmiş bir fibrin pıhtısı sağlar. Bu fibrin pıhtı, fibrinojen faktör XIII ve trombin agülitasyonundan dolayı yüksek bir kohezyona sahiptir. Trombin tarafından aktive edilen faktör XIIIa, fibrinin pıhtılaşmasına neden olur. Bu, plazmin bozulmasına karşı koruma sağlayarak daha yüksek fibrin gerilme mukavemeti ve stabilitesi sağlar (33).

Rotator manşet patolojisinde tavşan sıklıkla model organizma olarak kullanılmakta ve literatür tarafından kabul görmektedir (34). Rotator manşet yaralanmasının hemen hemen tüm hayvan modelleri, rotator manşet tendonunun bir tenotomisini oluşturarak ve ardından sonraki yanıtı değerlendirerek akut durumu taklit etmektedir (35-37). Bu bağlamda yapılan tavşan rotator manşet çalışmalarının birçoğunun supraspinatus tendonu üzerinde yapıldığı bilinmektedir (38). Fakat tavşan omuz bölgesinin bazı anatomik özellikleri, supraspinatus kası yerine farklı rotator manşet kasların da düşünülmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Örneğin tavşanlarda scapulanın acromion bölümü rudimenter yapıya sahiptir ve burada bir kemer oluşturmaktadır. M. infraspinatus ve m. teres minor, kemerin altından geçerek humerus'un tuberculum majus isimli yüzeyine yapışırlar. M. supraspinatus ise buradan geçmez. Bu duruma ilave olarak ilgili kasların tendinöz kısımları değil, muskuler kısımları akromiyal kemerin altından geçmektedir. İnsandaki supraspinatus kasının yerleşimi ve acromion yapısı ile karşılaştırıldığında belirgin bir farklılık görülmektedir. Tendonların yerleşim şekilleri arasındaki farklılıklar beraberinde kasın biyomekanik özelliklerini de etkilemektedir. Bu nedenle, supraspinatus ve infraspinatus tendonlarının hem anatomik hem de biyomekanik özellikleri, tavşanlar ve insanlar arasında önemli ölçüde farklıdır. M. subscapularis'e geldiğimizde ise yapılan çalışmalar tavşan glenohumeral eklemün ön yüzünde subscapularis tendonu ve kasının geçtiği bir kemik çıkıntı veya tünel olduğunu göstermiştir. Bu yapının lateral duvarını tuberculum supraglenoidale, çatısını processus coracoideus, tabanını tuberculum infraglenoidale ve son olarak medial duvarını m. coracobrachialis oluşturmaktadır. M. subscapularis tendonu, kemik tünel içerisinde hareket ederek humerus'un tuberculum minus adındaki yüzeyine yapışır. Subscapularis tendonun

tavşandaki yerleşimi, tavşan subscapularis tendon kompleksi ile insan supraspinatus kompleksi arasındaki anatomik ve biyomekanik özellikler anlamında önemli bir benzerliktir (38). M. subscapularis'in kemik tünel içerisindeki hareketi, tavşan hareketlerini içeren video analizleriyle de doğrulanmıştır (39). M. subscapularis tendonunun kemik tünel içerisindeki bu hareketi, insanlarda elevasyon ve abduksiyon hareketleri sırasında acromion'nun altında hareket eden m. supraspinatus kasının tendonu ile benzerlik göstermiştir. Bir diğer benzerlik gösterdiği kısım ise tendonların kemikte yapışma yerlerinde oluşan anatomik ayak izlerinin en-boy oranlarıdır. Rotator manşet kaslarının anatomik ayak izi en-boy oranları karşılaştırıldığında, insandaki m. supraspinatus kasına en çok benzerlik gösteren kas tavşanda m. subscapularis olmuştur (39). Bütün bilgiler ışığında, tavşanlardaki subscapularis kasının kapalı bir kemerin altından geçmesi, yağ birikiminin belirgin olması ve biyomekanik özelliklerin insan supraspinatus kasına benzer olması gibi nedenlerden dolayı, m. subscapularis'in insan patolojisini taklit etmek için daha iyi bir seçenek olabileceği öne sürülmüştür (40, 41).

Bu çalışmadaki amacımız, tendon-kemik onarımında etkisi bilinen bir tedavi olan PRF ile bu alanda daha önce hiç çalışılmamış ancak farklı dokularda etkinliği ortaya konmuş olan CGF'yi kıyaslayarak, CGF'nin etkinliği hakkında literatüre katkı sağlayarak yeni bir tedavi yaklaşımı ortaya koymaktır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1 Rotator Manşet Embriyolojisi, Anatomisi ve Biyomekaniği

4.1.1 Rotator manşet embriyolojisi

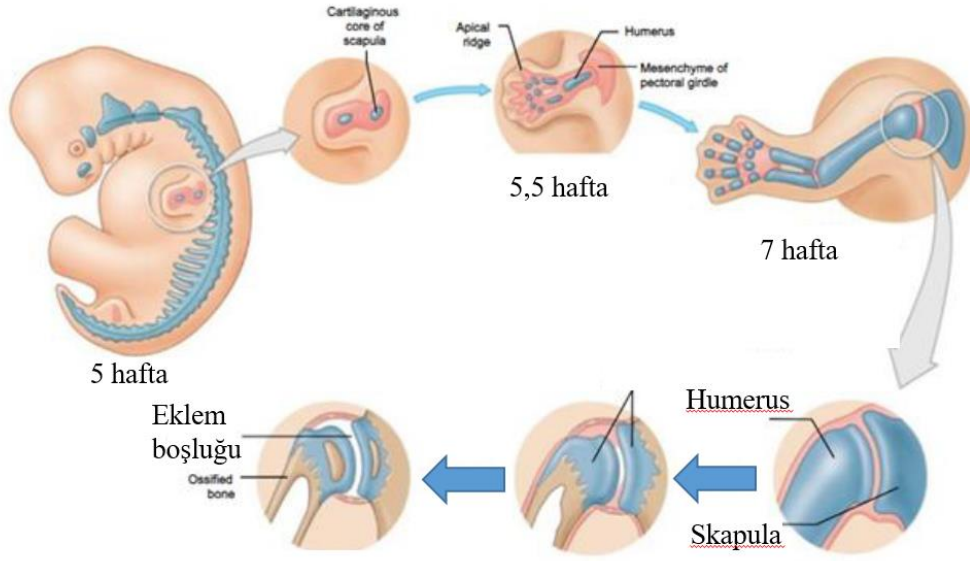
Tüm vücut dokuları 3 farklı germ tabakasından köken alır. Ektoderm, mezoderm ve endoderm olarak adlandırılan bu tabakalardan farklı sistemlere ait yapılar köken almaktadır. Gastrointestinal sistem ve ürogenital sistemlerin epitel tabakaları pankreas, timus bezi ve karaciğer endoderm tabakasından gelişir (42). Kaslar, kemik dokuları, kıkırdak, iç organlar ve vücut boşluklarını örten serozalar mezoderm tabakasından gelişir. Periferik sinirler ve merkezi sinir sisteminin neredeyse tamamı ektoderm tabakasından gelişir.

Lokomotor sistem paraksiyal mezodermden, mezoderm somatik plağından ve nöral krestten gelişir. Paraksiyal mezoderm, oksipital bölgeden kaudale uzanan ve somit adı verilen doku bloğunu meydana getirir. 5. haftada vücut duvarı ventromedialinde somitin dışa göç etmesi sonucu ekstremitte tomurcukları oluşur. Kasların oluşumunu sağlayan miyoblastlar mezodermden farklılaşarak oluşurlar. Aynı zamanda humerus merkezinde kıkırdak oluşumu da başlamaktadır. (43).

6. haftada uzuv tomurcukları uç kısımları yassılaşılarak parmakları oluşturur. 7. haftada gelişmekte olan üst ve alt ekstremitelerin rotasyonları farklı derecelerde ve zıt yöndedir. Üst ekstremiteler 40 derecelik bir lateral rotasyon, alt ekstremiteler 90 derecelik bir medial rotasyon gösterir. Buna bağlı olarak, üst ekstremitelerin ekstansörleri dışarıda, fleksörleri içeridedir. Ekstremitte kasları, tomurcuğun mezenkimal hücrelerinin çoğalmasıyla oluşur. Tomurcuklar büyüdükçe, uzuvların kasları gelişir. 90 derece dönüş anında iç-yan kısımdan glenoid labrum, eklem kapsülü, subscapularis kası ve biceps tendonu meydana gelir.

Gebeliğin 3. ve 4. ayında uzuvlar son şekillerini alırlar. Fötüs boyu, kranialden kaudale 38 mm'ye ulaştığında açıkça tanımlanabilen bir omuz eklem aralığı ve labrumlar ortaya çıkmıştır (44).

Üst Ekstremité Gelişimi



Şekil 4.1. Üst ekstremité tomurcuğunun embriyolojik gelişimi (44)

4.1.2 Rotator manşet (omuz ekleminin musculetendinöz kılıfı) anatomisi

Hareket açıklığı en geniş eklem olan omuz ekleminin dört kemik ve beş eklemden oluşmaktadır. Kemik yapılar humerus, scapula, clavícula ve sternumdur; eklemler ise sternoclavicular eklem, humeral (glenohumeral) eklem, acromioclavicular eklem, subacromial eklem ve scapulotorasik eklemdir. Glenohumeral eklem omuz eklemleri arasındaki en temel eklem olup scapulanın cavitas glenoidalis'i ile caput humeri arasında oluşmaktadır (45).

Omuz kavşağı ile humerus başı arasındaki bağlantıyı sağlayan kas grubuna Rotator Manşet (kaf) kasları denir. Rotator manşet, scapuladan köken alan ve humerusun tuberculum majus ve minus'larına yapışan dört kasın tendonlarından oluşan karışık bir yapıdır. Bu kaslar omuzun anterior ve posterior kapsül yapısını destekler, glenohumeral eklem hareketine katkıda bulunur ve omuz kavşağının en önemli dengeleyicisidir (46).

M. subscapularis kasının insersiyosu tuberculum minus ve eklem kapsülü iken; m. supraspinatus, m. infraspinatus ve m. teres minor'un insersiyosu tuberculum majus'tur (47).

M. supraspinatus: Spina scapulanın üzerindeki fossa'nın (fossa supraspinatosa) medial 2/3'ünden ve bu kası örten fascia'nın medial bölümünden başlar. Laterale doğru uzayarak tendonu, acromion ve korakoakromiyal bağın altından geçerek m. supraspinatus'un tendonu ve eklem kapsülü ile kaynaşarak tuberculum majus'un en üst kısmında sonlanır.

Kolun ilk 15 dereceye kadar abdüksiyon hareketini yaptırır. Kola abdüksiyon hareketi ile çok az olarak da dış rotasyon ve fleksiyon yaptırır. 15 derece ile 90 derece kola abdüksiyon hareketini ise m. deltoideus devam ettirir. M. deltoideus spesifik olarak omuzu abdüksiyon yönünde hareket ettirirken m. supraspinatus humeral başı inferiora doğru hareket ettirir. Bu sayede humerus başının acromion altında sıkışması, m. supraspinatus tendonunun ve subakromial bursanın hasar görmesi engellenir (48). M. supraspinatus'un artiküler yüzü dayanıksızdır ve bu sebeple yırtıklar artiküler yüzde meydana gelmektedir (49). Özellikle 40 yaş üstü kişilerde m. supraspinatus tendonunun yırtılma oranı belirgin bir şekilde artmaktadır (50). Rotator cuff kasları arasında en fazla hasarlanan kas m. supraspinatus'dur.

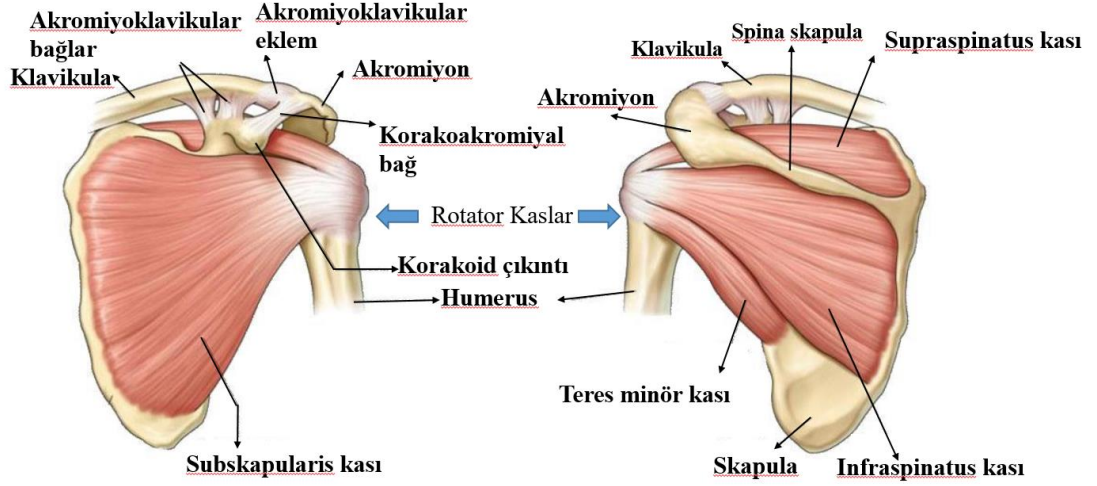
N. suprascapularis (C5, C6) tarafından innerve edilmektedir. Bölgenin arteriyal beslenmesi a. suprascapularis tarafından sağlanmaktadır.

M. infraspinatus: M. infraspinatus, scapulanın fossa infraspinata'sından başlayıp, humerusun tuberculum majus'un posteriolateralinde orta 1/3'lük kısma yapışır. Humerusa dış rotasyon yaptırır ve omuz eklem kapsülünü posteriora destekler. Nörolojik inervasyonu m. supraspinatus ile aynıdır. Arteriyal beslenmesi a. suprascapularis tarafından olur (51, 52). Ayrıca omuz iç rotasyonda omuz ekleminin arkadan destek olarak posterior subluksasyonlara, abdüksiyon ve dış rotasyonda humerus başını arkaya çekerek öne subluksasyonlara karşı korur.

M. teres minor: Scapulanın dış kenarından başlayıp tuberculum majus'un alt 1/3'lük kısmına yapışır. Zayıf bir dış rotator manşet kasıdır. C5-C6'dan köken alan n. axillaris tarafından innerve edilir. Arteriyal beslenmesindeki en önemli damar posterior humeral sirkümfleks arter ve dallarıdır (51, 52).

M. subscapularis: Scapulanın ön yüzünde fossa subscapularis'in medial 2/3'ünden başlar, eklemin ön yüzünden geçerek tuberculum minus'a yapışır. Omuza iç rotasyon yaptırır ve alt lifleri ile humerus başının depresörü olarak fonksiyon görür. C5-C8'den köken alan n. subscapularis tarafından innerve edilir.

Arteryal beslenmesi axiller ve subscapuler arterler tarafından olur.

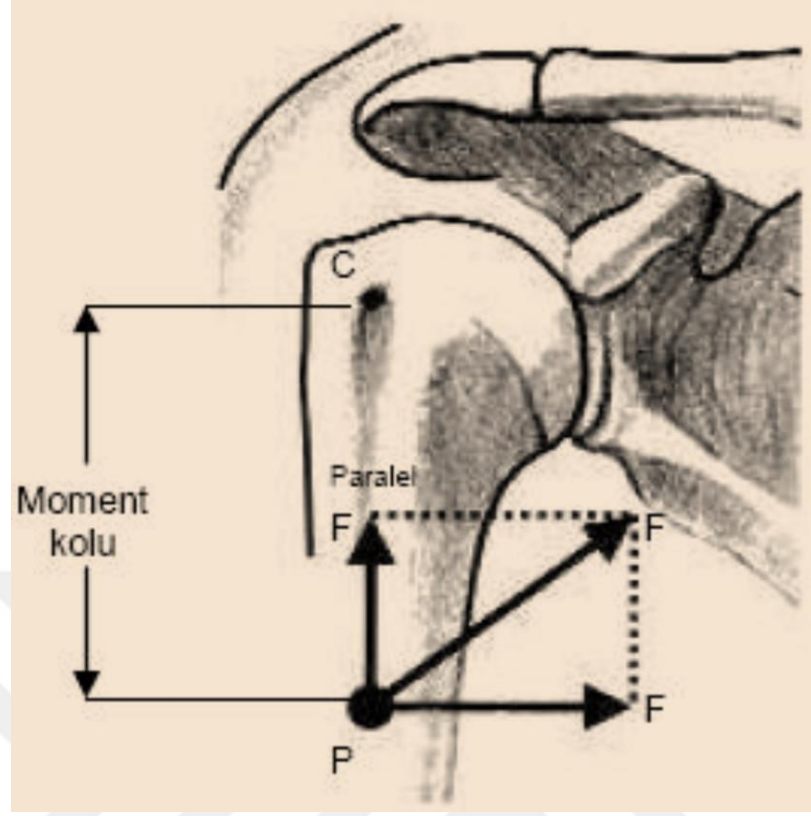


Şekil 4.2. Rotator manşet kasları

4.1.3 Rotator manşet biyomekaniği

Rotator manşet kaslarının yapısı ve humerus üzerindeki yapışma yerleri hakkında birçok bilgi olmasına karşılık biyomekanik özellikleri hakkındaki bilgiler kısıtlıdır. Rotator manşeti oluşturan tendonların bağımsız bir şekilde ilerlemedikleri ve farklı seviyelerde birbirlerine eklendikleri bilinmektedir. Bu nedenle rotator manşet kaslarından birinde oluşan kasılma farklı tendon bağlantı noktalarında da etki oluşturacaktır. Bu nedenle tendonların tek başlarına mekanik özellikleri hakkındaki bilgiler kısıtlıdır (53).

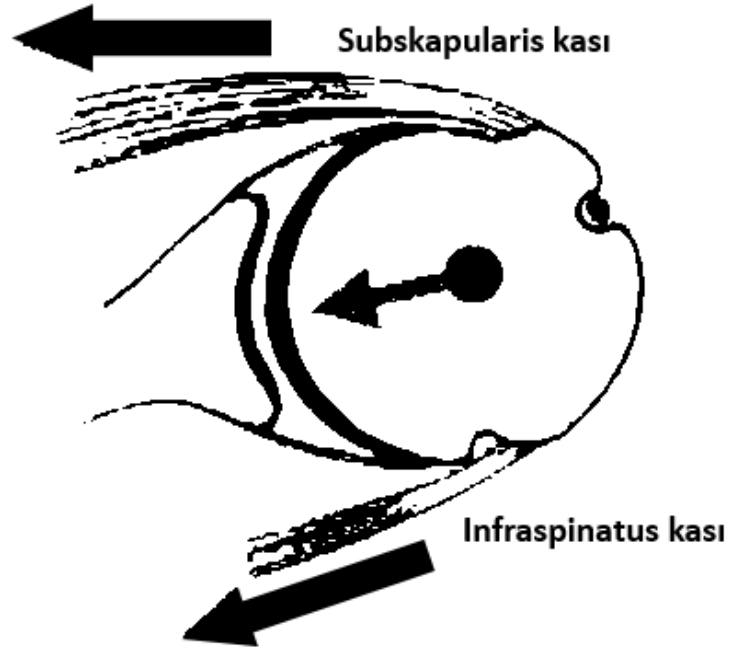
Omuz eklemi hem vücudun en hareketli eklemi olması hem de farklı tendon yapısı sebebiyle biyomekanik açıdan anlaşılması güç bir yapıdır. Üç farklı düzlemde hareket kabiliyetine sahiptir. Manşet kaslarının kasılmasından kaynaklanan tork, moment kolunun (humerus başı merkezi ile bu kuvvetin etkili uygulama bölgesi arasındaki mesafe) ve ona dik olan kas kuvvetinin bileşkesine bağlıdır (Şekil 4.3). Rotator manşet kaslarının oluşturduğu kuvvetin büyüklüğü; kas kitlesine, pozisyonuna ve eklem pozisyonuna bağlı olarak değişmektedir. Eklem pozisyonu, kasın kuvvet ve torkunu etkilemektedir (54).



Şekil 4.3. Omuz ekleminde tork, moment kolu ve hareket merkezinin gösterimi

Rotator manşet kaslarının üç farklı görevi vardır (Şekil 4.4);

1. Humerusa, scapulaya göre rotasyon yaptırmak
2. Omuz ekleminin stabilitesini sağlamak ve humerus başını cavitas glenoidalis'e bastırmak
3. Kas dengesini sağlamak.



Şekil 4.4. Rotator manşet kaslarının omuz eklem stabilitesine etkisi

Deltoid kası, supraspinatus ve infraspinatus kasları ile beraber kola abdüksiyon hareketi yaptırır. Abdüksiyon hareketinin başında deltoid kasın kuvvet momenti humerus başını yukarı çekerken, rotator manşet kasları aksi yönde kuvvet uygulayarak, humerus başının eklem yuvasından çıkmasını engeller. Dolayısıyla abdüksiyon sırasında manşet yırtığına bağlı humerus başının elevasyonun sebebi budur (55).

Rotator manşet kaslarının kuvvet büyüklüğü ve zamanlaması, istenmeyen kas hareketlerinin önüne geçmek için uyum içinde olmalıdır. Netice itibari ile bu kas grubunun temel vazifesi, birbiri ile zıt veya aynı yönde çalışan kas gruplarının eş zamanlı ve uyum içinde çalışıp istenen hareketi gerçekleştiren hareket torkunu oluşturmaktır.

Seçici sinir blokajı ile manşet kaslarının hareketlerdeki etki büyüklükleri ölçüldüğünde supraspinatus ve infraspinatusun abdüksiyona katkısının %45 olduğu, dış rotasyona katkısının ise %90 olduğu tespit edilmiştir (56). Supraspinatus ve deltoid kasının fleksiyon ve elevasyon hareketleri sırasında omuz eklemi üzerinde eşit miktarda kuvvet torku oluşturduğu ortaya konmuştur (57). Supraspinatus kasının omuz eklem ön bölümündeki liflerinin arka bölümdeki liflere oranla daha kalın ve

daha esnek olması, ön liflere binen yükün daha fazla olduğu ve esas fonksiyonelliğin ön liflerde olduğunu göstermektedir (58).

Geçmişte korakokromial kemerin, temasta bulunduğu rotator manşette yırtık oluşma riskinin arttırdığı düşünülürdü. Günümüzde ise humerus başının superiora yönelmesinde korakoakromial kemerin pasif stabilizatör olduğu ve özellikle rotator manşet yırtığı olan vakalarda bu özelliğinin daha da öne çıktığı bilinmektedir (59).

Biceps tendonunun uzun başı, rotator manşetin işlevsel bir parçası olarak kabul edilir. Biceps'in tendonu, bisipital oluk içerisinde korakohumeral bağ ve transvers humeral bağ ile çevrelenmiş vaziyettedir. Tendonun gerilmesi, humerus başını cavitas glenoidalis'e doğru iterek stabiliteyi artırır. Bu da, humerusun addüksiyonla daha fazla döndürüldüğünü ve abdüksiyonla daha kısıtlı olduğunu açıklamaktadır (53).

4.2 Rotator Manşet Yırtıklarının Patofizyolojisi

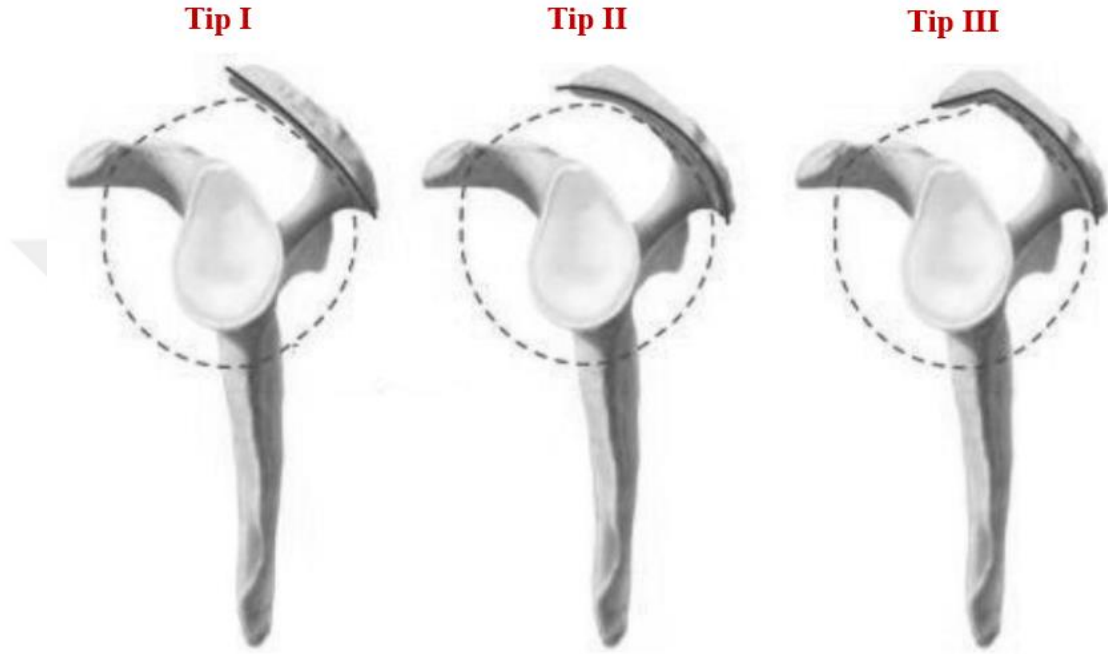
Rotator manşet hasarlanmasına ilişkin birçok çalışma yapılmış ve birçok hipotez ortaya konmuştur. Bununla birlikte rotator manşet hasarlanmasına yol açabilecek birçok etkenin varlığı konusunda görüş birliği vardır (50, 60-65).

Bu etkenler, korakoakromial arkın şekli, tensil aşırı yüklenme, kinematik anormallikler gibi ekstrinsik ve tendonun damarsal beslenmesi, materyal özelliklerinde bölgesel değişiklikler ve mikro-yapısal kolajen lif anormallikleri gibi intrinsik etkenler olmak üzere ikiye ayrılır (50, 60-65).

4.2.1 Ekstrinsik mekanizma

Ekstrinsik mekanizma, rotator manşet yırtıklarında tendon dışındaki yapıların etkili olması sonucu oluşmaktadır. Neer (66) tarafından tanımlanan bu mekanizma rotator manşet yırtıklarının % 95'inin tendonun korakoakromiyal kemerin alt kısmında mekanik baskısı sonucu olduğu şeklindedir. Aynı zamanda subakromiyal sıkışma sendromu adını verdiği bu mekanizma neticesinde, acromion alt yüzeyinin ön üçte birlik bölümünde, korakoakromiyal bağda ve bazen de akromiyoklaviküler eklemden birtakım değişiklikler meydana gelmektedir. Acromion'daki değişikliklerin yırtıklarla olan ilişkisi, Bigliani ve arkadaşlarının (67) yaptıkları morfolojik çalışma ile gösterilmiştir. Bu çalışmada tip I (düz), tip II (eğri), tip III (çengel) olmak üzere üç acromion şekli tanımlanmıştır.

Yaş ortalaması 74 olan 71 kadavraya ait 140 omuz incelenmiş; %33 oranında tam kat manşet yırtığı tespit edilmiştir; tam kat rotator manşet yırtığı olan omuzların %73'ünde tip III (çengel), %33'ünde tip II ve %24'ünde ise tip I acromion'dan kaynaklandığı belirlenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Bigliani ve arkadaşlarının tanımladıkları acromion tipleri (67)

Yazıcı ve arkadaşları (68) yenidoğan kadvralarından yaptıkları çalışmada tip 2 ve tip 3 acromion'un yapısal olmaktan çok edinsel olabileceğini vurgulamışlardır.

Putz ve Reichelt (69) ameliyat ettikleri 133 hastanın %75'inde, korakoakromiyal bağın acromiona birleşme yerinde kondroid metaplazi olduğunu ortaya koymuşlar ve bu metaplastik alanın, enondral kemik formasyonu ile ileride akromiyal çengel şekline dönüşebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Luo ve arkadaşları (70) sadeleştirilmiş iki boyutlu ölçülebilir eleman modeli kullanarak supraspinatus tendonunda stres dağılımını ölçmüşlerdir. Subakromiyal sıkışma modeli neticesinde, acromion temas alanı ile bursalarda, eklem yüzeylerinde ve tendon boyunca da yüksek oranda stres artışı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, ekstrinsik mekanizmaların rotator manşet yırtıklarında rolü olabileceğini göstermiştir.

Wang ve arkadaşları (71) 200'ün üzerinde vaka ile yaptıkları bir çalışma neticesinde, konservatif tedavinin başarısının acromion tipiyle ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Acromion tipleri karşılaştırıldığında başarı oranları sırasıyla tip I %89, tip II %53 ve tip III %58,3 olarak raporlanmıştır.

4.2.2 İntrinsik mekanizma

Rotator manşet kaslarına ilişkin hasarlarda ikincil olarak gelişen hasarları kapsayan bir mekanizmadır. İlk olarak Codman tarafından ortaya konan bu mekanizma ile rotator manşet kaslarındaki yırtıkların nedeninin dejeneratif değişikliklerden kaynaklandığı savunulmuş ve bu teori birçok araştırma ile de desteklenmiştir (72).

Uhthoff ve Sarkar tarafından (73) 306 kadavra omuzunda yapılan bir araştırmada, rotator manşet kaslarında oluşan yırtıkların çoğunlukla eklem kısmında olduğu, başlangıç yırtıklarının dejeneratif nitelikte olduğu ve bununla birlikte ekstrinsik faktörlerin ikincil olarak sürece etki ettiği belirlenmiştir.

Ozaki ve arkadaşları (74) 200 kadavra omuzunda çalışma yapmışlar ve acromion alt yüzeyindeki farklılıkları araştırmışlardır. Sonuç olarak; eklem bölgesinde parsiyal yırtığı olan vakalarda acromion alt yüzeylerinin sağlam olduğunu belirlemişlerdir. İlâveten, yırtığın derecesinin, acromion alt yüzeyindeki farklılıklarla korelasyon gösterdiğini, bursal kısımdaki yırtıkların ise acromion'un 1/3 ön tarafındaki acromion'un alt yüzeyindeki farklılıklarla alakalı olduğu belirtilmiştir.

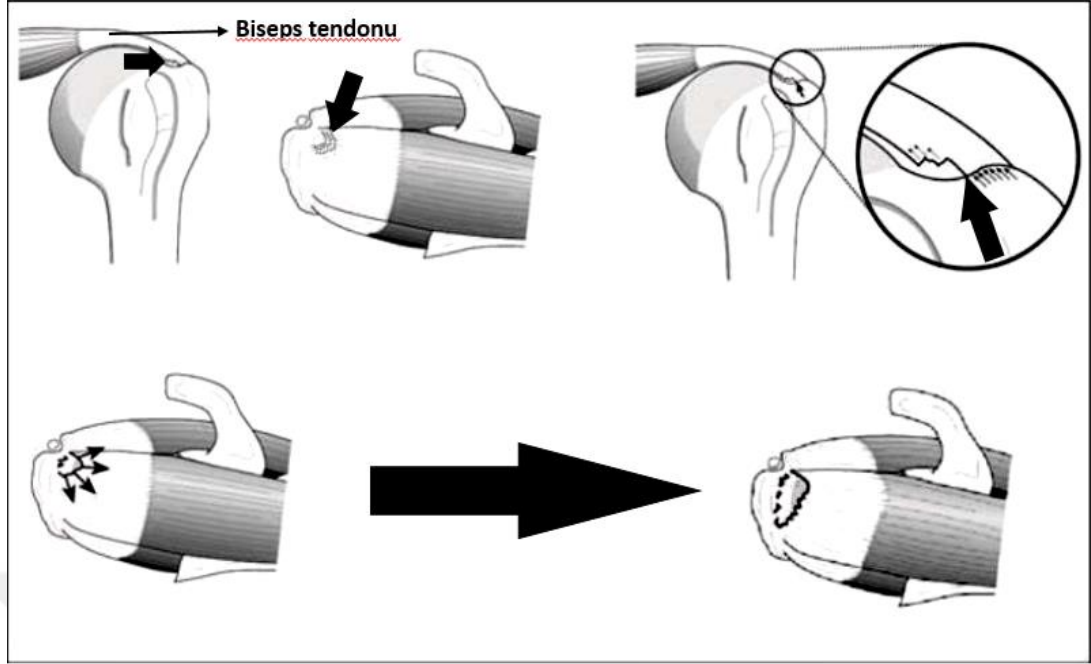
Rotator manşet kaslarının yapılarının bozulmasının asıl sebebi yaşlanmadır. Rotator manşet tendonları da diğer bağ dokusu yapıları gibi, yaşlanmaya bağlı olarak daha az kullanılması sonucu güçsüzleşir ve zayıf bir kuvvete bile direnç gösteremeyerek yırtılabilir. Rotator manşette, mikroskobik açıdan tendonun, kemiğin ve fibrokartilajın normal yapılanmasında ve boyanma özelliklerinde kayıplar meydana gelebilmektedir. (75).

Rotator manşet kaslarının damar anatomisi, yırtıkların meydana gelme sürecindeki rolü sebebiyle büyük ilgi çekmiştir. Kadavraların sağlam omuzlarında, Codman'ın "kritik alan" olarak ifade ettiği bölge olarak kabul edilen, supraspinatus tendonunun ön bölümüne yapılan mikroenjeksiyon uygulamaları sonucunda damarlanmada azalma (hipovasküler alan) meydana geldiği belirtilmiştir (76).

Dejeneratif rotator manşet yırtıklarının önemli bir kısmının bu bölgede oluşması, damarlanmadaki azalmanın yırtık oluşumuna etkisi olabileceğini akla getirmektedir.

Dejeneratif mikrotravma modeli, intrinsik mekanizmayı açıklamak için kullanılan modellerden bir tanesidir. Bu model neticesinde yaşla ilişkili tendon hasarı tekrarlayan mikrotravmalarla birleşerek rotator manşette, tamir edilme şansı azalan küçük yaralanmalara sebep olur ve sonunda zayıflamış tendonda kısmi yırtık, daha sonrasında ise tam kat yırtık meydana gelir. Bu teori, kısmi yırtıkların artiküler yüzeyde başladığını savunan Codman'ın rotator manşet yırtıklarına ilişkin intrinsik mekanizma teorisi ile uyumaktadır. Sınırlı iyileşme potansiyeli ve etkisi altında kaldığı aşırı yük sebebiyle, bu bölgede başlayan yırtık giderek büyümektedir (77).

Mikrotravma modelinde yırtıkların başlangıcı, yaygın olarak yüklerin en yoğun olduğu biceps tendonunun yakınında ve supraspinatus tendonunun ön bölümüdür. Yırtılmanın başlamasıyla birlikte henüz hasar görmemiş olan yakın liflerde de gerilim yüklerinde artış oluşmaktadır. Bu durum "Fermuar Fenomeni" olarak bilinmektedir (Şekil 4.6). Bununla birlikte, yırtık kenarındaki aşırı gerilme, bölgesel kan akımını olumsuz etkiler. Eklem sıvısında bulunan litik enzimler, iyileşme sürecinde gerekli olan hematoma oluşmasını engeller. Tendonun boş alanı örten etkisi ortadan kalkar, humerus başı yukarı yönde yer değiştirir. Biceps tendonunun üzerine yük binmesi ile yırtık bisipital oluğa da geçerek subscapularis tendonuna doğru uzanır. Yırtılmaya bağlı konkavite-kompresyon mekanizması işlevini kaybeder ve humerus başı, deltoid'in çekmesi sonucu yukarı kayar. Humerus başının yukarıya doğru yer değiştirmesi, geriye kalan rotator manşet kaslarını korakoakromiyal kemerin altına hapseder. Korakoakromiyal bağda da dejeneratif traksiyon spurları meydana gelmektedir. Sıyrık oluşuma bağlı olarak humerus eklem kıkırdağında hasar oluşur ve neticede manşet yırtığı artropatisi olarak bilinen sekonder dejeneratif eklem hastalığı oluşur (55).



Şekil 4.6. Mikrotravma modeline göre yırtıklar

4.3 Rotator Manşet Yırtıklarının Sınıflandırılması

Rotator manşet yırtıklarının sınıflaması klinik uygulamada tanı, tedavi, prognoz ve tedavi verilerinin bilimsel açıdan ele alınmasına katkı sağlamasını hedeflemektedir. Yırtığın şekli, yeri, etiyojisi, büyüklüğü, topografisi, patolojisi ve öyküsü, tendonların yırtık oluşumuna etkisi ile beraber çok önemli veriler sunmaktadır.

İlk kez Codman tarafından 400 hasta üzerinde yapılan sınıflamaya göre omuz ağrısına yol açan dört faktör olarak supraspinatus kasının tam yırtığı, supraspinatus kasının kısmi yırtığı, kalsifiye tendon ve tendinitisi bildirilmiştir. Rotator manşet lezyonlarının sınıflaması şu şekildedir:

- 1) Manşet kasların tüm katlarını kapsamayan kısmi yırtıklar;
- 2) Manşet kaslarının tüm katlarının ve kapsülün yırtığa katıldığı, subakromiyal bursa ve eklem kavitesinin ilişkili olduğu yırtıklar;

3) Tam longitudinal yırtıklar ise genç hastalarda nadir olarak görülür. Manşet kaslarının tendinöz liflerine paraleldir, yoğunlukla rotator interval bölgesinde supraspinatus-subscapularis birleşme noktasında ortaya çıkmaktadır (77).

4.3.1 Parsiyel yırtıklar

4.3.1.1 Yırtığın yerleşim yerine göre sınıflandırma

Kısmi yırtıkların bir bölümü yırtıkken, bir bölümü de devamlılığını sürdürür. Kısmi yırtıklar yakın oldukları anatomik yapılara göre bursal bölge, intramural-intertendinöz, artiküler bölge şeklinde alt gruplara ayrılır. Fukuda ve arkadaşları (78), 149 kadavranın sol omuzunda %13 oranında kısmi yırtık saptamıştır. Bunların %3'ü artiküler tarafta, %7'si intertendinözdür.

4.3.1.2 Yırtığın derecesi ve derinliğine göre sınıflandırma

Ellman, parsiyel yırtıkları derinliklerine göre üç grup olarak tanımlamıştır (79).

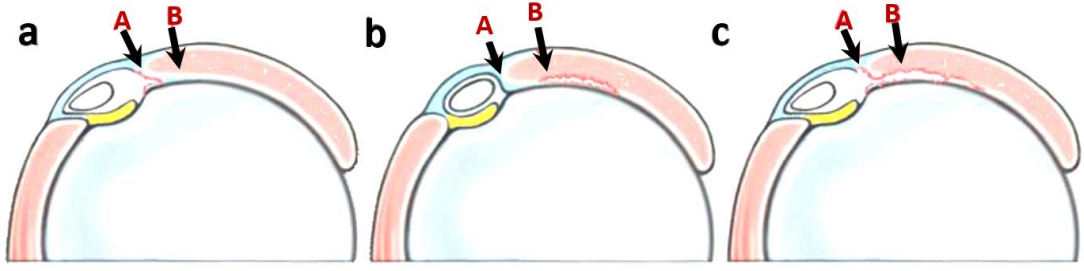
Grade I yırtıklar, 3 mm'den daha az derin olanlar; tendon kalınlığının 1/4'ünden daha az bir kısmını ve yalnızca kapsül ya da yüzeysel lifleri kapsar.

Grade II yırtıklar 6 mm'den daha az derinliktedir; tendon kalınlığının yarısından daha az kısmını tutar.

Grade III yırtıklar, tendon kalınlığının yarısından fazlasının yırtığa katıldığı tiptir.

Matsen ise tüm kısmi yırtıkları, derinliğini dikkate almadan grade IA olarak nitelemiştir (80).

Habermeyer ve arkadaşları (81) artiküler bölgedeki kısmi yırtıklar için artroskopik bir sınıflandırma sistemi ortaya koydular. Araştırmacılar, Ellmann'ın sistemi ile karşılaştırdıklarında koronal ve transvers plandaki yırtığın genişliğine dikkat edilmediğini fark ettiler. Ortaya koydukları yeni sınıflandırma yöntemi ile yırtığın şiddeti dışında, sagittal plandaki yırtık boyutu ve yerleşimini de dikkate almışlardır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Habermeyer ve arkadaşlarına göre, transvers plandaki parsiyel yırtıklarının sınıflandırılması (81)

Transvers planda artiküler taraf yırtıkların sagittal uzanımı gösterilmektedir. Tip A: Korakohumeral ligaman yırtığı supraspinatus tendonunun medial kenarına kadar genişlemiştir (a). Tip B: Kresent alanında izole yırtık (b). Tip C: Yırtık supraspinatusun medial kenarından kresent alanına kadar uzanmaktadır (c). Korakohumeral ligament (A), Rotator manşet tendonu (B)

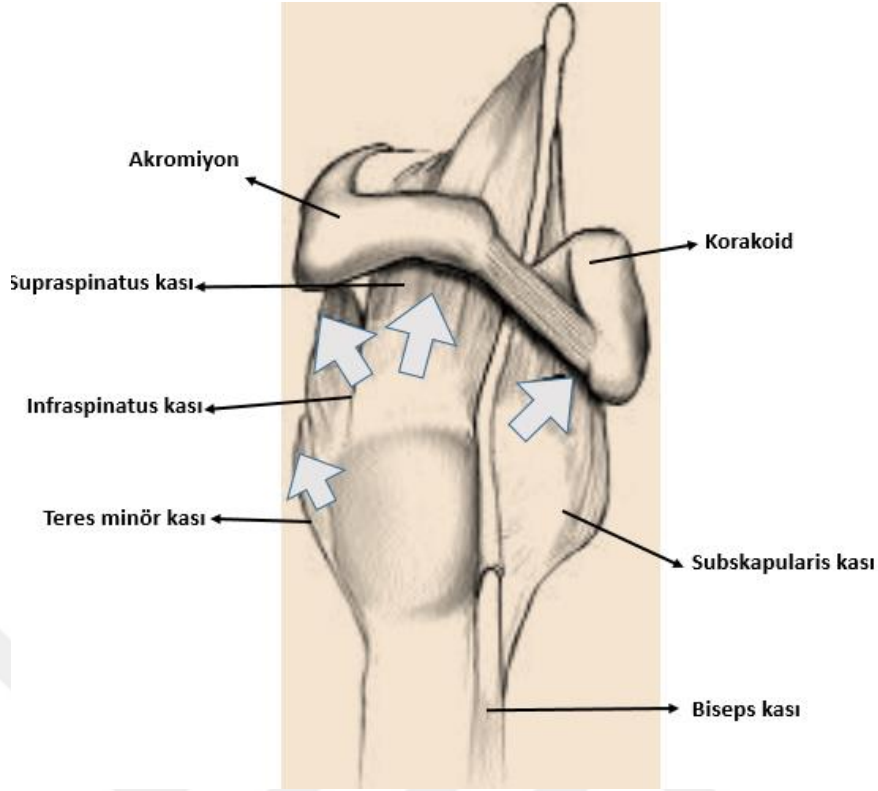
4.3.2 Tam kat yırtıklar

Tam kat yırtıklarının gruplandırılmasında birçok faktörün etkisi olduğu bilinmektedir. Yırtığın büyüklüğü, şekli, yırtığa katılan tendon sayısı, retraksiyon miktarı, kasın atrofisi ve yağlı dejenerasyon bu faktörler arasında sayılabilmektedir.

4.3.3 Yırtığın şekline göre sınıflandırma

Wolfgang (82), rotator manşet yırtıklarını, şekillerine göre transvers, üçgen veya hilal şekilli, masif (yaygın) olarak üçe ayırmıştır.

Ellmann (79) ise yırtığın büyüklüğü, şekli ve bulunduğu tendona bağlı olarak daha ayrıntılı bir sınıflama yapmıştır (Tablo 4.1). Tendonların çalışma şekilleri ve traksiyonları, yırtık şekillerinin anlaşılmasını desteklemektedir (Şekil 4.8). Lineer yırtıklar, supraspinatus insersiyosunda transvers seyirli yırtıklardır ve oldukça seyrek görülürler (Şekil 4.9a). Hilal görünümlü yırtıklar ise supraspinatus tendonunu kapsar. Biseps tendonu uzun başı seviyesinden başlayan ve rotator manşet kaslarının yırtık kenarını çekmesi sonucu oluşan hilal görünümlü yırtıklardır (Şekil 4.9b).



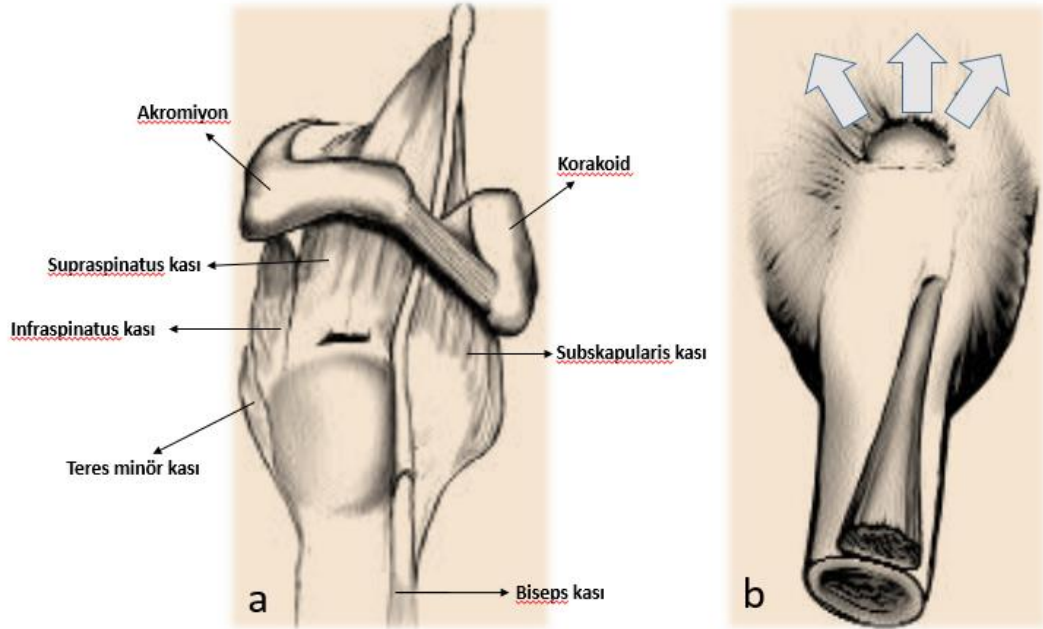
Şekil 4.8. Rotator manşet tendonlarının çalışma şekli ve traksiyon yönleri

L şekilli ve ters L yırtıklar, önceden üçgen şeklinde yırtıklar olarak isimlendirilirdi. Orta büyüklükte ters L şeklindeki yırtıkların meydana gelmesindeki temel sebep, supraspinatus tendonundaki bir yırtığın, biseps tendonu üzerindeki hat boyunca rotator intervale doğru uzamasıdır (Şekil 4.10b). L şekilli yırtıklar ise supraspinatus tendonundaki bir yırtığın, supraspinatus ve infraspınatus kesişme yerine doğru uzaması ise L şekilli yırtıklara neden olur ve bunun sonucu olarak supraspinatus tendonundaki yırtığın kenarı anteromediale doğru gelmiş olur (Şekil 4.10a).

Dörtgen şekilli yırtıklar, supraspinatus ve infraspınatus tendonlarının ikisini birden kapsayan yırtıkların, ön bölgede rotator aralığa, arka bölgede infraspınatus ve teres minor kesişme noktasına doğru ilerlemesi neticesinde oluşmaktadır. (Şekil 4.11a). Yırtığın iç kenarı glenoid seviyesine kadar bazen de kolun elevasyonu sırasında humerus başının yukarıya doğru yer değiştirmesine sebep olacak kadar retrakte olabilir.

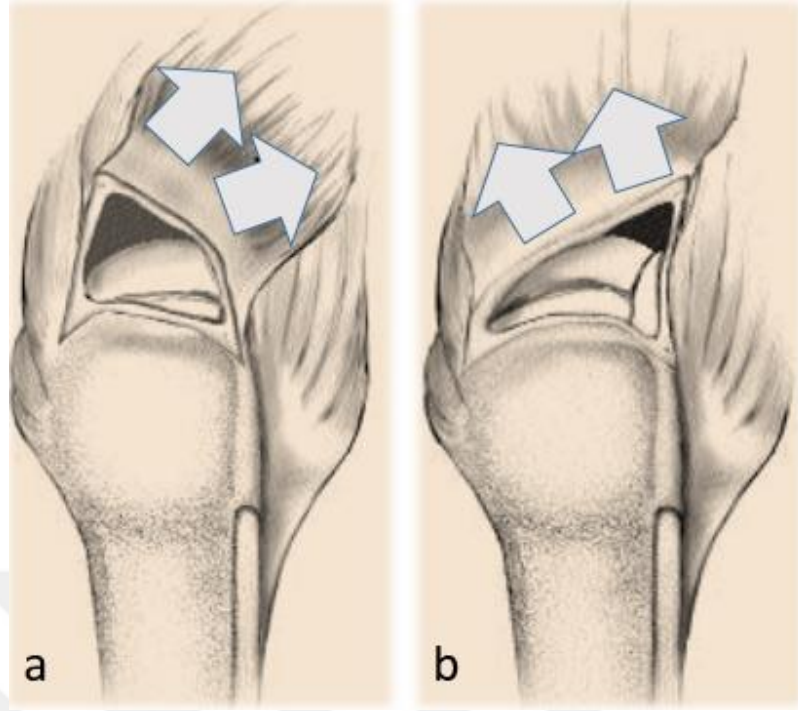
Tablo 4.1. Elmann tam kat yırtık şekillerine göre sınıflaması (79)

Şekil	Yer
Transvers lineer	Supraspinatus insersiyosunda
L-şeklinde	Transvers lineer yırtıkların supra ve infraspinatus tendonlarının çekmesiyle
Ters L-şeklinde	Transvers yırtık ile birlikte infra-supraspinatus arasından longitudinal yırtığın bulunması
Dörtgen	Hem supraspinatus hem infraspinatusları retrakte transvers yırtık
Masif	Teres minör ve/veya subskapuler tendonlar da katılır

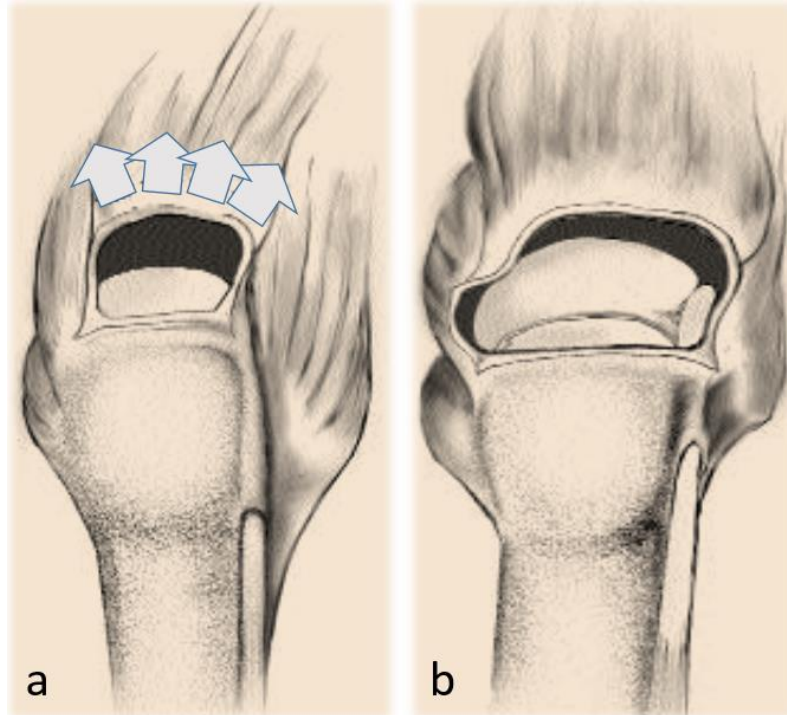


Şekil 4.9. Supraspinatus insesiyosunda transvers lineer yırtık (a), hilal şeklinde yırtık (b) (79)

Masif yırtıklar, teres minor ya da subscapularis kaslarından en az bir tanesini içine alan yırtıklardır. Bir başka deyişle en az üç adet rotator manşet tendonunu içeren yırtıklardır. 5 cm'den fazla retrakte olmuş iki tane rotator manşet tendonunun etkilendiği yırtıklar da masif yırtık olarak değerlendirilir (Şekil 4.11b).



Şekil 4.10. L-şeklinde şeklinde yırtık (a), ters L-şeklinde yırtıklar (b) (79)



Şekil 4.11. Dörtgen yırtıklar, supraspinatus ve infraspinatus uzantıları olan retrakte transvers yırtıklardır (a); dörtgen masif yırtıklarda, teres minor veya subscapularis tendonları da yırtığa katılır (b) (79)

4.3.4 Etiyolojisine göre rotator manşet yırtıkları

Neer rotator manşet yırtıklarını etiyojilerine göre gruplandırmıştır.

1. Grup: Yırtıklarının %95'inin sıkışma sendromuna bağlı geliştiği ve 40 yaş üstü bireylerde gözlemlendiği raporlanmıştır. Buna ilave olarak Neer, yırtığın süresi, ek travmalar ve rotator manşet kaslarına olan direkt zorlayıcı kuvvetlere göre de alt sınıflar belirlemiştir.
2. Grup: Travmatik yırtıklardır ve tüm yırtıkların %5'inden daha az bir kısmını oluşturmaktadır. Hastalar ise 40 yaşın altındadır.
3. Grup: Rotator aralık yırtıklarıdır. Çok yönlü omuz instabilitesi veya çıkığı sonucunda oluşur; %5'ten daha az bir orana sahiptirler ve hastalar 40 yaşın altındadır.
4. Grup: Akut glenohumeral çıkıklara bağlı gelişen yırtıklardır ve %5'ten az bir oranda görülür. 40 yaş üzeri hasta gruplarında gözlenmektedir.

Neer, bu sınıflamayı rotator manşet yırtıklarının patoloji, prognoz ve tedavi süreçlerinin belirlenmesinde kılavuz olarak kullanmıştır.

4.3.5 Büyüklüğüne göre rotator manşet yırtıkları

Rotator manşet yırtığının büyüklüğünün belirlenmesi 1-2 mm'lik debridmandan sonra en geniş açıklığın ölçülmesiyle bulunur.

Küçük yırtıklar 1 cm'den küçüktür, orta büyüklükteki yırtıklar 1-3 cm arasındadır, büyük yırtıklar 3-5 cm arasındadır, masif yırtıklar ise 5 cm'den büyüktür (80).

4.3.6 Oluş zamanına göre rotator manşet yırtıkları

Oluş zamanına göre yırtıklar; akut, subakut, kronik ve eski yırtık olarak gruplandırılmaktadır.

Akut yırtıklar 6 haftadan kısa süreli, subakut yırtıkların 6 hafta ile 6 ay arasında, kronik yırtıkların 6 ay ile 1 yıl arasında; eski yırtıkların ise 1 yıldan daha uzun süreli geçmişi vardır (80, 83).

4.3.7 Yırtığa katılan tendon sayısına göre

Harryman (80) cerrahi sırasında belirlenen yırtık tendon sayısını baz alarak bir sınıflandırma geliştirmiştir.

Tablo 4.2. Harryman' in sınıflandırması (80)

Derece 1A	Parsiyel supraspinatus yırtığı
Derece 1B	Tam kat supraspinatus yırtığı
Derece 2	Supraspinatus ve infraspinatus' un bir kısmını içeren yırtıklar
Derece 3	Supraspinatus, infraspinatus ve subskapularis' i içeren yırtıklar
Derece 4	Rotator manşet artropatisi

4.3.8 Topografik ve patolojik sınıflama

Patte (83), çeşitli birçok özelliği bir araya getirerek hem anatomik hem de patolojik olarak detaylı bir sınıflandırma sistemi geliştirmiştir.

Tablo 4.3. Patolojik sınıflandırma (83)

Grup I	Kısmi yırtıklar ya da kemikten ayrışımındaki sagittal planda 1 cm' den küçük olan tüm- cisim yırtıkları	a) Derin, parsiyel yırtıklar b) Yüzeysel yırtıklar c) Küçük, tüm-cisim yırtıkları
Grup II	Supraspinatusun tamamının tüm-cisim yırtıkları	
Grup III	Birden çok tendonu içeren tüm-cisim yırtıkları	
Grup IV	Sekonder osteoartritle birlikte masif yırtık	

Kasın kalitesi

1. En az yağ katmanı
2. Yağ oranı kasta az
3. Kas-yağ oranı aynı
4. Yağ oranı kasta fazla

Tablo 4.4. Yırtığın sagittal plandaki topografisi

Segment I	Subskapular yırtık
Segment II	Korakohumeral ligament bağı
Segment III	İzole Supraspinatus yırtığı
Segment IV	Supraspinatusun tamamı ve infraspinatusun yarısının yırtığı
Segment V	Supraspinatus ve infraspinatusun yırtığı
Segment VI	Subskapularis, spraspinatus ve infraspinatusun yırtığı

Tablo 4.5. Yırtığın frontal plandaki topografisi

Derece 1	İnseriyoda proksimal güdük
Derece 2	Kaput humeri seviyesinde proksimal güdük
Derece 3	Glenoid seviyesinde proksimal güdük

Biceps tendonunun durumu

1. Sublüksasyon
2. Sağlam
3. Diskolasyon (Çıkık)

Bu sınıflamaları tek bir sistem içinde topladığımızda, bu bilgilere yırtığın genişliği, yırtık zamanı, yırtığın humerus başı çapına oranı ve retraksiyon seviyesini ilave edebiliriz (83).

5. MATERYAL VE METOT

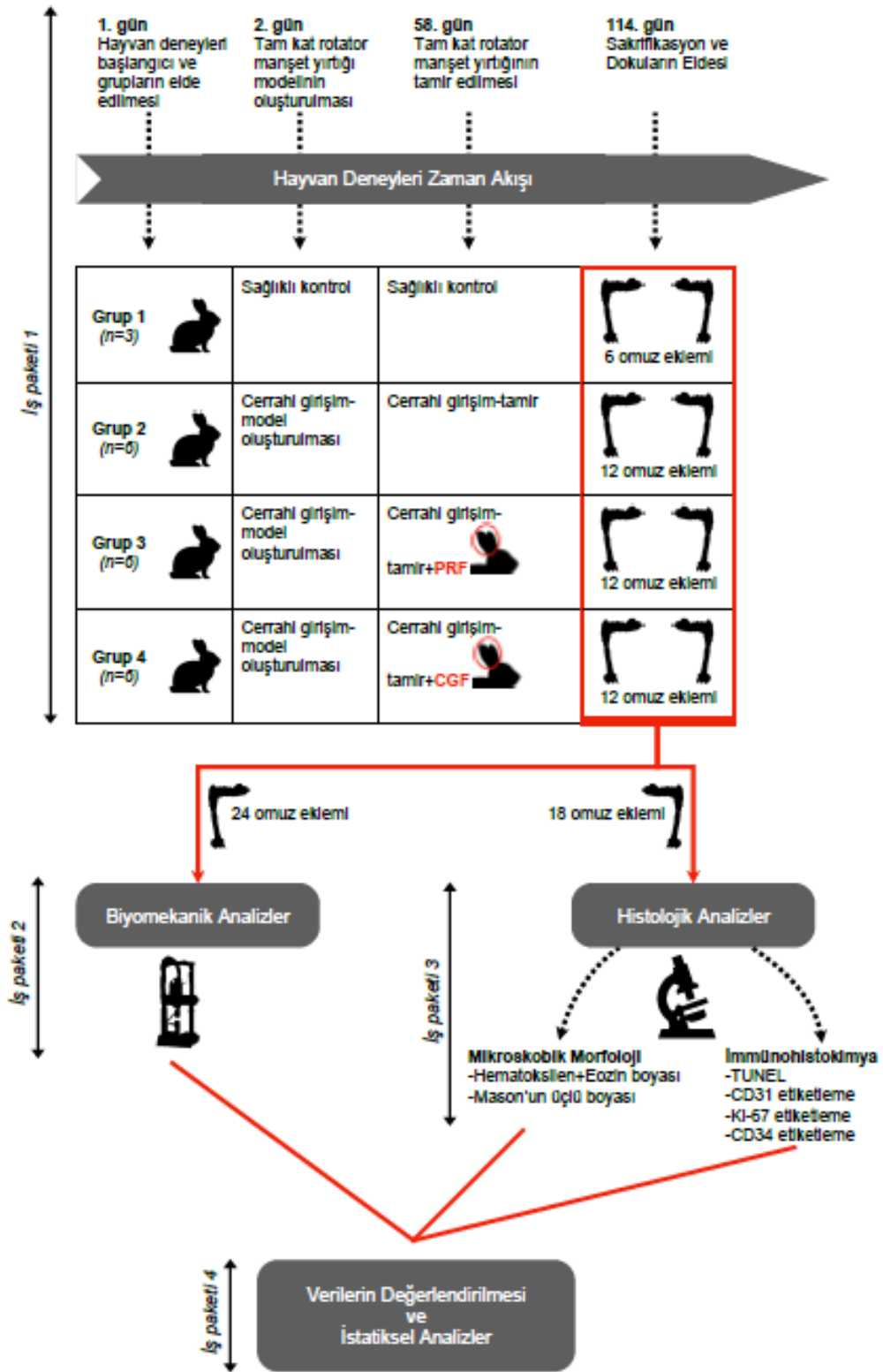
“Tam kat rotator manşet yırtığı tamirinde trombosit zengin fibrin (PRF) ve konsantre büyüme faktörü'nün (CGF) etkisinin biyomekanik, histolojik ve anatomik olarak karşılaştırılması” başlıklı projemiz 20.07.2020 tarihinde Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'u tarafından değerlendirilerek 2020/84 no'lu karar ile etik açıdan uygun bulunmuştur. Projemiz etik onayını takiben Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesindeki deney hayvanları laboratuvarında gerçekleştirildi.

Tavşanlar arasında hayvan deneylerinde en çok kullanılan ırk, beyaz Yeni Zelanda tavşanlarıdır. Beyaz Yeni Zelanda tavşanlarının taksonomik sınıflandırılması; Animalia (Alem), Vertebrata (Şube), Mammalia (Sınıf), Lagomorpha (Takım), Leporidae (Familya), Pentalagus (Cins), Oryctolagus cuniculu (Tür) olacak şekilde yapılmaktadır.

Deney gruplarında belirtilen örneklem sayısını hesaplarken en çok örnek gerektirecek olana histopatolojik skorlamayı ele aldık. Bu skorlamada standart sapmanın en fazla 1 birim olabileceğini öngördüğümüzde ve yine 1 birimlik farka önem atfettiğimizde 4 grupluk modelimiz için %95 güven ve %80 güç düzeyinde her gruba 6 tavşan ve 12'şer omuz örneği gerektiği hesaplandı.

5.1 Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Çalışmada, ağırlıkları 2,8-3,5 kg 21 adet yetişkin Yeni Zelanda cinsi tavşan kullanıldı. Hayvanların erişebildikleri kadar yem ve su imkânıyla, 22±3°C ortam sıcaklığı ve %55-65 nem koşullarında, 12/12 saat aydınlık-karanlık döngüsü altında bakımları sağlandı. Gruplar arasında ortalama kilo ve yaş olarak homojen ve standardize dağılım sağlandı (Şekil 5.1). İnsanlarda en sık yırtık oluşan rotator manşet kası m. supraspinatus'tur. Biz çalışmamızda hem tavşanlarda rotator manşet kasları arasında en geniş tendona sahip olması hem de m. supraspinatus tendonuna anatomik benzerliğinden dolayı m. subscapularis tendonunu tercih ettik (38, 40, 84).



Şekil 5.1. Deneysel hayvanların gruplandırma ve uygulanan işlemler

5.2 Anestezi ve Cerrahi İşlem

Tavşanlara cerrahi işlem öncesi intramüsküler 35 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul) ve 5 mg/kg Xylazine (Rompun®, Bayer, İstanbul) verilerek anestezi uygulandı. Preoperatif cerrahi enfeksiyon proflaksisi için birinci kuşak sefalosporin (sefazolin sodyum, Sefazol, Mustafa Nevzat İlaç Sanayii A.Ş. Yenibosna-İSTANBUL) 50 mg/kg dozda kas içi yolla uygulandı. Postoperatif analjeziyi sağlamak için ise Meloxicam (Bavet Meloxicam Arion İlaç San. Tic. A.Ş. Tuzla/İSTANBUL) 0,2 mg/kg subkutan yolla uygulandı. Genel anestezi derinliği kontrol edildikten sonra her iki omuz bölgesi tıraş makinesi ile tıraşlanarak temizlendi. Bölge lokal antisepsi kurallarına uygun boyama (Batticon, Adeka İlaç San. ve Tic. A.Ş. Maslak / İSTANBUL) ve örtüm sonrası cerrahi için hazır hale getirildi (Resim 5.1).



Resim 5.1. Asepsi kurallarına uygun olarak cerrahi bölgenin lokal hazırlığı

Her iki omuz bölgesi de literatürde belirtildiği gibi 2 cm'lik bir insizyon ile cilt ve cilt altı fasya geçildi (Resim 5.2). Deltopektoral bir yaklaşımla m. subscapularis tendonu tanımlandı ve tuberculum minusten ayrılarak serbestlendi. Kendiliğinden yapışmasını önlemek için tendonun serbest ucuna bir penroz dren yerleştirildi. Fasya 3-0 emilebilir örgülü bir sütür ile kapatıldı (Vicryl; Ethicon, Somerville, NJ, USA). Cilt 3-0 kalıcı Prolene sütür ile kapatıldı (Ethicon). Ameliyat sonrası, ameliyat edilen omuzlarda herhangi bir immobilizasyon uygulanmadan kafeslerinde serbest hareketlerine izin verildi (9). İşlem uygulanan 18 tavşan 3 gruba ve işlem uygulanmayan 3 sağlıklı kontrol grubu olacak şekilde, hayvanlar randomize seçilerek 4 gruba ayrıldı.



Resim 5.2. Eklem bölgesinde 2 cm'lik vertikal cilt insizyonu



Resim 5.3. Cilt ve cilt altı fasya geçildikten sonra deltooid kasa ulaşım



Resim 5.4. Deltooid kası geçildikten sonra subscapularis kası ve tendon bağlantısı



Resim 5.5. Subscapularis kası ekleme tutunma bölgesinden tam kat kesilerek serbestlenmesi



Resim 5.6. Subscapularis tendonunun kesilmiş hali



Resim 5.7. Çevre dokulara yapışmaması için tendonun serbest ucu penroz dren ile tespit edildi



Resim 5.8. Penroz drenin sabitlenmesi



Resim 5.9. Deltoid kası ve fasya kapatıldı



Resim 5.10. Cilt 3-0 kalıcı Prolene sütür ile kapatıldı (Ethicon)

- **Grup 1 (Sağlıklı kontrol grubu):** Herhangi bir cerrahi işlem uygulanmadı. (n=3)
- **Grup 2 (Tamir grubu):** Her iki omuzda da yırtık sonrası sadece tamir uygulandı. (n=6)
- **Grup 3 (PRF grubu):** Tam kat kronik yırtık modeli sonrası tamir+PRF uygulandı. (n=6)
- **Grup 4 (CGF grubu):** Tam kat kronik yırtık modeli sonrası tamir+CGF uygulandı. (n=6)

Tam kat rotator manşet yırtığı modeli oluşturulduktan sonra 8 hafta sonra grup 1 hariç tüm hayvanlar tekrar ameliyat edildi. Önceki cerrahi yaklaşımla, penroz drene ulaşıldı ve uzaklaştırıldı. Her iki omuz transosseöz yöntemle dikilerek manşet tamiri yapıldı (85).



Resim 5.11. Subscapularis tam kat yırtığının transosseöz tekniği ile primer tamiri

Otolog PRF ve CGF elde edilerek Grup 1 hariç tavşanların her iki omuzundaki tamir bölgelerine uygulandı. Fasya ve cilt daha önceki cerrahi prosedürde anlatıldığı gibi kapatıldı. Çalışma süresince deney hayvanlarında lokal veya sistemik bir enfeksiyon durumu yaşanmadı.

5.3 PRF ve CGF Elde Edilmesi ve Uygulanması

Mekanik tamire ek olarak PRF ve CGF olası iş birliğinin görülebilmesi amacıyla Grup 3 ve Grup 4'teki tavşanların operasyon öncesi kulak venlerinden her iki omuz uygulaması için toplamda 20 ml kan alındı. Kendi kanlarından hazırlanmış jel formatında olan PRF ve CGF elde edildi. Sonrasında tamir uygulanan bölgelere lokal olarak uygulandı.

5.3.1 PRF elde edilmesi ve uygulanması

Otolog PRF elde edilmesi için işlem öncesi her tavşanın kulak veninden 10 ml kan antikoagülan içermeyen tüplere alındı. PRF, venöz kandan tek santrifüj ile üretilen ikinci nesil trombosit agregasyonu fibrin bakımından zengin bir jeldir. Santrifüjlemeden sonra, orta tabaka en düşük seviyedeki kırmızı kan hücrelerinden elde edilir ve neredeyse hiç trombosit içermez, yukarıda bir plazma tabakası vardır. Bu çalışmada kan otolog kanlar alınarak tüplere konuldu. Örnek tüpleri santrifüjde 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüjlendi. Santrifüjleme sırasında hemostaz fenomeni kan örneğini katmanlarına ayırır ve bu katmanlardan biri trombosit ve plazma içeren bir fibrin katmanı olan PRF olarak elde edilir (86).

5.3.2 CGF elde edilmesi ve uygulanması

CGF hazırlanması için öncesinde otolog venöz kan tavşanların kulak venlerinden alınarak steril antikoagülan içermeyen kan tüplerine koyuldu. Her bir omuz için 10 ml venöz kan alındı. Bu tüpler daha sonra CGF hazırlığında özel olarak kullanılan bir santrifüj cihazı ile (Medifuge; SilfradentSrl, Sofia, İtalya) 12 dakika boyunca 3000 rpm'de hemen santrifüj edildi. Santrifüjlemenin sonunda tüp içerisinde 4 katman oluştu; en üst katman fibrinojen içermeyen kan plazması ve koagülasyon faktörlerini içeren tabaka, 2. katman yoğun fibrin tabakası, 3. katman büyüme faktörlerini, kök hücreleri ve lökositleri içeren tabaka, en alt katman ise eritrositleri içeren tabaka olacaktır. 2. ve 3. katman bu çalışmada kullanıldı. Bu tabakalar diğerlerinden bir

makas yardımıyla ayrılarak tamir bölgesine lokal olarak uygulandı (27).



Resim 5.12. Santrifüj işlemi sonrası CGF'nin ayrılması

5.4 Sakrifikasyon ve Dokuların Eldesi

Hayvanlar 8 haftalık takip süresinin sonunda, genel anestezi altında yüksek doz xylazine HCL ve ketamine HCL'in intrakardiyak enjeksiyon yoluyla uygulanması sonucunda sakrifiye edildi. Sakrifikasyon sonrasında humerus ve subscapularis kası eksize edildi. Diğer tüm yumuşak dokular ve kemik dokular ise izole edildi. Sağlıklı kontrol grubu 3 tavşan toplam 6 adet omuz eklemi olarak alındı ve 3 adet doku histolojik inceleme, diğer 3 adet omuz eklemi dokusu ise biyomekanik inceleme için alındı. Çalışma gruplarında ise her grupta 6 tavşan 12 omuz eklemi dokusu izole edildi. Bunlarında 5 tanesi histoloji, 7 tanesi ise biyomekanik inceleme için ayrıldı. Histolojik inceleme için alınan dokuların mikroskobik yapılarını koruması amacıyla tamponlu %4'lük formaldehit çözeltilerine alınarak fiksatif işlemi gerçekleştirildi. 48 saat formaldehit solüsyonunda bekletilen dokular ardından dekalsifiye solüsyonuna alındı. Bu aşamada sert doku yumuşayana kadar bir iğne yardımı ile kontrol edilerek dekalsifikasyon işlemi gerçekleştirildi. Ardından dokular, dehidrasyon amacıyla önce sırasıyla %70, %90, %96, %100'lük alkol serilerinden geçirildi ve şeffaflaştırma işlemi için ksilen, sonrasında ise parafine alındı. Daha sonra dokular saf parafin içerisinde

bloklar halinde gömüldü. Her bir bloktan tendon seviyesinden geçecek şekilde 4 µm'lik kesitler alındı.

Biyomekanik inceleme için alınan dokular, scapula ve humerus eklem yapısı ve tendon bağlantısı korunacak şekilde blok halinde alındı. Islak steril sargı bezi ile sarılarak -40°C derin dondurucuda saklandı.

5.5 Histolojik Değerlendirme

5.5.1 Histokimyasal boyamalar

Hematoksilen ve eozin boyaları histolojide sıklıkla dokuların mikroskopik morfolojilerinin gösterilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bazı bir boya olan hematoksilen çekirdekleri mor renge boyarken asidik özellikteki eozin ise sitoplazmayı pembe renge boyar. Deney gruplarından elde edilen kesitlerde hematoksilen ve eozin (H&E) boyaları yapılarak hücreler histomorfolojik olarak değerlendirildi. Ayrıca ekstraselüler matriksin mikroskopik morfolojisinin daha iyi incelenebilmesi amacıyla elde edilen kesitlere mason üçlü boyaması uygulandı. Mason üçlü boyama yönteminde hücrelerin çekirdekleri ve sitoplazmaları kırmızı-kahverengi tonlarında, tip I kolajen demetlerini ise açık yeşil renkte boyayacak kombine boyalar kullanılmaktadır. Supraspinatus tendonunun bağ dokusunun ekstraselüler matriksinde bolca tip I kolajen demetleri bulunduğundan dolayı (87) yeşil renkte ortaya konan bağ dokusu histomorfolojik değerlendirmelerde kullanıldı. Bu sayede farklı deney grupları arasında ekstraselüler matriksin morfolojik olarak değerlendirilmesi yapıldı.

H&E ve mason üçlü boyamaları; Histoloji ve Embriyoloji AD, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi laboratuvarında rutin olarak uygulanan yöntem takip edilerek gerçekleştirildi. Kısaca kesitler önce parafinden arındırılmak amacıyla 58°C'de eritilerek ksilende bekletildi. Ardından hidrasyon (sırasıyla %100, %96, %90, %70'lik alkol, distile su serisi) aşaması uygulandı ve boyama aşamasına geçildi. H&E için hematoksilen ile çekirdekler mor hale gelinceye kadar boyandı ve çeşme suyuna alınarak morartma işlemi gerçekleştirildi. Distile suya alınan kesitler daha sonra eozine koyularak sitoplazmaları boyanana kadar gözlemlendi. Mason üçlü boyaması için ise kesitler pons boyasına alınarak çekirdekler boyandı ardından orange G boyasıyla sitoplazmalarının boyanması sağlandı. Son

olarak ise açık yeşil boyasına alınarak bağ dokusu boyandı. Boyamalar arasında yıkama işlemleri gerçekleştirildi. Her iki boyama için son basamakta distile suya alınan örnekler daha sonra dehidrasyon (%70, %90, %96, %100'lük alkol serileri) işlemi gerçekleştirildi. Dehydrate olan kesitler entellan ile kapanarak ve ışık mikroskobunda araştırmacılar tarafından incelendi.

Histomorfolojik skorlamalar ışık mikroskobu (Olympus, BX61, Japan) altında Watsin skorlaması yöntemi kullanılarak yapıldı (88-90). Buna göre H&E ve Mason yönlemleri ile boyanmış doku kesitlerindeki sellülarite ve vaskülarite için 1 en fazla, 4 en azı ifade edecek şekilde skorlandı. Bunun yanı sıra fibrosit, hücrelerin paralel oryantasyonu, büyük diameterdeki lifler ve liflerin paralel oryantasyonu 1 %25'ten az, 2 %25-50 arası, 3 %50-75 arası ve 4 %75'ten fazla olacak şekilde 1'den 4'e kadar skorlandı. Bunların yanı sıra tendonun kemiğe bağlandığı alanda; kolajen devamlılığı, fibrokartilaj doku ve tidemark gelişimi göz önüne alınırılarak ortalama 1 en az 4 en fazla olacak şekilde 1'den 4'e kadar skorlandı. Ayrıca tendonun kemiğe bağlandığı alanda; kemik ya da kolajenez büyüme ile devamlılık görülmediyse 1, kemik büyümesi görüldü anca fibrokartilaj hücreleri ile devamlılık görülmedi ise 2, kemik büyümesi ve fibrokartilaj hücreleri ile devamlılık görüldü ancak tidemark görülmediyse 3, kemik büyümesi, fibrokartilaj hücreler ve tidemark ile devamlılık gözlemlendiyse 4 numara verilerek skorlandı. Daha sonra tüm bu skorlanan verilerek her bir hayvan için toplanarak analiz edildi.

Tablo 5.1. Modifiye Watkins skorlaması (88-90)

Madde	Skor (Puanlar)
<u>Sellülarite</u>	İşaretlenmiş (1), orta (2), hafif (3), en az (4)
<u>Fibrositler</u>	< %25 (1), %25-%50 (2), %50-%75 (3), >%75 (4)
<u>Paralel diziliimli hücreler</u>	< %25 (1), %25-%50 (2), %50-%75 (3), >%75 (4)
<u>Vaskülarite</u>	İşaretlenmiş (1), orta (2), hafif (3), en az (4)
<u>Büyük çaplı lifler</u>	< %25 (1), %25-%50 (2), %50-%75 (3), >%75 (4)
<u>Paralel diziliimli lifler</u>	< %25 (1), %25-%50 (2), %50-%75 (3), >%75 (4)
<u>Tendon kemik geçişi</u>	<u>Tendon kemik geçişi</u> , kemik veya kollajenöz büyüme olmaksızın sürekliliğe sahiptir (1) <u>Tendon kemik geçişi</u> , kemik büyümesi ile süreklilik gösterir, fakat <u>fibrokartilaj</u> hücreleri yoktur (2) <u>Tendon kemik geçişi</u> , kemik büyümesi ve <u>fibrokartilaj</u> hücreler ile süreklilik gösterir ancak <u>tidemark</u> yoktur (3) <u>Tendon kemik geçişi</u> , kemik büyümesi, <u>fibrokartilaj</u> hücreleri ve <u>tidemark</u> ile süreklilik gösterir (4)
<u>Tendon kemik geçişi</u>	
<u>Kollajen devamlılığı</u>	< %25 (1), %25-%50 (2), %50-%75 (3), >%75 (4)
<u>Fibrokartilaj doku</u>	Hiç (1), en az (2), işaretlenmiş (3)
<u>Tidemark gelişimi</u>	Hiç (1), en az (2), işaretlenmiş (3)

5.5.2 İmmünohistokimyasal boyamalar

Terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) dUTP nick-end etiketleme yani kısa adıyla TUNEL, apoptotik hücrelerin tespit edilmesinde kullanılan bir testtir. TUNEL testlerinde TdT, apoptotik parçalanma sonucu DNA'nın körelmiş uçlarını in situ olarak işaretlemektedir (91, 92). Kesitlerde apoptoza uğramış hücrelerin analizi TUNEL yöntemiyle yapılarak deney grupları arasındaki farklılık aynı zamanda apoptoz bakımından değerlendirilmesi hedeflendi. Ki67 ekspresyonu önemli oranda tümör hücre proliferasyonu ile ilişkilendirilmekte ve patolojide bu bağlamda sıklıkla marker olarak kullanılmaktadır (93). Elde edilen dokulardaki farklı alanların proliferasyon bakımından incelenmesi amacıyla Ki67 immünohistokimyasal boyama yapıldı ve Ki67 ekspresyon oranları lokalizasyona göre incelendi. Neovaskülarizasyonun analizi amacıyla CD31 işaretlemesi yaygın olarak immünohistokimyada kullanılmaktadır (94). Ayrıca deney sonucunda oluşan neovaskülarizasyon ile ilişkili yapıların araştırılması amacıyla kesitlere CD31 işaretlemesi yapıldı. Son olarak kök hücre belirteci olarak kullanılan CD34 işaretlemesi yapılarak dokulardaki pozitiflik oranları değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal boyamalar; Histoloji ve Embriyoloji AD, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi (İUC) laboratuvarında, satın alınan ticari kitlerin FFPE (Formalin-Fixed Parafin) protokolleri dikkate alınarak uygulandı. Kesitler önce parafinden arındırılmak amacıyla 58°C'de eritilerek ksilende bekletildi. Ardından hidrasyon (sırasıyla %100, %96, %90, %70'lik alkol, distile su serisi) aşaması uygulanarak protokole başlandı. Her basamak arasında PBS ile yıkanmak üzere dokular sırasıyla; sitrat buffer içerisinde mikrodalgada antijen iyileştirme, peroksidaz aktivitesinin bozulması ve serum uygulanması (arka plan boyanmasının bloklanması), uygun primer antikörün uygulanması, primer antikora uygun sekonder antikörün uygulanması, HRP uygulanması ve kromojen olarak 3'3-Diaminobenzidine (DAB) uygulanması olacak şekilde protokol takip edildi. Kesitlere zıt boyama olarak Mayer'in hematoksileni uygulandı ve entellan ile dokular kapatıldı. İmmünohistokimyasal boyamalar histoloji alanında bir uzman araştırmacı tarafından değerlendirilirken, TUNEL boyamaları çift-kör araştırmacı tarafından ışık mikroskobu altında x20 objektif kullanılarak rastgele 5 alandaki görüntüde % olarak pozitif hücreler skorlandı.

5.6 Biyomekanik Değerlendirme

Dokular, 20-25°C oda sıcaklığında çözdürülerek biyomekanik inceleme için hazır hale getirildi. Subscapularis kası ve humerus kompleksi, uygun bir açı ile tek eksenli biyomekanik cihazına yerleştirildi (MTS Mini Bionix II). Subscapularis tendonu, 2 mm aralıklarla her iki taraftan toplam 5 kez geçecek şekilde 5 numara sütün (ETHIBOND ®) ile tespit edildi ve cihazdaki sensöre bağlandı. Eklem abdüksiyonunu uyarmak için humerus diyafizine dik ve scapular düzleme paralel olarak humerus üzerine çekme lineer kuvveti uygulandı. Test protokolüne göre, 2 dakikalık 10 Newton ön yüklemenden sonra, 0.25 Hz frekans ile 5 ile 50 N arasında 60 yükleme döngüsü uygulandı. Test protokolüne göre, 2 dakikalık 10 Newton ön yüklemenden sonra, 0.25 Hz frekans ile 5 ila 50 N arasında 60 yükleme döngüsü uygulandı. Yük-gerginlik eğrisinde ani bir düşüş, kemik dokunun kırılması veya yumuşak dokuda tam yırtıkların oluşması başarısızlık olarak değerlendirildi.

5.7 İstatistiksel Analiz

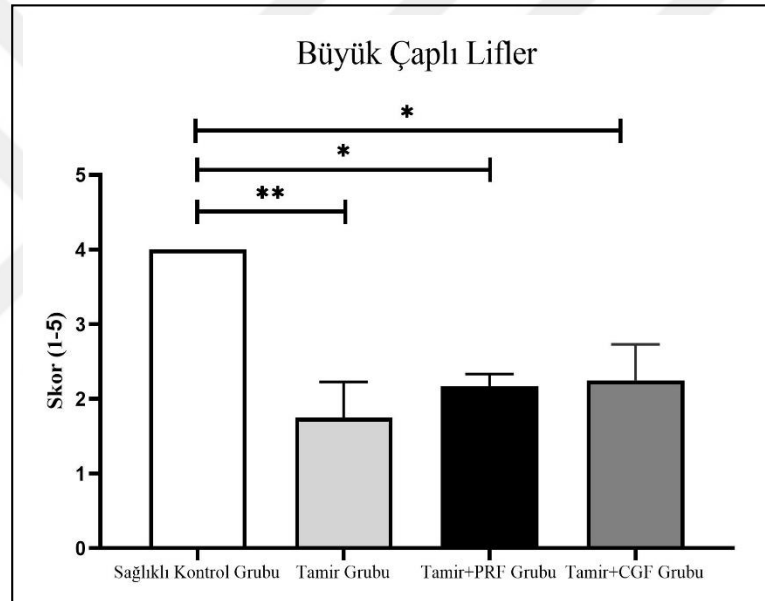
İstatistiksel değerlendirmeler GraphPad Prism 8.4.3 yazılım versiyonu (GraphPad Software, Inc. CA, ABD) kullanılarak yapıldı. Histoloji verileri değerlendirilirken grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. Kruskal-Wallis varyans analizinde alt grupların ikişerli karşılaştırılması ise Dunn testi ile yapıldı. Biyomekanik verilerin değerlendirilmesinde iki faktörlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. İki faktörlü varyans analizinde alt grupların ikişerli karşılaştırılmasında ise Dunn testi kullanıldı. Tüm değerlendirmeler için $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1 Histolojik Bulgular

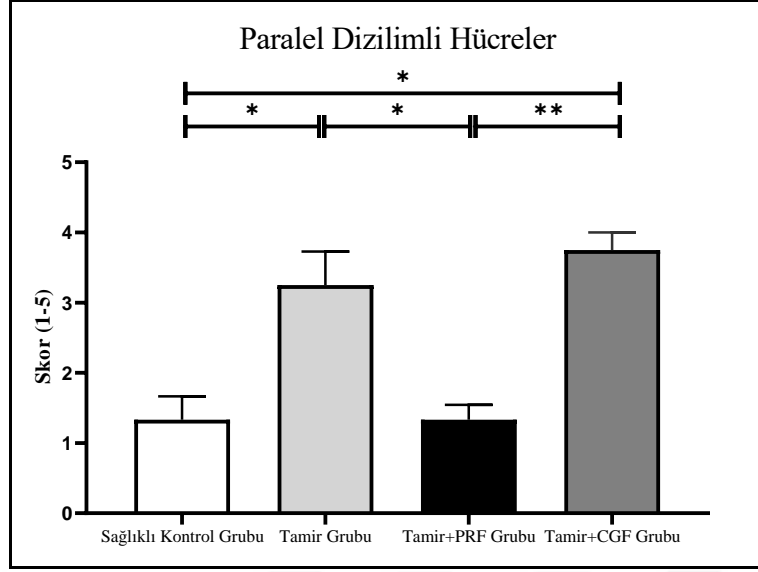
6.1.1 Hematoksilen&Eozin ve Mason'un üçlü boyaması

Gruplarda gözlemlenen büyük çaplı lifler incelendiğinde tüm gruplarda sağlıklı kontrol grubuna göre azalma gözlemlenirken, bu azalmanın yalnızca tamir grubunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0,05$).



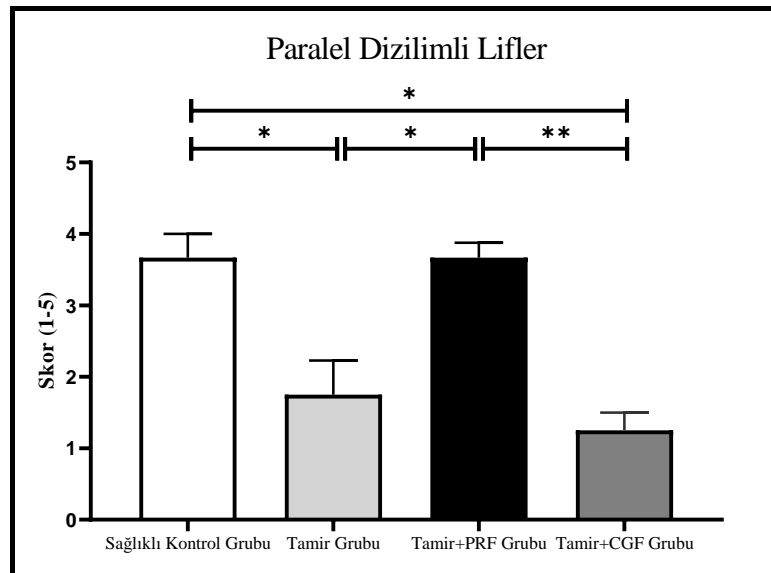
Şekil 6.1. Büyük çaplı lifler dağılımı. * = $p<0,05$, **= $p<0,01$

Hücrelerin paralel dizilimi skorlandığında ise tamir grubundaki artış istatistiksel olarak sağlıklı kontrol ve tamir+PRF grubuna göre fazla olduğu ($p<0,05$), ancak tamir+CGF ile arasında herhangi bir istatistiksel fark olmadığı gözlemlendi. Bunun aksine ilginç olarak tamir+CGF grubundaki skorda artış görüldü. Ayrıca bu artışın sağlıklı kontrol ($p<0,05$) ve tamir+PRF ($p<0,01$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu anlaşıldı.



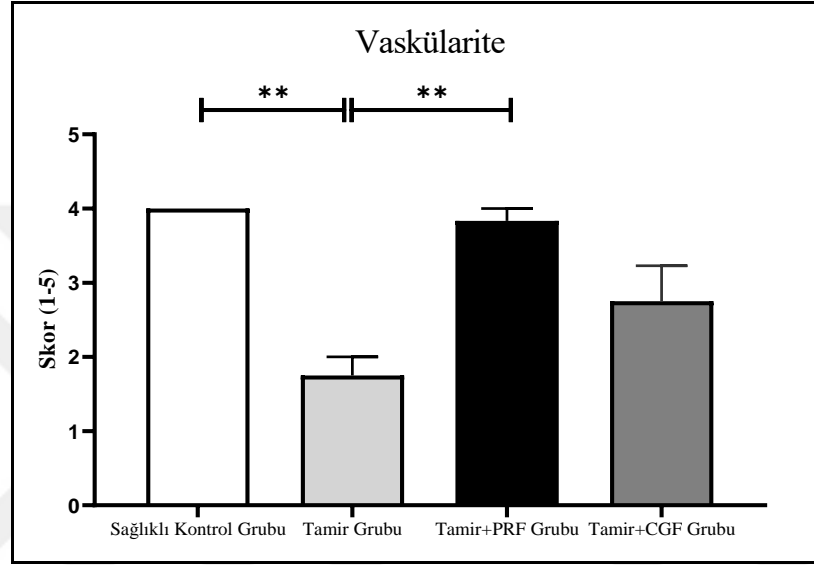
Şekil 6.2. Paralel dizimli hücreler dağılımı. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$

Paralel dizimli liflerin skorlamasında ise sağlıklı kontrol grubunun tamir grubuna ve tamir+CGF grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha fazla olduğu görüldü ($p < 0,05$). Tamir+PRF grubunda da sağlıklı kontrol grubuna benzer şekilde bu iki grup arasındaki anlamlı sonuç dikkat çekici bir bulgu olarak gözlemlendi (tamir grubuna göre $p < 0,05$, tamir+CGF grubuna göre $p < 0,01$).



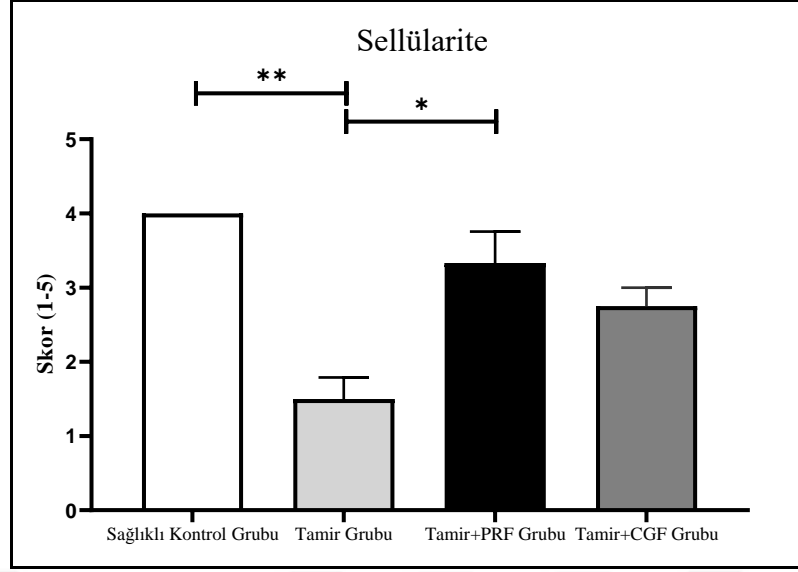
Şekil 6.3. Paralel dizimli liflerin dağılımı. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$

Sağlıklı kontrol ve tamir+PRF gruplarındaki vaskülaritenin tamir grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark yaratması önemli bir bulgu olarak not alınırken ($p<0,01$), tamir+CGF grubundaki vaskülarite oranının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.



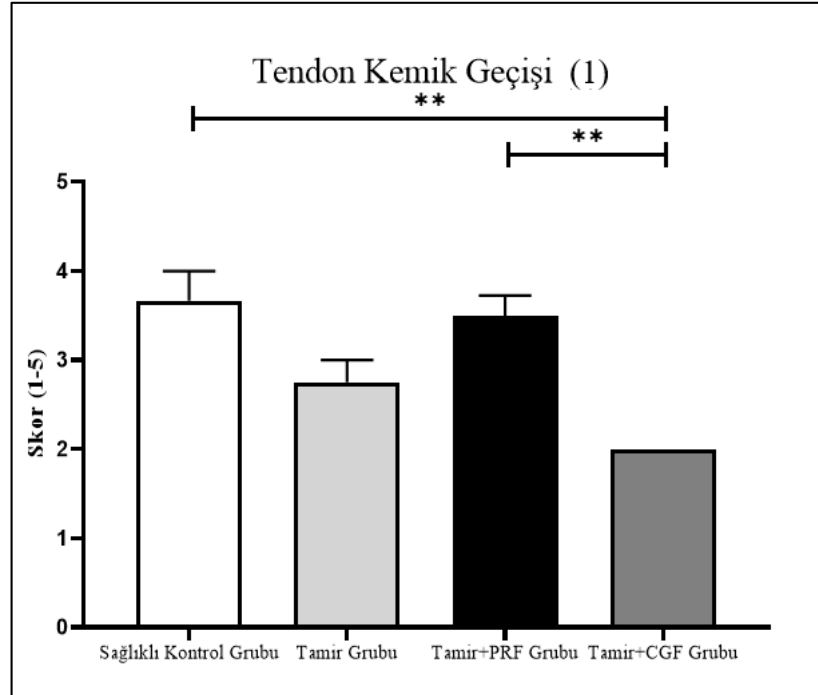
Şekil 6.4. Vaskülarite düzeylerinin değerlendirilmesi. **= $p<0,01$

Sellülarite açısından da bu bulgulara paralel bir şekilde sağlıklı kontrol ve tamir+PRF gruplarındaki skorların tamir grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu (sırasıyla $p<0,01$ ve $p<0,05$) görüldü.



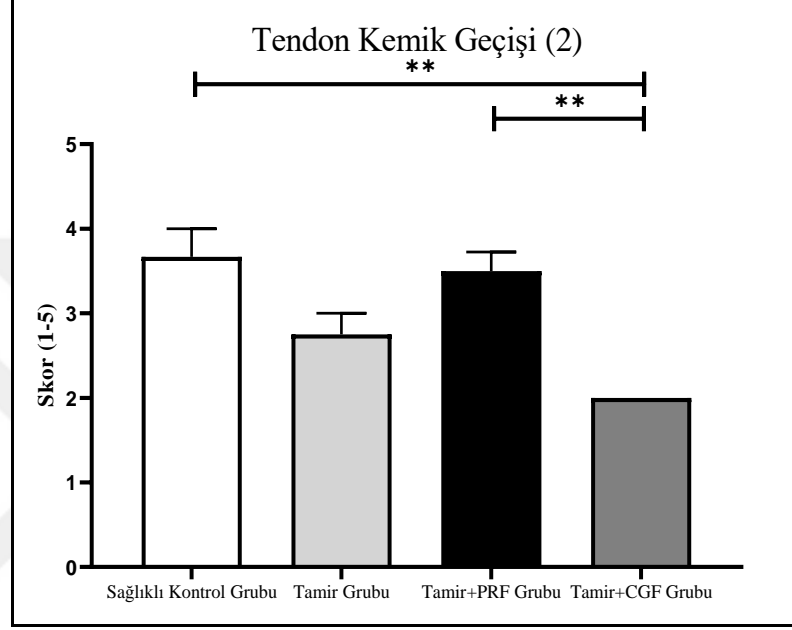
Şekil 6.5. Sellülarite düzeylerinin değerlendirilmesi. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$

Tendon kemik geçişi (1) açısından ilginç olarak tamir grubundaki azalmanın sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir anlamlılık göstermediği, ancak tamir+CGF grubunun hem sağlıklı kontrol hem de tamir+PRF grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık gösterdiği anlaşıldı ($p < 0,01$).



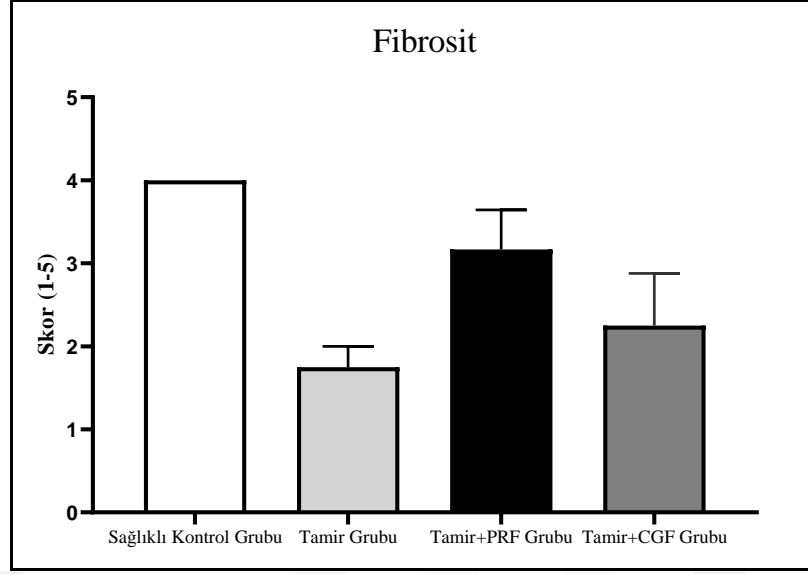
Şekil 6.6. Tendon kemik geçişi (1). ** = $p < 0,01$

Tendon kemik geçişi (2) değerlendirildiğinde de gruplarda benzer bir sonuç olarak tamir+CGF grubunun skorlamasında hem sağlıklı kontrol hem de tamir+PRF grubuna göre istatistiksel olarak azaldı ($p<0,01$).



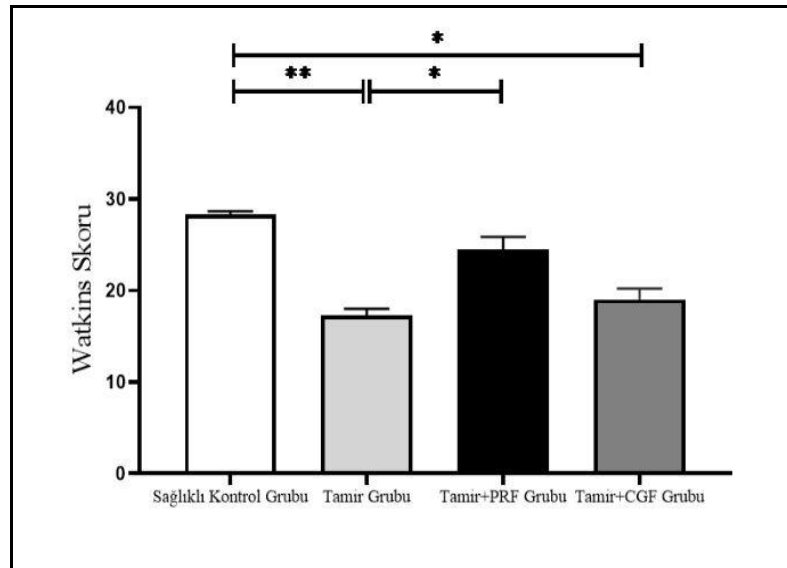
Şekil 6.7. Tendon kemik geçişi (2). **= $p<0,01$

Fibrosit skorlamasında en çok sağlıklı kontrol grubu ve tamir+PRF grubunda artış görülmüştür. Tamir+CGF grubundaki artış ise tamir grubunun önündedir. Ancak gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark görülmedi ($p>0,05$).

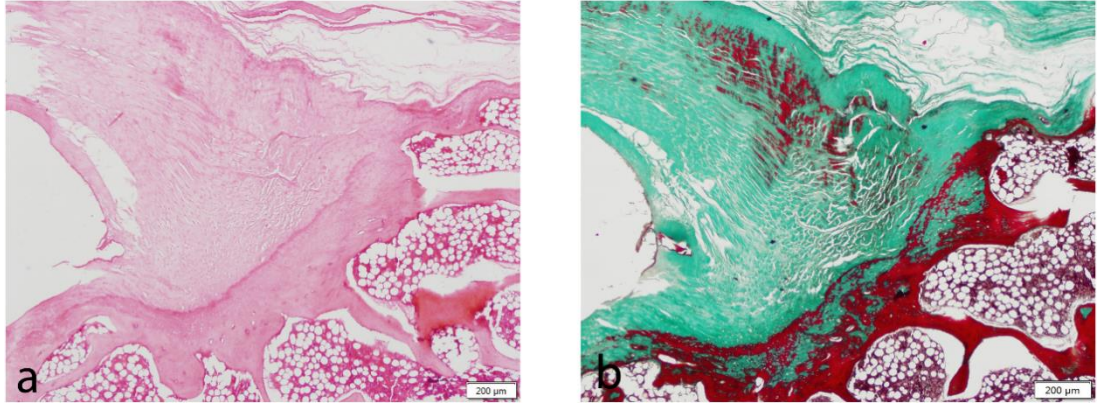


Şekil 6.8. Fibrosit düzeylerinin değerlendirilmesi.

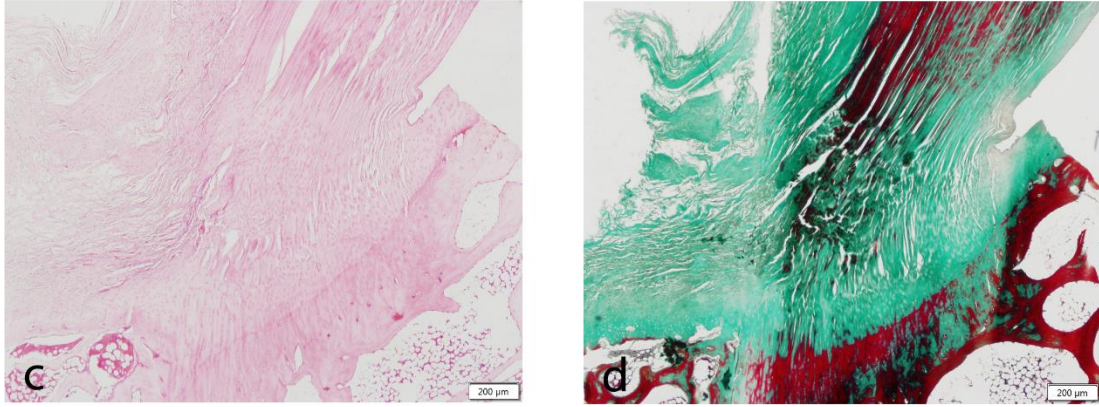
Son olarak tüm bu değerler yöntem kısmında anlatıldığı üzere toplanıp Modifiye Watkins skoru olarak değerlendirildiğinde (88-90), tamir ve tamir+CGF gruplarındaki skorlamasının sağlıklı kontrol grubuna kıyasla istatistiksel bir şekilde azaldığı (sırasıyla $p < 0,01$ ve $p < 0,05$). Ancak tamir+PRF grubundaki azalmanın sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değişmediği, bunun yanı sıra tamir grubu arasındaki farkta istatistiksel olarak bir anlamlılık olduğu görüldü ($p < 0,05$).



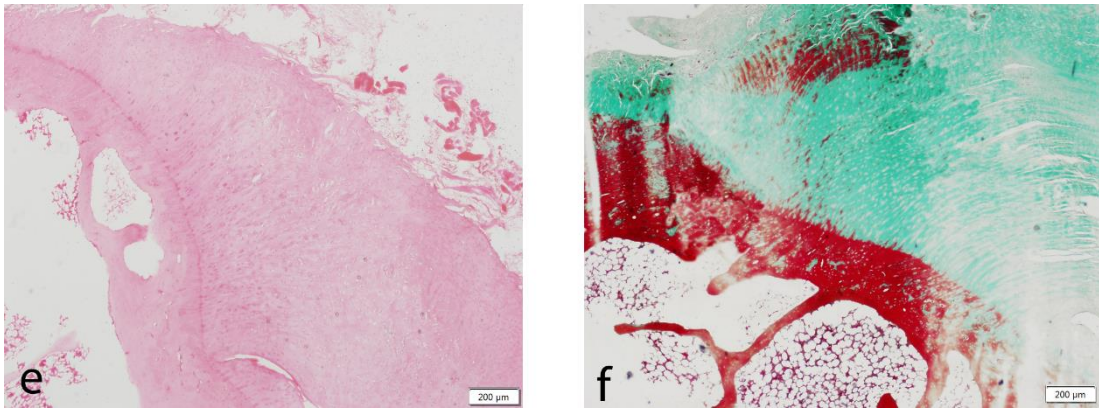
Şekil 6.9. Modifiye Watkins skoru'nun dağılımı. * = $p < 0,05$, **= $p < 0,01$



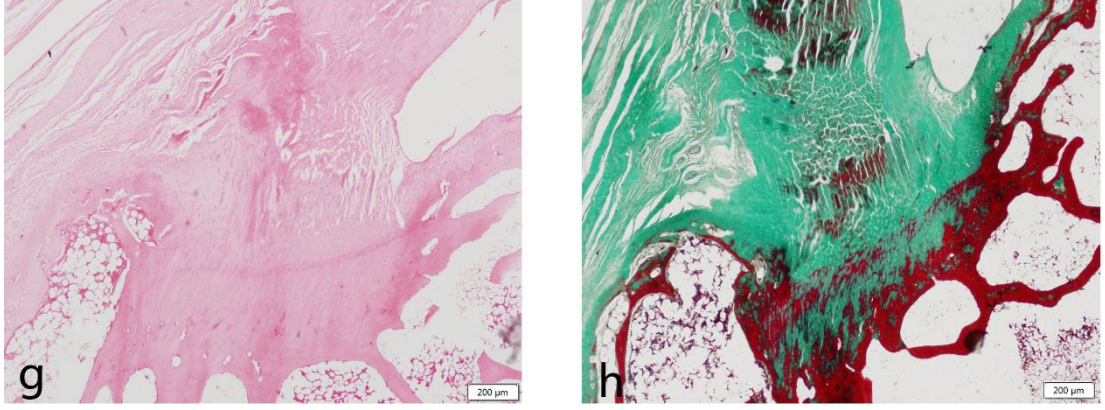
Şekil 6.10. Sağlıklı kontrol grubundan alınmış temsili Hematoksilen&eozin (a) ve Mason'un üçlü boyaması (b) yapılmış doku görüntüleri. Ölçek 200 µm.



Şekil 6.11. Tamir grubundan alınmış temsili Hematoksilen&eozin (c) ve Mason'un üçlü boyaması (d) yapılmış doku görüntüleri. Ölçek 200 µm.



Şekil 6.12. Tamir+PRF grubundan alınmış temsili Hematoksilen&eozin (e) ve Mason'un üçlü boyaması (f) yapılmış doku görüntüleri. Ölçek 200 µm.



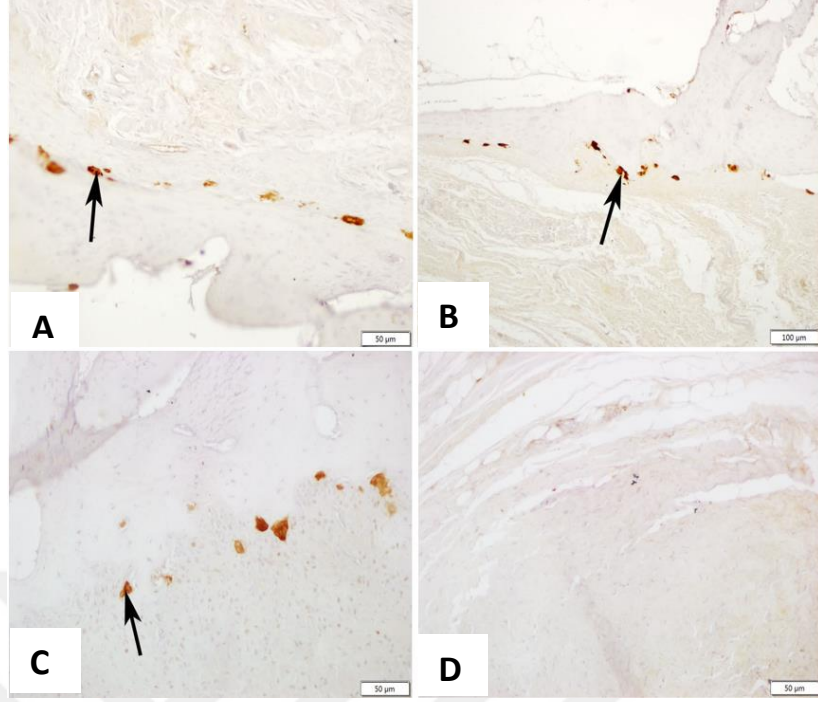
Şekil 6.13. Tamir+CGF grubundan alınmış temsili Hematoksilen&eozin (g) ve Mason'un üçlü boyaması (h) yapılmış doku görüntüleri. Ölçek 200 µm.

6.1.2 KI-67 immunohistokimya bulguları

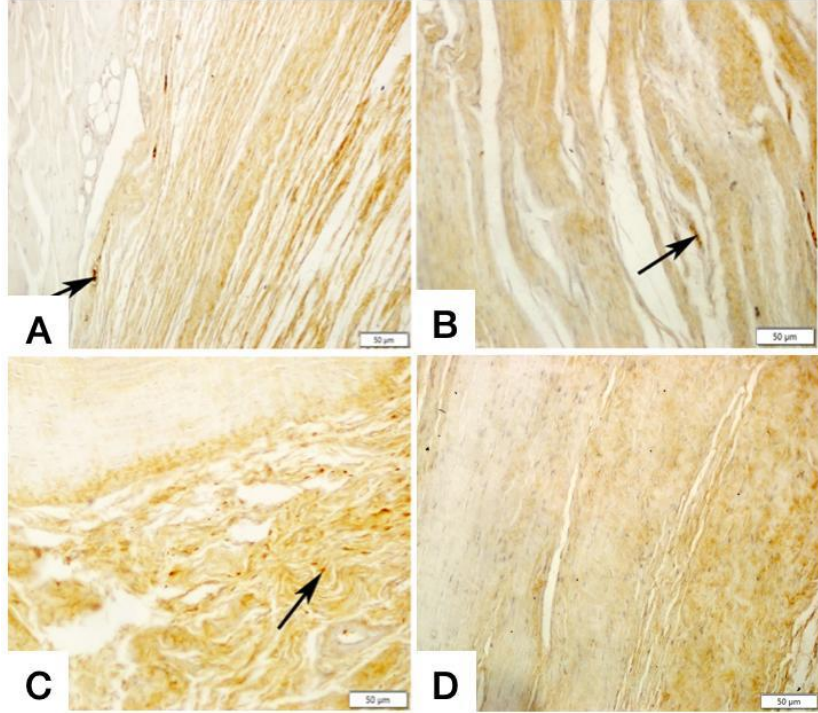
Tüm gruplarda Ki67 (+) hücreler özellikle kemik tendon bağlantı bölgesinde, kemik iliğinde ve bağ dokuda gözlendi. Ayrıca, kontrol ve PRF grubunda; Ki67 (+) hücreler tendon bağlantı bölgesinde fazla sayıda gözlendi. PRF grubunda; Ki67 (+) hücreler diğer bölgelere ek olarak ayrıca periosteumda ve tendonun bağlantı bölgesinde de gözlendi. CGF grubunda Ki67 (+) hücreler çok sayıda gözlenmedi.

6.1.3 CD34 immünohistokimya bulguları

Tüm gruplarda, tendon kemik bağlantı noktasında pozitif hücreler görüldü. Fakat tamir grubunda CD34 (+) hücreler bağ dokuda daha fazla sayıda görüldü. PRF grubunda ise diğer gruplardan farklı olarak CD34 (+) hücreler tendon dokusunda gözlendi.



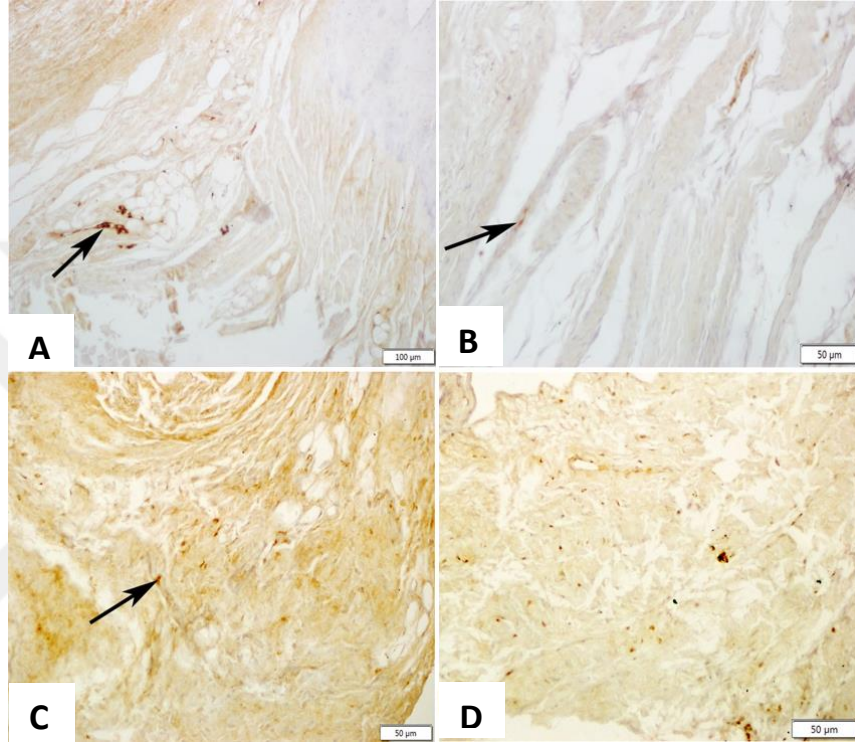
Şekil 6.14. Ki67-Sağlıklı kontrol (A), Tamir (B), Tamir+PRF (C) ve Tamir+CGF (D) gruplarında immünpozitif hücreler. Ölçek 50 µm.



Şekil 6.15. CD34-Sağlıklı kontrol (A), Tamir (B), Tamir+PRF (C) ve Tamir+CGF (D) gruplarında immünpozitif hücreler. Ölçek 200 µm.

6.1.4 CD31 immünohistokimya bulguları

Tüm gruplarda, tendon kemik bağlantı noktasında çok nadir alanlarda pozitif hücreler görüldü. CD31 (+) hücreler diğer immun işaretlemelere göre daha nadir alanda rastlandı. Gözlenen CD31 (+) hücreler daha çok bağ dokuda gözlemlendi.

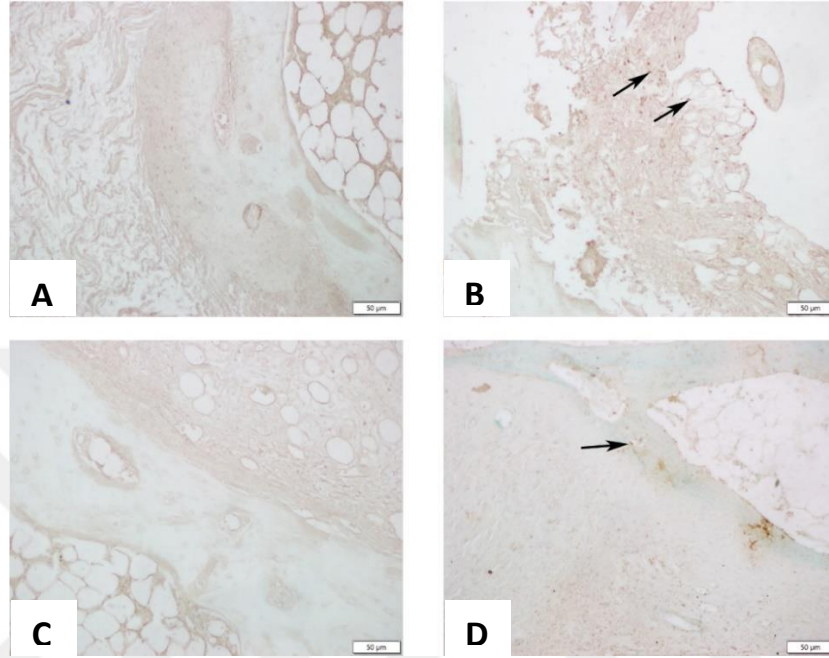


Şekil 6.16. CD31-Sağlıklı kontrol (A), tamir (B), tamir+PRF (C) ve tamir+CGF (D) gruplarında immünpozitif hücreler. Ölçek 50 µm.

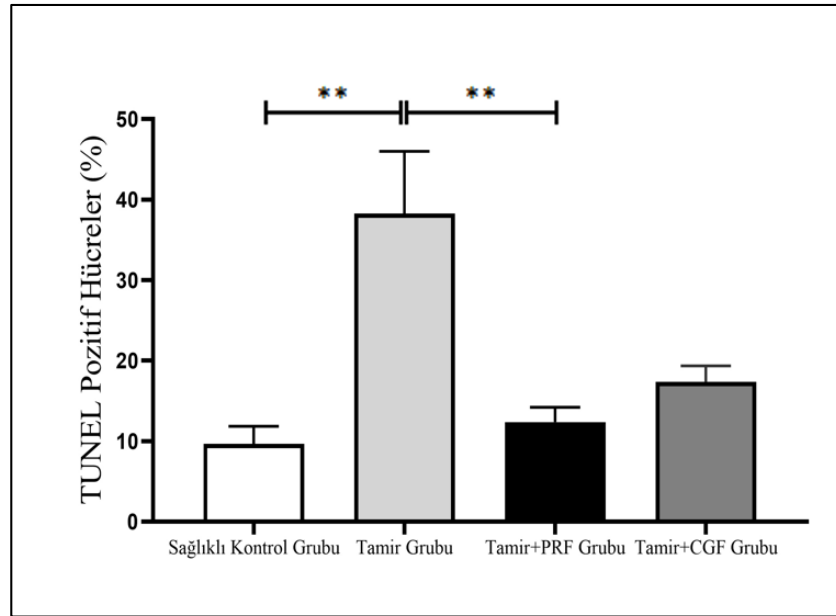
6.1.5 TUNEL bulguları

TUNEL pozitif hücreler kontrol grubunda fazla gözlenmedi. Özellikle Tamir grubunda TUNEL pozitif hücreler bağ dokuda ve tendon hasar bölgelerinde yerleşmiş olarak gözlemlendi. Diğer gruplarda nadir alanlarda pozitif hücreler gözlemlendi. TUNEL (+) hücreler en fazla oranda tamir grubunda olduğu gözlemlenirken (%38,25 ± 7,74), sağlıklı kontrol grubundaki bu oranın %9,66 ± 2,17 olduğu anlaşıldı. Tamir grubundaki bu artışın sağlıklı kontrol grubuna istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (p<0,01). PRF grubundaki TUNEL (+) oranının (%12,37 ± 1,82) yalnızca tamir grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı (p<0.01) görülmesine

rağmen, CGF grubuna ait değerin ($17,36 \pm 2$) herhangi bir grup ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değişmediği anlaşıldı.



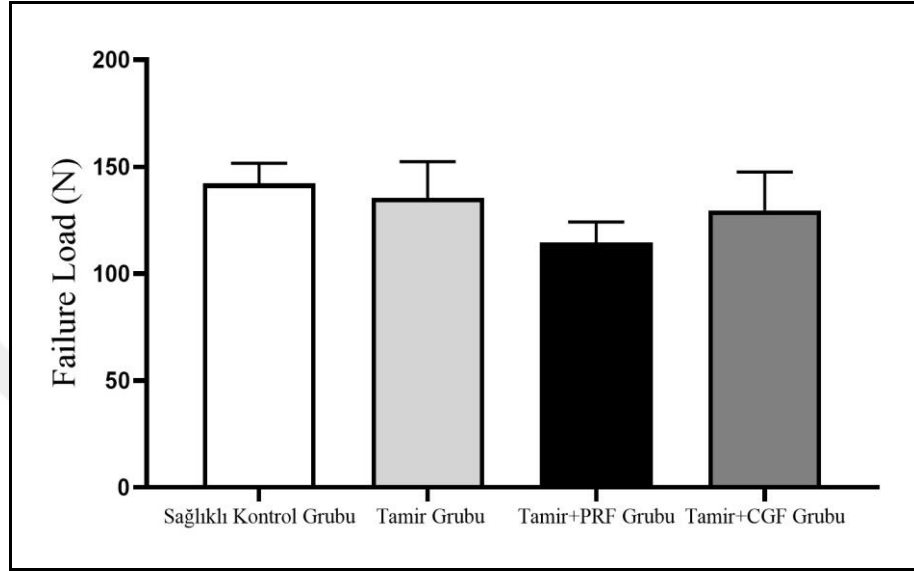
Şekil 6.17. TUNEL: Sağlıklı kontrol (A), tamir (B), tamir+PRF (C) ve tamir+CGF (D) gruplarında TUNEL pozitif hücreler (ok) gözlenmektedir. Ölçek: 50 µm.



Şekil 6.18. TUNEL pozitif hücreler (%). ** = $p < 0,01$

6.2 Biyomekanik Bulgular

Biyomekanik testler için deney gruplarından (tamir+CGF, tamir+PRF ve tamir) 7, sağlıklı kontrol grubundan ise 3 omuz deneye dâhil edildi.



Şekil 6.19. Failure Load (Kopma kuvveti) verilerinin karşılaştırılması

Tendon-kemik bağlantısına kuvvet uygulanarak bölgedeki mukavemet ölçülmüştür. Tendon-kemik kopma kuvvetleri belirlenerek tedavi grupları mukavemet açısından sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Ancak yapılan değerlendirme sonucunda istatistiksel farklılık bulunamamıştır ($p=0,6404$). İkili karşılaştırma analiz sonuçlarında da anlamlı fark bulunamamıştır. Bununla birlikte histoloji verilerinin aksine tamir+CGF grubundaki tendon-kemik bağlantısının direncinin diğer tedavi grupları ile karşılaştırıldığında daha iyi olduğu saptanmıştır.

7. TARTIŞMA

Rotator manşet yırtıkları oldukça yaygın görülen ve bireylerin günlük hareketlerini olumsuz yönde etkileyen bir sorundur. Kliniğe yansması en sık omuz ağrısı şikâyeti ile olmaktadır. Omuz ağrısının etiolojisinde instabilite, donuk omuz, tendinit, kalsifiye tendinozis gibi başka birçok etken olmakla birlikte en sık neden rotator manşet yırtıklarıdır. Bunlara ilave olarak rotator manşet yırtıklarının insidansı yaşla birlikte artmaktadır. 18-74 yaş arası bireyler arasında yapılan bir araştırmada toplam 96 örneklem/omuz deneye katılmıştır. Çalışmada hastaların %34'ünde supraspinatus kasında parsiyel yırtık tespit edilmiş ve yırtık boyutunun yaşla birlikte orantılı bir şekilde arttığı görülmüştür (95).

Rotator manşet yırtıkları birçok sebepten kaynaklanabilir. Yaşın ilerlemesi ile birlikte travma, tekrarlı mikrotravma, hipovaskülarite, dejenerasyon ve subakromiyal sıkışma sendromu bu sebeplerden bazılarıdır (96). Rotator manşet yırtıklarının tamiri sonrası ortaya çıkan enflamasyonun doku iyileşme süreci üzerinde oldukça etkin olduğu bilinmektedir. Enflamasyon, tendon iyileşmesinin erken döneminde hücre göçü ve hücre olgunlaşmasını kapsar. Bu süreçte fibroblastların sayısında hızlı bir artış olur, yeni kolajen fiberleri oluşur ve hücre / matriks oranı yeniden şekillenir (97). İyileşmenin bu aşamasında oluşabilecek sorunlar, beraberinde nüks ve morbidite artışı getirmektedir. Olası nüks durumları, klasik cerrahi yaklaşımı destekleyici nitelikte tedavi alternatiflerinin geliştirilmesini sağlamıştır. Bu amaçla, hücre proliferasyonunun hızlanmasını ve matriks yoğunluğunun artmasını destekleyen büyüme faktörlerini yoğun şekilde içeren kanın farklı ara elemanları kullanılmış ve iyileşmeye olan katkıları karşılaştırılmıştır.

Rotator manşet yırtıklarının tedavileri geleneksel yöntemlerle yapılırken, tanı yöntemlerinin ilerlemesi ve yeni teknolojik gelişmelerle tedavide büyük oranda gelişim sağlanmıştır. Bu tedavi yaklaşımları konservatif ya da cerrahi olabilmektedir (98). Konservatif tedaviye yönelik yapılan bir araştırmada Petri ve arkadaşları (99) fizik tedavi, kortikostreoid kullanımı, hyaluronik asit kullanımı ve PRP enjeksiyonu gibi cerrahi dışı tedavi yaklaşımları içeren çalışmalarını karşılaştırmışlardır. Ameliyatsız medikal tedavilerin karşılaştırıldığı bu derlemede yer alan çalışmalardan birinde Contreras ve arkadaşları (100) ortalama 22 aylık takip süresi olan ve 49 hastadan oluşan bir kohortta, subakromiyal kortikosteroid enjeksiyonundan sonra parsiyel

rotator manşet yırtıklarına ilişkin bölgesel ağrı veya harekette kısıtlılık gibi klinik belirtilerin azalmasında %40 oranında başarısızlık tespit etmişlerdir. Bu bulguların iyileştirilmesi anlamında başarı oranı, erkeklerde (%76), kadınlara (%45) göre daha yüksekti. Fakat yaş, el becerisi, semptomların süresi ya da herhangi bir klinik puanlama, ameliyatsız tedavinin başarısızlığı açısından öngörülebilir bir faktör değildir. Gialanella ve arkadaşları (101), semptomatik rotator manşet yırtıkları olan hastalarda intraartiküler triamsinolon enjeksiyonlarının etkisi üzerine 60 hastayı içeren randomize kontrollü bir klinik çalışma gerçekleştirmişlerdir. Triamsinolon enjeksiyonunun tek doz uygulamasından sonra ortalama 3 aylık bir sürede, kontrol grubuna kıyasla ağrıya azalmaya sebep olduğu, bununla birlikte 3 hafta sonra tekrarlandığında ise olumlu bir katkı sağlamadığını belirlemişlerdir. Shibata ve arkadaşları (102) rotator manşet yırtığı olan 78 hasta üzerinde, 25 mg sodyum hiyaluronat (SH grubu) ile 2 mg deksametazon (steroid grubu) enjeksiyonlarını karşılaştıran randomize bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Enjeksiyonlar ardışık 5 hafta boyunca haftada bir kez tekrarlanmış, ortalama 6 aylık takipte, tedavideki başarı oranları karşılaştırılmıştır. Çalışma sonunda SH grubunda %39,5, steroid grubunda ise %35'lik bir başarı oranı gözlemlenmiştir. Ameliyatsız tedavi seçeneklerini araştıran diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında, bu oldukça düşük bir başarı oranıdır.

Rotator manşet yırtıklarının tedavisinde PRP kullanımı ise bu konuda yapılan çalışmaların büyük bir bölümünde, cerrahi tedaviye ek olarak PRP uygulanması ve etkinliğinin araştırılması şeklinde yapılmıştır. Ameliyatsız tedavide tek başına PRP uygulanması ve etkilerini araştıran çalışmalar oldukça yetersizdir.

Rotator manşet tendon yırtıklarının tamirinde en sık tercih edilen ortopedik prosedürlerden birisi de cerrahi tedavidir (103). Konservatif tedavi ile cevap alınamayan kısmi rotator manşet yırtıklarında ve hemen hemen bütün tam kat yırtıklarda cerrahi tedavi planlanmaktadır. Cerrahi tedavi yaklaşımları; açık veya mini-açık cerrahi yöntemler ile tamir ve artroskopik tamirler (transosseöz, çift dikiş vs.) olarak sayılabilir (104, 105). Hawi ve arkadaşları (106) rotator manşet yırtığında debridman yöntemini, Spiegl ve arkadaşları (107) tek sıra tamir sürecini ve Mook ve arkadaşları (108) çift sıra tamiri tanımlamışlardır. Artroskopik rotator manşet tamirinin sonuçlarının açık ve yarı açık cerrahi seçeneklerle benzer olduğu ve daha az morbiditeye neden olduğu belirtilmektedir (109-112). Cerrahi tedavi sonrası en sık

karşılaşılan komplikasyon, tamirin yetersizliğine bağlı ya da cerrahi sonrası gelişen enflamasyon gibi süreçlerin oluşmasına bağlı tekrarlayan yırtıklardır (113, 114). Cerrahi sonrası nüks riski her ne kadar yeni yöntemlerle azaltılsa da kolajen yapının güçlenmesi ya da biyolojik süreçlerin iyileşmesini sağlayan alternatif uygulama arayışlarını beraberinde getirmiştir. Alternatif uygulamalar arasında en popüler yaklaşımlar, farklı santrifüj teknikleri ile kandan elde edilen PRP, PRF ya da CGF gibi kanın farklı ara yüzleridir.

Çalışmamızda, tendon hasarına ilişkin değerlendirdiğimiz başlıca histopatolojik değişiklikler; paralel dizilimli hücreler, paralel dizilimli lifler, büyük çaplı lifler, vaskülarite, sellülarite, tendon-kemik geçişi ve fibrositlerdir (88, 115, 116). Rotator manşet yırtıkları sırasında meydana gelen histopatolojik değişiklikleri daha iyi anlayabilmek için yapılan bir çalışmada, artroskopik rotator manşet onarımı sırasında supraspinatus kasından ve karşılaştırma yapabilmek adına aynı tarafın sağlam olan deltoid kasından biyopsiler alınmıştır (117). Araştırmacılar, supraspinatus kasının liflerinde atrofi, fibrozis ve vasküler yoğunlukta azalma tespit etmişlerdir. Bununla birlikte vasküler endotel büyüme faktöründe (VEGF, $p<0.01$), kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artış belirlenmiştir. Bu çalışma, cerrahi onarımla birlikte supraspinatus kasında büyümeyi ve vaskülarizasyonu teşvik eden, fonksiyonel sonucu iyileştirmeyi hedefleyen ilave tedavi yöntemlere ihtiyaç olduğunu ortaya koymuştur. Sıçanlarda supraspinatus tendon yırtığının iyileşme sürecine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, CGF ve PRF'nin yapısında bulunan büyüme faktörlerinden olan IGF-1 ve TGF- β , tendon-kemik bağlantı bölgesine uygulanmıştır. Hücre proliferasyonu ve vaskülarite artışı ile fibroz onarım dokusu üretimi tespit etmişlerdir (118). Gürger ve arkadaşları (115) tavşanlarda rotator manşet yırtığı modeli oluşturarak, cerrahi onarımı PRP ve ozon ile desteklemişlerdir. Histolojik açıdan yaptıkları incelemede, PRP uygulanan gruplarda, tek başına tamir uygulanan gruba göre farklı derecelerde vaskülarite ve sellülarite artışı olduğunu ancak bu artışların ozon gruplarındaki artıştan daha belirgin olduğunu belirlemişlerdir. Yalnız ozon ve ozon ile PRP'nin birlikte kullanıldığı gruplarda kolajen organizasyonunda gözle görülür derecede artış ve tendon kemik geçişinin sağlıklı tendona en yakın sonucu verdiği tespit edilmiştir. Tendon iyileşme sürecinde cerrahi onarıma ilave olarak kullanılan en iyi ek uygulamanın PRP olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur

(116, 119-121). Deneysel çalışmalarda elde edilen bu olumlu etkiler klinik çalışmalarda her zaman gözlenmez. Bu nedenle klinik pratikte PRP'nin etkinliği konusunda bir fikir birliği yoktur (122-127). Snow ve arkadaşları (128) rotator manşet onarımı sonrası PRP uygulamasının hastaların fonksiyonel sonuçlarını ve 1 yıl sonraki skorlamalarını iyileştirmediğini tespit etmişlerdir. Zhao ve arkadaşları (129) lökositten fakir PRP uygulamasının, yırtık boyutu ve onarım yönteminden bağımsız olarak, orta ve uzun vadede ameliyat sonrası yeniden yırtılma oranını önemli ölçüde azalttığını, ancak ameliyat sonrası ağrı ve fonksiyonel sonuçlar üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını belirlemişlerdir. Bu nedenlerden dolayı çalışmamızda PRF ve CGF'yi kullandık. Klinik etkinliği farklı çalışmalar ile ortaya konmuş ancak halen hakkında kafa karışıklığı olan PRF ile bu alanda ilk defa denenecek CGF'yi karşılaştırarak, CGF'nin kronik süreçte tendon iyileşmesine katkısını ortaya koymayı amaçladık.

PRF, 2001 yılında J. Choukroun tarafından Fransa'da, antikoagülan madde ve pıhtılaşma faktörlerini gerektirmeyen yenilikçi bir yöntem kullanılarak keşfedildi. İkinci nesil trombosit konsantrasyonu olarak adlandırılan PRF'nin geleneksel bir yöntem olan PRP'den daha fazla büyüme faktörü içerdiği gösterilmiştir (130). *In vitro* çalışmaları, *in vivo* hayvan deneyleri ve klinik makaleleri içeren bir derlemede PRF'nin tedavideki başarı durumu değerlendirilmiştir (131). Bu değerlendirmede PRF'nin özellikle kıkırdak onarımı, rotator manşet cerrahisi ve ön çapraz bağ cerrahisi gibi ortopedi alanındaki tedavi yaklaşımlarında iyileşme sürecini olumlu yönde etkileyebileceği düşünülmektedir. Ancak farklı çalışmalar ele alındığında hem PRF hazırlama protokollerindeki hem de doz ayarlanması sürecindeki farklılıklar nedeniyle etkinliği ile ilgili farklı veriler bildirilmiştir. Buna rağmen, literatür verileri PRF'nin genellikle kas, tendon, kemik veya diğer yumuşak dokuların kronik yaralanmalarında faydalı bir adjuvan olarak kullanımını desteklemektedir. PRF'nin tedavideki olumlu etkisinin net olarak ortaya konması için daha fazla klinik deneye, PRF hazırlığında tutarlılık ve standardizasyona ve klinik sonuçların başarılı bir şekilde sınıflandırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

CGF, 2006 yılında Sacco tarafından geliştirilen bir PRF türevidir (132). CGF, PRF'ye nazaran daha güncel bir yaklaşımdır ve PRF'den çok daha büyük, daha yoğun ve daha zengin bir büyüme faktörü fibrin matriksi içerdiği yayınlarda belirtilmiştir (132, 133). Ancak bu yayınlarda, çalışmamızın ana grubunu oluşturan CGF'nin tendon

kemik iyileşmesi üzerindeki etkinliği ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanmamaktadır. CGF, günümüzde kemik grefti yerleştirme ile implant yerleştirme arasındaki süreyi kısaltmak ve kemik grefti ile implant tedavisinin başarı oranını artırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (134-136). CGF'nin kemik iyileşmesi üzerine etkileri tavşanlarda yapılan bir çalışma ile incelenmiş ve mikro-ct ile radyolojik ve histolojik analizler yapılmıştır (137). Erken ve geç dönem değerlendirilmesi yapılan bu çalışmada, CGF'nin geç dönem iyileşmede kontrol grubuna göre daha başarılı olduğu ve oluşan yeni kemik hacminin erken döneme göre daha iyi olduğunu belirlemişlerdir. Bir diğer çalışmada benzer bir deneysel modelleme oluşturularak erken dönem ve geç dönem grupları membran kalınlığı, elastik lif oranı, membran vaskülarizasyonu ve anjiyogenezis (CD31), enflamasyon, proliferasyon (Ki67) ve kök hücre varlığı (CD34) açısından histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak karşılaştırılmıştır (138). Her iki dönemde de CGF gruplarına ait verilerin, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında önemli düzeyde artış gösterdiği ve kemik iyileşmesi sürecine olumlu katkı yaptığını tespit etmişlerdir.

Tez çalışmamızda histopatolojik ve immünohistokimyasal veriler değerlendirildiğinde en iyi sonuç tamir+PRF grubunda elde edilmiştir. Tamir+CGF grubu, sadece cerrahi onarım yapılan gruba oranla daha iyi sonuç vermiştir ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Pulatkan ve arkadaşları (88) tavşanlarda kronik rotator manşet yırtığı oluşturarak, tedavide farklı cerrahi teknikleri karşılaştırmışlar ve uzun dönem iyileşme sürecini değerlendirmişlerdir. Watkins skorlamasına göre yaptıkları histopatolojik incelemelerde vaskülaritede anlamlı derecede azalma, paralel dizilimli lifler, büyük çaplı lifler, paralel dizilimli hücreler ve fibrositlerde ise istatistiksel olarak anlamlı artış olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmamızın uzun dönem iyileşme bulguları histopatolojik yönden Watkins skorlamasına göre hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar literatür verileri ile uyumluluk göstermektedir. Tamir+PRF uygulanan grupta, vaskülarite ve sellülaritede istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma, paralel dizilimli hücreler, paralel dizilimli liflerde ise artış tespit edilmiştir. Kwon ve arkadaşları (139) tam kat rotator manşet yırtık tamir modelinde insan göbek kordonu kanından elde edilen mezenkimal kök hücreleri ile polideoksiribonukleotid kombinasyonun kullanıldığı bir çalışmada VEGF ve CD31 (anjiyogenezis) düzeylerinde artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise

CD31 hücreleri tüm gruplarda görüldü. Ancak gruplar arasında anlamlı derecede fark saptanamamıştır. Proliferasyon belirteci olan Ki67 hücreleri ve kök hücre belirteci olan CD34 hücreleri, tamir+PRF grubunun tendon kemik bağlantı bölgesinde tamir+CGF grubuna kıyasla daha fazla sayıda gözlemlenmiştir. Tamir+PRF grubunda, CD34 hücreleri diğer gruplardan farklı olarak tendon dokusunda da bulunmuştur. İmmun işaretlemeleri bu sonuçlar ışığında genel olarak değerlendirirsek, tedaviye olumlu etki anlamında Tamir+PRF grubunun diğer tedavi grubuna oranla daha olumlu etki yaptığı ancak istatistiksel anlamlılık açısından daha fazla denekle analizlerin yapılmasına ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

Hücre yıkımlarının karşılaştırılmasına ilişkin yaptığımız literatür taramasında; Osti ve arkadaşları (140) *in-vitro* çalışmalarda, rotator manşet'in dejeneratif yırtık tendon numunelerinde, tendon türevlerinin hiyalüronik asit'e maruz bırakılması sonucu kolajen tip I ve tip III sentezini uyaran ve azaltan bir etkiyle apoptoz oranında azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. Yüksek dozlarda kortikosteroid uygulaması (1 mg/ml triamcinolone acetonide), rotator manşetten türetilen tenositlerin canlılıklarını uzun süre baskılayarak ve apoptozisi teşvik ederek geri dönüşü olmayan etkilere neden olmaktadır. Kortikosteroid, kaspaz-3, 7, 8 ve 9'un mRNA ekspresyonlarını artırır, bu da hem endojen hem de eksojen hücre yıkım yollarının aktive olduğunu gösterir. Daha düşük dozlarda kortikosteroid uygulandığında ise (0,1 mg/ml triamcinolone acetonide), 3 hafta içinde tendonlar üzerinde geri dönüşümü mümkün olmayan etkilere neden olduğu görünmektedir. Bu da yeniden kortikosteroid uygulamasında güvenli zaman aralığı için 3 haftadan daha uzun aralıkları düşündürmektedir (141, 142). Bu çalışma hücre yıkımının kontrolünü sağlamak adına kortikosteroid'in dozu kadar uygulama süresinin de ne kadar önemli olduğunu ortaya koymuştur.

Rotator manşet tendonlarının yırtıklarında enjeksiyon yoluyla lidokain uygulaması değerlendirildiğinde sitotoksositeye neden olduğu, biyomekanik özellikleri azalttığı, hücre yıkımını arttırdığı ve kolajen organizasyonunu geciktirdiği tespit edilmiştir (143). Kim ve arkadaşları (144) kendiliğinden birleşen peptit (SAP) + PRP'nin, kolajen yapısını güçlendirerek, inflamatuvar değişiklikleri ve hücre yıkımını azaltarak rotator manşet yırtığı tedavisinde etkili olabileceğini göstermişlerdir. Muto ve arkadaşları (142) *in-vitro* PRP ilavesi ile kortikosteroid enjeksiyonu neticesinde

ortaya çıkan zararlı etkilerin ve hücre yıkımının önlendiğini doğrulamışlardır. Diğer taraftan, Carr ve arkadaşları (145), artroskopik acromion plastisi ile birlikte PRP'nin de uygulandığı, 60 hastayı içeren randomize kontrollü bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada, acromion plastisinin, 2 yıla kadar uzun vadeli klinik sonuçları önemli ölçüde iyileştirdiğini ancak PRP'nin birlikte uygulanmasının klinik sonuçları etkilemediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca PRP ile tedavi edilen hastalardan alınan tendon biyopsilerinde, sellülarite ve vaskülaritenin azaldığını, p53 protein seviyesinin yükselmesine bağlı hücre yıkımının ise arttığını ortaya koymuşlardır. Crisci ve arkadaşları (146) yaptıkları bir çalışmada trombositlerin antiapoptotik etki gösterdiğini ve hücre yıkımı ile hücre sağkalımı arasındaki dengeyi düzenleyebildiklerini ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızda ise hücresel yıkımın en fazla görüldüğü grup, tamir grubudur ve sağlıklı kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p < 0,05$). Tamir+PRF grubu değerlendirildiğinde, PRF'nin hücre yıkımını önemli ölçüde azalttığı ve tamir grubu ile yaptığımız ikili karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Tamir+CGF grubu ile tamir grubu karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark olmamasına rağmen, tamir+CGF grubunun hücre yıkımına pozitif yönde katkı sağladığı ve hücre yıkımını azalttığı görülmüştür.

Çalışmamızda, mekanik bir test aracı kullanılarak, tendon gerilim mukavemeti ve sertliği ölçüldü. Deney gruplarımız olan tamir+PRF ve tamir+CGF, sağlam tendon ve sadece tamir uygulanan gruplar ile karşılaştırıldı. Çalışmamızı literatürde yer alan benzer çalışmalara göre değerlendirdiğimizde; Chaler ve arkadaşları (147) tavşanların supraspinatus tendonunu iki farklı cerrahi yöntemle onararak, iyileşme sürecini biyomekanik açıdan karşılaştırmışlardır. Anchor uygulaması ve transosseöz tekniğin karşılaştırıldığı bu çalışmada tavşanlar 0., 1., 2., 4. ve 6. haftalarda sakrifiye edilerek deney sonlandırılmıştır. 0. ve 1. haftada yapılan biyomekanik ölçümlerde anchor uygulanan grupta daha iyi bir gerilme mukavemeti tespit edilirken, 2. haftadan itibaren iki grup arasında bir fark gözlenmemiştir. Tendon sertliği açısından ise gruplar arasında bir fark görülmemiştir. Rhee ve arkadaşlarının (148) 18 adet tavşan üzerinde yaptıkları bir başka çalışmada bir omuzda retrakte rotator manşet yırtığı, diğer omuzda ise retrakte olmayan rotator manşet yırtığı oluşturularak her iki omuz da transosseöz yöntemle onarılmıştır. 12 haftalık takip sonrasında tendon-kemik bağlantı bölgesine

yapılan biyomekanik testlerde gerilim mukavemeti açısından gruplar karşılaştırılmış ve istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Ayrıca tendon hasarları ile oluşturulan deneysel hayvan modellerinde, tendon gerilim mukavemetinin ve sertliğinin iyileşmesini hızlandırmak için ek olarak kolajen, PRP veya diğer doku mühendisliği tabanlı biyomateryallerin kullanımını içeren çalışmalar mevcuttur (24, 149-151). Lee ve arkadaşları (152) tarafından 30 tavşanda yapılan deneysel çalışmada, tamir sonrası tendon-kemik iyileşme bölgesine farklı yoğunluklarda insan dermal fibroblast hücrelerini lokal olarak uygulanmıştır. 12 hafta sonra tendon-kemik bağlantı bölgesinin gerilme mukavemetinin, saline grubuna kıyasla çok daha iyi olduğu görülmüştür. Çalışmamızda ise 8 haftalık postoperatif dönem sonunda yapılan biyomekanik testler sonucunda transosseöz tamir ile CGF'nin birlikte uygulandığı grup, gerilim mukavemeti açısından değerlendirildiğinde, diğer tedavi gruplarına kıyasla daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Çalışmamız literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında ortak sonuç olarak kronik dönem kabul edilen 8-12 haftalık postoperatif dönem sonunda yapılan biyomekanik değerlendirmeler neticesinde tedavi grupları arasında istatistiki olarak anlamlı fark görülmemiştir. Bununla birlikte histoloji sonuçları ile karşılaştırıldığında, biyomekanik testlerin aksine PRF uygulanan grupta tendon iyileşmesinin daha olumlu yönde etkilendiği tespit edilmiştir. Bu durum, postoperatif bakım süresinin biyomekanik açıdan anlamlı farklılığın ortaya konabilmesi adına yeterli olmadığı ve hücresel cevapların doku boyutunda görülemediği şeklinde yorumlanmıştır.

Çalışmamız neticesinde ortaya çıkan başlıca kısıtlılıkları; postoperatif bakım süresinin yetersizliği ve denek sayısının azlığı olarak sayabiliriz. Ayrıca çalışma konumuz olan CGF'nin tendon-kemik bağlantı bölgelerindeki etkisinin klinik çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

8. SONUÇ

Rotator manşet kaslarından biri olan subscapularis kası, tam kat kesilerek kronik yırtık modeli oluşturuldu. Primer tamir uygulamasına ilave olarak bölgesel PRF ve CGF uygulamaları da eklenerek primer tamir grubu ile karşılaştırıldı. Bu çalışma ile PRF ve CGF'nin tedavi sürecinde tendon iyileşmesine olası katkılarını araştırmak istedik. Bu doğrultuda histolojik, immunohistokimyasal ve biyomekanik parametreler değerlendirildi. Deneysel çalışmamıza ilişkin histoloji verilerini Modifiye Watkins skorlamasına göre ele aldığımızda (89, 90) istatistiksel olarak gruplar arasında önemli ölçüde anlamlı farklar bulunmuştur ($p=0,005$). Sağlıklı kontrol grubu ile tamir grubunu karşılaştırdığımızda aralarında önemli düzeyde anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0,05$). Tamir grubunu diğer tedavi grupları ile karşılaştırdığımızda da istatistiksel farklılık belirlenmiştir ($p<0,05$). Tamir+PRF grubu, tamir grubuna kıyasla tedaviye olumlu etkisinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğunu belirledik ($p=0,022$). Ancak tamir+CGF grubundan daha iyi sonuç vermesine rağmen aralarında anlamlı fark bulunamamıştır. Diğer bir deney grubu olan tamir+CGF grubunun ise, tamir grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunmamış fakat sağlıklı kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Bu fark değerlendirildiğinde; tamir+CGF grubunun tamir grubuna kıyasla tedaviye olumlu bir etki sağladığı ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Histolojik analizleri Watkins skorlamasına göre özetlersek; fibrosit düzeyleri ($p=0,062$) dışındaki tüm parametrelerde; 'büyük çaplı lifler ($p=0,039$), paralel dizilimli lifler ($p=0,007$), paralel dizilimli hücreler ($p=0,007$), vaskülerite ($p=0,008$), sellülarite ($p=0,017$), tendon-kemik geçişi ($p=0,01$)'; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Biyomekanik incelemelerimizde ise tamir+CGF ($p=0,892$) ve tamir+PRF ($p=0,468$) grupları tendon gerilim mukavemetini arttırarak iyileşmeye olumlu etki etmiştir ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamamıştır. Özellikle fibrositler, tamir+CGF grubunda en düşük düzeyde görülmüştür. Ayrıca diğer gruplara kıyasla anlamlı olmamakla birlikte gerilim mukavemeti açısından daha iyi sonuç vermiştir. Tamir+CGF grubunda, fibrosit düzeyinin azalması ve fibroblast düzeyindeki artışın iyileşme sürecini başlattığı; fibrozis düzeyindeki artışında tendon sağlamlığını arttırdığı şeklinde yorumlanmıştır. Buna karşın vaskülaritenin azalması, liflerin organizasyonu, hücre yıkımının azaltılması gibi süreçler değerlendirildiğinde

tamir+PRF grubu, sağlıklı kontrol grubuna en yakın sonucu vermiştir. Tamir+PRF grubu, sadece tamir grubuna kıyasla hücre yıkımını istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltmıştır ($p=0,027$). En fazla hücre yıkımı ise sadece tamir uygulanan grupta belirlenmiş, sağlıklı kontrol grubu ile aralarında anlamlı farklılık bulunmuş ($p=0,021$) ve hücreyel iyileşmenin tamir+PRF grubunda daha iyi olduğu belirlenmiştir. Ancak biyomekanik testlerde anlamlı sonuçlar bulunamamıştır. Bu veriler neticesinde hipotezimiz doğrultusunda, tamir grubuna eklenen alternatif yöntemlerin tedaviyi olumlu yönde etkilediği, bu olumlu etkinin hücreyel boyutta anlamlı farklılık oluşturduğu, fakat diğer taraftan doku boyutuna geçemediği düşünölmektedir. Sonuçlar bütünüyle ele alındığında çalışmamızın ana grubu olan tamir+CGF'nin etkisinin, bir diğer tedavi grubu olan tamir+PRF kadar yüksek olmadığı ancak hücre yıkımını azaltması ve tedaviye olumlu yönde etki göstermesi nedeniyle tamir ile birlikte CGF'nin PRF'ye alternatif olabilmesi ya da kombine uygulamaların denenmesi açısından umut vaat ettiği görölmektedir. Ayrıca CGF'nin farklı doz ve sürelerde uygulandığı yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünölmektedir.

9. KAYNAKLAR

1. Hermans J, Luime JJ, Meuffels DE, Reijman M, Simel DL, Bierma-Zeinstra SM. Does this patient with shoulder pain have rotator cuff disease?: The Rational Clinical Examination systematic review. *JAMA*. 310(8):837-47, 2013.
2. Nazarian LN, Jacobson JA, Benson CB, Bancroft LW, Bedi A, McShane JM, et al. Imaging algorithms for evaluating suspected rotator cuff disease: Society of Radiologists in Ultrasound consensus conference statement. *Radiology*. 267(2):589-95, 2013.
3. Matava MJ, Purcell DB, Rudzki JR. Partial-thickness rotator cuff tears. *Am J Sports Med*. 33(9):1405-17, 2005.
4. Getz C, Buzzell JE, Krishnan S. Shoulder Instability and Rotator Cuff Tears. In: Flynn J. *Orthopaedic Knowledge Update 10*. Rosemont, American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2011.
5. Kijima H, Minagawa H, Nishi T, Kikuchi K, Shimada Y. Long-term follow-up of cases of rotator cuff tear treated conservatively. *J Shoulder Elbow Surg*. 21(4):491-4, 2012.
6. Maman E, Harris C, White L, Tomlinson G, Shashank M, Boynton E. Outcome of nonoperative treatment of symptomatic rotator cuff tears monitored by magnetic resonance imaging. *J Bone Joint Surg Am*. 91(8):1898-906, 2009.
7. Jamil M, Dandachli W, Noordin S, Witt J. Hip arthroscopy: Indications, outcomes and complications. *Int J Surg*. 54(Pt B):341-4, 2018.
8. Piper CC, Hughes AJ, Ma Y, Wang H, Neviasser AS. Operative versus nonoperative treatment for the management of full-thickness rotator cuff tears: a systematic review and meta-analysis. *J Shoulder Elbow Surg*. 27(3):572-6, 2018.
9. Bilsel K, Yildiz F, Kapicioglu M, Uzer G, Elmadag M, Pulatkan A, et al. Efficacy of bone marrow-stimulating technique in rotator cuff repair. *J Shoulder Elbow Surg*. 26(8):1360-6, 2017.
10. Dugas JR, Campbell DA, Warren RF, Robie BH, Millett PJ. Anatomy and dimensions of rotator cuff insertions. *J Shoulder Elbow Surg*. 11(5):498-503, 2002.
11. Cvetanovich GL, Waterman BR, Verma NN, Romeo AA. Management of the Irreparable Rotator Cuff Tear. *J Am Acad Orthop Surg*. 27(24):909-17, 2019.

12. Nichols AEC, Best KT, Loisel AE. The cellular basis of fibrotic tendon healing: challenges and opportunities. *Transl Res.* 209:156-68, 2019.
13. Beredjiklian PK, Favata M, Cartmell JS, Flanagan CL, Crombleholme TM, Soslowky LJ. Regenerative versus reparative healing in tendon: a study of biomechanical and histological properties in fetal sheep. *Ann Biomed Eng.* 31(10):1143-52, 2003.
14. Tang QM, Chen JL, Shen WL, Yin Z, Liu HH, Fang Z, et al. Fetal and adult fibroblasts display intrinsic differences in tendon tissue engineering and regeneration. *Sci Rep.* 4:5515, 2014.
15. Clark RA. Fibrin and wound healing. *Ann N Y Acad Sci.* 936:355-67, 2001.
16. Chen X, Wang J, Yu L, Zhou J, Zheng D, Zhang B. Effect of Concentrated Growth Factor (CGF) on the Promotion of Osteogenesis in Bone Marrow Stromal Cells (BMSC) in vivo. *Sci Rep.* 8(1):5876, 2018.
17. Kim TH, Kim SH, Sándor GK, Kim YD. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Arch Oral Biol.* 59(5):550-8, 2014.
18. Everts PA, Knape JT, Weibrich G, Schönberger JP, Hoffmann J, Overdevest EP, et al. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. *J Extra Corpor Technol.* 38(2):174-87, 2006.
19. Dolkart O, Chechik O, Zarfati Y, Brosh T, Alhajajra F, Maman E. A single dose of platelet-rich plasma improves the organization and strength of a surgically repaired rotator cuff tendon in rats. *Arch Orthop Trauma Surg.* 134(9):1271-7, 2014.
20. Wang C, Xu M, Guo W, Wang Y, Zhao S, Zhong L. Clinical efficacy and safety of platelet-rich plasma in arthroscopic full-thickness rotator cuff repair: A meta-analysis. *PLoS One.* 14(7):e0220392, 2019.
21. Barber FA, Hrnack SA, Snyder SJ, Hapa O. Rotator cuff repair healing influenced by platelet-rich plasma construct augmentation. *Arthroscopy.* 27(8):1029-35, 2011.
22. Jo CH, Shin JS, Lee YG, Shin WH, Kim H, Lee SY, et al. Platelet-rich plasma for arthroscopic repair of large to massive rotator cuff tears: a randomized, single-blind, parallel-group trial. *Am J Sports Med.* 41(10):2240-8, 2013.

23. Mao XH, Zhan YJ. The efficacy and safety of platelet-rich fibrin for rotator cuff tears: a meta-analysis. *J Orthop Surg Res.* 13(1):202, 2018.
24. Hurley ET, Lim Fat D, Moran CJ, Mullett H. The Efficacy of Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin in Arthroscopic Rotator Cuff Repair: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Am J Sports Med.* 47(3):753-61, 2019.
25. Kim TH, Kim SH, Sandor GK, Kim YD. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Arch Oral Biol.* 59(5):550-8, 2014.
26. Mijiritsky E, Assaf HD, Peleg O, Shacham M, Cerroni L, Mangani L. Use of PRP, PRF and CGF in Periodontal Regeneration and Facial Rejuvenation-A Narrative Review. *Biology (Basel).* 10(4), 2021.
27. Masuki H, Okudera T, Watanebe T, Suzuki M, Nishiyama K, Okudera H, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *Int J Implant Dent.* 2(1):19, 2016.
28. Qiao J, An N, Ouyang X. Quantification of growth factors in different platelet concentrates. *Platelets.* 28(8):774-8, 2017.
29. Chan BP, Chan KM, Maffulli N, Webb S, Lee KK. Effect of basic fibroblast growth factor. An in vitro study of tendon healing. *Clin Orthop Relat Res.* (342):239-47, 1997.
30. Chan BP, Fu S, Qin L, Lee K, Rolf CG, Chan K. Effects of basic fibroblast growth factor (bFGF) on early stages of tendon healing: a rat patellar tendon model. *Acta Orthop Scand.* 71(5):513-8, 2000.
31. Najafbeygi A, Fatemi MJ, Lebaschi AH, Mousavi SJ, Husseini SA, Niazi M. Effect of Basic Fibroblast Growth Factor on Achilles Tendon Healing in Rabbit. *World J Plast Surg.* 6(1):26-32, 2017.
32. Takahashi S, Nakajima M, Kobayashi M, Wakabayashi I, Miyakoshi N, Minagawa H, et al. Effect of recombinant basic fibroblast growth factor (bFGF) on fibroblast-like cells from human rotator cuff tendon. *Tohoku J Exp Med.* 198(4):207-14, 2002.

33. Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg.* 52(2):161-5; discussion 6, 1994.
34. Taniguchi N, Suenaga N, Oizumi N, Miyoshi N, Yamaguchi H, Inoue K, et al. Bone marrow stimulation at the footprint of arthroscopic surface-holding repair advances cuff repair integrity. *J Shoulder Elbow Surg.* 24(6):860-6, 2015.
35. Soslowky LJ, Carpenter JE, DeBano CM, Banerji I, Moalli MR. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. *J Shoulder Elbow Surg.* 5(5):383-92, 1996.
36. Soslowky LJ, Thomopoulos S, Tun S, Flanagan CL, Keefer CC, Mastaw J, et al. Neer Award 1999. Overuse activity injures the supraspinatus tendon in an animal model: a histologic and biomechanical study. *J Shoulder Elbow Surg.* 9(2):79-84, 2000.
37. Soslowky LJ, Thomopoulos S, Esmail A, Flanagan CL, Iannotti JP, Williamson JD, Carpenter JE. Rotator cuff tendinosis in an animal model: role of extrinsic and overuse factors. *Ann Biomed Eng.* 30(8):1057-63, 2002.
38. Gupta R, Lee TQ. Contributions of the different rabbit models to our understanding of rotator cuff pathology. *J Shoulder Elbow Surg.* 16(Suppl.1):S149-57, 2007.
39. Grumet RC, Hadley S, Diltz MV, Lee TQ, Gupta R. Development of a new model for rotator cuff pathology: the rabbit subscapularis muscle. *Acta Orthop.* 80(1):97-103, 2009.
40. Edelstein L, Thomas SJ, Soslowky LJ. Rotator cuff tears: what have we learned from animal models? *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 11(2):150-62, 2011.
41. Otarodifard K, Wong J, Preston CF, Tibone JE, Lee TQ. Relative fixation strength of rabbit subscapularis repair is comparable to human supraspinatus repair at time 0. *Clin Orthop Relat Res.* 472(8):2440-7, 2014.
42. Koçer N, Omuz İmpingement Sendromunun Manyetik Rezonans Görüntüleme Özellikleri Ve Akromiyon Morfolojisiyle İlişkisinin Değerlendirilmesi. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Denizli, 1993.

43. Donne HD Jr, Faúndes A, Tristão EG, de Sousa MH, Urbanetz AA. Sonographic identification and measurement of the epiphyseal ossification centers as markers of fetal gestational age. *J Clin Ultrasound*. 33(8):394-400, 2005.
44. Martini F, Timmons M, Tallitsch R. Embryology and human development. pp. In: McKinley M, O'Loughlin V, Pennefather-O'Brien E, editors. *Human Anatomy*. New York, Mc Graw-Hill, 2020.
45. Edwards S, Galatz L. *Orthopaedic Knowledge 11*, pp. 357-37, 11. baskı, Çeviren: Atilla B, Alpaslan M, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., 2015.
46. Huegel J, Williams AA, Soslowsky LJ. Rotator cuff biology and biomechanics: a review of normal and pathological conditions. *Curr Rheumatol Rep*. 17(1):476, 2015.
47. Schumacher GH, Aumüller G. *Klinik Temelli Topografik İnsan Anatomisi*, p. 393, Çeviren: Akkın SM, Marur T, İstanbul, Deomed, 2010.
48. Miller MD, Chhabra AB, Park JS, Shen FH, Weiss DB, Browne JA. *Orthopaedic surgical approaches*, pp. 3-45, 2nd edition, Philadelphia, Saunders, 2015.
49. Rockwood CA, Matsen III FA. *The Shoulder*, pp. 771-889, 4th edition, Philadelphia, Saunders, 2009.
50. Neer CS, 2nd. Impingement lesions. *Clin Orthop Relat Res*. (173):70-7, 1983.
51. Clark JM, Harryman DT, 2nd. Tendons, ligaments, and capsule of the rotator cuff. *Gross and microscopic anatomy. J Bone Joint Surg Am*. 74(5):713-25, 1992.
52. Bickley LS, Bates B, Hoekelman RA. *Bates' fizik muayene rehberi*, pp. 483-506, Çeviren: Özsüt H, Tetikkurt C, Vatansever S, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., 2004.
53. Soslowsky LJ, Carpenter, JE, Bucchieri, JS, Flatow, EL. Biomechanics of the rotator cuff *Orthop Clin North Am*. 28:17-30, 1997.
54. Matsen III F, Arntz C, Lippitt S. Rotator cuff. In: Rockwood CA, Matsen III FA, editors. *The shoulder*. Philadelphia, Saunders, 1998.
55. Akpınar S, Ozkoc G, Cesur N. [Anatomy, biomechanics, and physiopathology of the rotator cuff]. *Acta Orthop Traumatol Turc (Suppl.1)*S:4-12. 2003.

56. Rowlands LK, Wertsch JJ, Primack SJ, Spreitzer AM, Roberts MM. Kinesiology of the empty can test. *American journal of physical medicine & rehabilitation*. 74(4):302-4, 1995.
57. Howell SM, Imobersteg A, Seger D, Marone P. Clarification of the role of the supraspinatus muscle in shoulder function. *JBJS*. 68(3):398-404, 1986.
58. Ricket M, Georgousis H, Witzel U. Tensile strength of the tendon of the supraspinatus muscle in the human *J Bone Joint Surg [Am]*. 68:398-404, 1986.
59. Wiley A. Superior humeral dislocation. A complication following decompression and debridement for rotator cuff tears. *Clinical orthopaedics and related research*. (263):135-41, 1991.
60. Neer CS, 2nd. Anterior acromioplasty for the chronic impingement syndrome in the shoulder: a preliminary report. *J Bone Joint Surg Am*. 54(1):41-50, 1972.
61. Bigliani LU, Marrison DS, April, EW. The morphology of the acromion and its relationship to rotator cuff tears. *Orthop Trans*. 10:228, 1986.
62. Fukuda H, Yamanaka K, Hamada K. Pathology and pathogenesis of bursal-side rotator cuff tears viewed from en bloc histologic sections. *Clin Orthop*. (254):75-80, 1990.
63. Lohr JF, Uthoff HK. The microvascular pattern of the supraspinatus tendon. *Clin Orthop*. (254):35-8, 1990.
64. Moseley HF, Goldie I. The arterial pattern of the rotator cuff of the shoulder. *J Bone Joint Surg [Br]*. 45(4):780-9, 1963.
65. Rathbun JB, Macnab I. The microvascular pattern of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg [Br]*. 52:540-53, 1970.
66. Neer CS. Anterior acromioplasty for the chronic impingement syndrome in the shoulder: a preliminary report *J Bone Joint Surg [Am]*. 54:41-50, 1972.
67. Lu B, Morrison D, April E. The morphology of the acromion and its relationship to rotator cuff tears. *Orthop Trans*. 10(2):216-28, 1986.
68. Yazici M, Kopuz C, Gulman B. Morphologic variants of acromion in neonatalcadavers. *J Pediatr Orthop*. 15:644-7, 1995.

69. Putz R, Reichelt A. [Structural findings of the coraco-acromial ligament in rotator cuff rupture, tendinosis calcarea and supraspinatus syndrome]. *Z Orthop Ihre Grenzgeb.* 128(1):46-50, 1990.
70. Luo ZP, Hsu HC, Grabowski JJ, Morrey BF, An KN. Mechanical environment associated with rotator cuff tears. *J Shoulder Elbow Surg.* 7:616-20, 1998.
71. Wang JC, Horner G, Brown ED, Shapiro MS. The relationship between acromial morphology and conservative treatment of patients with impingement syndrome. *Orthopedics.* 23(6):557-9, 2000.
72. Codman EA. Rupture of the supraspinatus tendon. 1911. *Clin Orthop Relat Res.* (254):3-26, 1990.
73. Uhthoff HK, Sarkar K. Surgical repair of rotator cuff ruptures. The importance of the subacromial bursa. *J Bone Joint Surg Br.* 73(3):399-401, 1991.
74. Ozaki J, Fujimoto S, Nakagawa Y, Masuhara K, Tamai S. Tears of the rotator cuff of the shoulder associated with pathological changes in the acromion. A study in cadavera. *J Bone Joint Surg Am.* 70(8):1224-30, 1988.
75. Kannus P, Jozsa L. Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients. *J Bone Joint Surg Am.* 73(10):1507-25, 1991.
76. Blevins FT, Djurasovic M, Flatow EL, Vogel KG. Biology of the rotator cuff tendon. *Orthop Clin North Am.* 28(1):1-16, 1997.
77. Codman EA. The shoulder: Rupture of the supraspinatus tendon and other lesions in or about the subacromial bursa, Boston, Thomas Todd, 1934.
78. Fukuda H, Mikasa M, Ogawa K, Yamanaka K, Hamada K. The partial thickness tear of the rotator cuff. *Orthop Trans.* 7:137, 1983.
79. Ellmann H. Rotator cuff disorders. pp. 98-119. In: Ellmann H, Gartsman GM, editors. *Arthroscopic Shoulder Surgery and Related Disorders.* Philadelphia, Lea & Febiger, 1993.
80. Harryman DT, 2nd, Mack LA, Wang KY, Jackins SE, Richardson ML, Matsen FA, 3rd. Repairs of the rotator cuff. Correlation of functional results with integrity of the cuff. *J Bone Joint Surg Am.* 73(7):982-9, 1991.

81. Habermeyer P, Krieter C, Tang KL, Lichtenberg S, Magosch P. A new arthroscopic classification of articular-sided supraspinatus footprint lesions: a prospective comparison with Snyder's and Ellman's classification. *J Shoulder Elbow Surg.* 17(6):909-13, 2008.
82. Wolfgang GL. Surgical repair of tears of the rotator cuff of the shoulder. Factors influencing the result. *J Bone Joint Surg Am.* 56(1):14-26, 1974.
83. Burman MS. Arthroscopy or the direct visualization of joints: an experimental cadaver study. 1931. *Clin Orthop Relat Res.* (390):5-9, 2001.
84. Depres-Tremblay G, Chevrier A, Snow M, Hurtig MB, Rodeo S, Buschmann MD. Rotator cuff repair: a review of surgical techniques, animal models, and new technologies under development. *J Shoulder Elbow Surg.* 25(12):2078-85, 2016.
85. Garofalo R, Castagna A, Borroni M, Krishnan SG. Arthroscopic transosseous (anchorless) rotator cuff repair. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 20(6):1031-5, 2012.
86. Kim KH, Brunel D, Gohier A, Sacco L, Chatelet M, Cojocaru CS. Cup-stacked carbon nanotube Schottky diodes for photovoltaics and photodetectors. *Adv Mater.* 26(25):4363-9, 2014.
87. Aslan H, Kimelman-Bleich N, Pelled G, Gazit D. Molecular targets for tendon neoformation. *The Journal of clinical investigation.* 118:439-44, 2008.
88. Pulatkan A, Anwar W, Ayik O, Bozdag E, Yildirim AN, Kapicioglu M, et al. Tear Completion Versus In Situ Repair for 50% Partial-Thickness Bursal-Side Rotator Cuff Tears: A Biomechanical and Histological Study in an Animal Model. *Am J Sports Med.* 48(8):1818-25, 2020.
89. Loppini M, Longo UG, Niccoli G, Khan WS, Maffulli N, Denaro V. Histopathological scores for tissue-engineered, repaired and degenerated tendon: a systematic review of the literature. *Curr Stem Cell Res Ther.* 10(1):43-55, 2015.
90. Yokoya S, Mochizuki Y, Nagata Y, Deie M, Ochi M. Tendon-bone insertion repair and regeneration using polyglycolic acid sheet in the rabbit rotator cuff injury model. *Am J Sports Med.* 36(7):1298-309, 2008.
91. Kyrylkova K, Kyryachenko S, Leid M, Kioussi C. Detection of apoptosis by TUNEL assay. *Methods Mol Biol.* 887:41-7, 2012.

92. Güleş Ö, Eren Ü. Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 19(2):73-8, 2008.
93. Dzulkifli FA, Mashor MY, Jaafar H. An overview of recent counting methods for Ki67 IHC staining. 3(2):8, 2019.
94. Wang D, Stockard CR, Harkins L, Lott P, Salih C, Yuan K, et al. Immunohistochemistry in the evaluation of neovascularization in tumor xenografts. *Biotech Histochem*. 83(3-4):179-89, 2008.
95. Ellman H. Diagnosis and treatment of incomplete rotator cuff tears. *Clin Orthop Relat Res*. (254):64-74, 1990.
96. Fukuda H. The management of partial-thickness tears of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Br*. 85(1):3-11, 2003.
97. Lui PP, Cheuk YC, Hung LK, Fu SC, Chan KM. Increased apoptosis at the late stage of tendon healing. *Wound Repair Regen*. 15(5):702-7, 2007.
98. Berger MJ, Adams SD, Tigges BM, Sprague SL, Wang XJ, Collins DP, et al. Differentiation of umbilical cord blood-derived multilineage progenitor cells into respiratory epithelial cells. *Cytotherapy*. 8(5):480-7, 2006.
99. Petri M, Ettinger M, Brand S, Stuebig T, Krettek C, Omar M. Non-Operative Management of Rotator Cuff Tears. *Open Orthop J*. 10:349-56, 2016.
100. Contreras F, Brown HC, Marx RG. Predictors of success of corticosteroid injection for the management of rotator cuff disease. *HSS J*. 9(1):2-5, 2013.
101. Gialanella B, Prometti P. Effects of corticosteroids injection in rotator cuff tears. *Pain Med*. 12(10):1559-65, 2011.
102. Shibata Y, Midorikawa K, Emoto G, Naito M. Clinical evaluation of sodium hyaluronate for the treatment of patients with rotator cuff tear. *J Shoulder Elbow Surg*. 10(3):209-16, 2001.
103. Boiani M, Scholer HR. Regulatory networks in embryo-derived pluripotent stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 6(11):872-84, 2005.
104. Aleem AW, Brophy RH. Outcomes of rotator cuff surgery: what does the evidence tell us? *Clin Sports Med*. 31(4):665-74, 2012.
105. Edwards SL, Lynch TS, Saltzman MD, Terry MA, Nuber GW. Biologic and pharmacologic augmentation of rotator cuff repairs. *J Am Acad Orthop Surg*. 19(10):583-9, 2011.

106. Hawi N, Schmidden U, Omar M, Stuebig T, Krettek C, Petri M, et al. Arthroscopic Debridement for Irreparable Rotator Cuff Tears. *Open Orthop J.* 10:324-9, 2016.
107. Spiegl UJ, Euler SA, Millett PJ, Hepp P. Summary of Meta-Analyses Dealing with Single-Row versus Double-Row Repair Techniques for Rotator Cuff Tears. *Open Orthop J.* 10:330-8, 2016.
108. Mook WR, Greenspoon JA, Millett PJ. Arthroscopic Double-Row Transosseous Equivalent Rotator Cuff Repair with a Knotless Self-Reinforcing Technique. *Open Orthop J.* 10:286-95, 2016.
109. Ide J, Maeda S, Takagi K. A comparison of arthroscopic and open rotator cuff repair. *Arthroscopy.* 21(9):1090-8, 2005.
110. Warner JJ, Tetreault P, Lehtinen J, Zurakowski D. Arthroscopic versus mini-open rotator cuff repair: a cohort comparison study. *Arthroscopy.* 21(3):328-32, 2005.
111. Youm T, Murray DH, Kubiak EN, Rokito AS, Zuckerman JD. Arthroscopic versus mini-open rotator cuff repair: a comparison of clinical outcomes and patient satisfaction. *J Shoulder Elbow Surg.* 14(5):455-9, 2005.
112. Apreleva M, Ozbaydar M, Fitzgibbons PG, Warner JJ. Rotator cuff tears: the effect of the reconstruction method on three-dimensional repair site area. *Arthroscopy.* 18(5):519-26, 2002.
113. Gazielly DF, Gleyze P, Montagnon C. Functional and anatomical results after rotator cuff repair. *Clin Orthop Relat Res.* (304):43-53, 1994.
114. Mansat P, Cofield RH, Kersten TE, Rowland CM. Complications of rotator cuff repair. *Orthop Clin North Am.* 28(2):205-13, 1997.
115. Gurger M, Once G, Yilmaz E, Demir S, Calik I, Say Y, et al. The effect of the platelet-rich plasma and ozone therapy on tendon-to-bone healing in the rabbit rotator cuff repair model. *J Orthop Surg Res.* 16(1):202, 2021.
116. Chung SW, Song BW, Kim YH, Park KU, Oh JH. Effect of platelet-rich plasma and porcine dermal collagen graft augmentation for rotator cuff healing in a rabbit model. *Am J Sports Med.* 41(12):2909-18, 2013.
117. Gigliotti D, Xu MC, Davidson MJ, Macdonald PB, Leiter JRS, Anderson JE. Fibrosis, low vascularity, and fewer slow fibers after rotator-cuff injury. *Muscle Nerve.* 55(5):715-26, 2017.

118. Manning CN, Kim HM, Sakiyama-Elbert S, Galatz LM, Havlioglu N, Thomopoulos S. Sustained delivery of transforming growth factor beta three enhances tendon-to-bone healing in a rat model. *J Orthop Res.* 29(7):1099-105, 2011.
119. Bosch G, van Schie HT, de Groot MW, Cadby JA, van de Lest CH, Barneveld A, et al. Effects of platelet-rich plasma on the quality of repair of mechanically induced core lesions in equine superficial digital flexor tendons: A placebo-controlled experimental study. *J Orthop Res.* 28(2):211-7, 2010.
120. Lyras DN, Kazakos K, Verettas D, Botaitis S, Agrogiannis G, Kokka A, et al. The effect of platelet-rich plasma gel in the early phase of patellar tendon healing. *Arch Orthop Trauma Surg.* 129(11):1577-82, 2009.
121. Beck J, Evans D, Tonino PM, Yong S, Callaci JJ. The biomechanical and histologic effects of platelet-rich plasma on rat rotator cuff repairs. *Am J Sports Med.* 40(9):2037-44, 2012.
122. Maffulli N, Longo UG, Loppini M, Berton A, Spiezia F, Denaro V. Tissue engineering for rotator cuff repair: an evidence-based systematic review. *Stem Cells Int.* 2012:418086, 2012.
123. Gumina S, Campagna V, Ferrazza G, Giannicola G, Fratalocchi F, Milani A, et al. Use of platelet-leukocyte membrane in arthroscopic repair of large rotator cuff tears: a prospective randomized study. *J Bone Joint Surg Am.* 94(15):1345-52, 2012.
124. Randelli P, Arrigoni P, Ragone V, Aliprandi A, Cabitza P. Platelet rich plasma in arthroscopic rotator cuff repair: a prospective RCT study, 2-year follow-up. *J Shoulder Elbow Surg.* 20(4):518-28, 2011.
125. Depres-Tremblay G, Chevrier A, Snow M, Rodeo S, Buschmann MD. Freeze-dried chitosan-platelet-rich plasma implants improve supraspinatus tendon attachment in a transosseous rotator cuff repair model in the rabbit. *J Biomater Appl.* 33(6):792-807, 2019.
126. Rodeo SA, Delos D, Williams RJ, Adler RS, Pearle A, Warren RF. The effect of platelet-rich fibrin matrix on rotator cuff tendon healing: a prospective, randomized clinical study. *Am J Sports Med.* 40(6):1234-41, 2012.
127. Castricini R, Longo UG, De Benedetto M, Panfoli N, Pirani P, Zini R, et al. Platelet-rich plasma augmentation for arthroscopic rotator cuff repair: a randomized controlled trial. *Am J Sports Med.* 39(2):258-65, 2011.

128. Snow M, Hussain F, Pagkalos J, Kowalski T, Green M, Massoud S, et al. The Effect of Delayed Injection of Leukocyte-Rich Platelet-Rich Plasma Following Rotator Cuff Repair on Patient Function: A Randomized Double-Blind Controlled Trial. *Arthroscopy*. 36(3):648-57, 2020.
129. Zhao D, Han YH, Pan JK, Yang WY, Zeng LF, Liang GH, et al. The clinical efficacy of leukocyte-poor platelet-rich plasma in arthroscopic rotator cuff repair: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Shoulder Elbow Surg*. 30(4):918-28, 2021.
130. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 101(3):e51-5, 2006.
131. Grecu AF, Reclaru L, Ardelean LC, Nica O, Ciuca EM, Ciurea ME. Platelet-Rich Fibrin and its Emerging Therapeutic Benefits for Musculoskeletal Injury Treatment. *Medicina (Kaunas)*. 55(5), 2019.
132. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G, et al. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Res Tech*. 74(8):772-7, 2011.
133. Kawase T, Tanaka T. An updated proposal for terminology and classification of platelet-rich fibrin. *Regen Ther*. 7:80-1, 2017.
134. Sohn D, Moon J, Moon Y, Park J, Jung H. The use of concentrated growth factors (CGF) for sinus augmentation. *J Oral Implant*. 38(1):25-38, 2009.
135. Sohn DS, Heo JU, Kwak DH, Kim DE, Kim JM, Moon JW, et al. Bone regeneration in the maxillary sinus using an autologous fibrin-rich block with concentrated growth factors alone. *Implant Dent*. 20(5):389-95, 2011.
136. Yu B, Wang Z. Effect of concentrated growth factors on beagle periodontal ligament stem cells in vitro. *Mol Med Rep*. 9(1):235-42, 2014.
137. Arican G, Ozmeric A, Firat A, Kaymaz F, Ocak M, Celik HH, et al. Micro-ct findings of concentrated growth factors (cgf) on bone healing in masquelet's technique-an experimental study in rabbits. *Arch Orthop Trauma Surg*. 142(1):83-90, 2022.

138. Yilmaz O, Ozmeric A, Alemdaroglu KB, Celepli P, Hucumenoglu S, Sahin O. Effects of concentrated growth factors (CGF) on the quality of the induced membrane in Masquelet's technique - An experimental study in rabbits. *Injury*. 49(8):1497-503, 2018.
139. Kwon DR, Kim KL, Moon YS. Regeneration of Chronic Rotator Cuff Tear in a Rabbit Model: Synergetic Benefits of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells, Polydeoxyribonucleotides, and Microcurrent Therapy. *Biomed Res Int*. 2022:6496773 , 2022.
140. Osti L, Berardocco M, di Giacomo V, Di Bernardo G, Oliva F, Berardi AC. Erratum to: Hyaluronic acid increases tendon derived cell viability and collagen type I expression in vitro: Comparative study of four different Hyaluronic acid preparations by molecular weight. *BMC Musculoskelet Disord*. 16:334, 2015.
141. Harada Y, Kokubu T, Mifune Y, Inui A, Sakata R, Muto T, et al. Dose- and time-dependent effects of triamcinolone acetonide on human rotator cuff-derived cells. *Bone Joint Res*. 3(12):328-34, 2014.
142. Muto T, Kokubu T, Mifune Y, Inui A, Sakata R, Harada Y, et al. Effects of platelet-rich plasma and triamcinolone acetonide on interleukin-1 α -stimulated human rotator cuff-derived cells. *Bone Joint Res*. 5(12):602-9, 2016.
143. Honda H, Gotoh M, Kanazawa T, Nakamura H, Ohta K, Nakamura K, et al. Effects of lidocaine on torn rotator cuff tendons. *J Orthop Res*. 34(9):1620-7, 2016.
144. Kim SJ, Lee SM, Kim JE, Kim SH, Jung Y. Effect of platelet-rich plasma with self-assembled peptide on the rotator cuff tear model in rat. *J Tissue Eng Regen Med*. 11(1):77-85, 2017.
145. Carr AJ, Murphy R, Dakin SG, Rombach I, Wheway K, Watkins B, et al. Platelet-Rich Plasma Injection With Arthroscopic Acromioplasty for Chronic Rotator Cuff Tendinopathy: A Randomized Controlled Trial. *Am J Sports Med*. 43(12):2891-7, 2015.
146. Crisci A, Crescenzo De U, Crisci M. Platelet-rich concentrates (L-PRF, PRP) in tissue regeneration: Control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Journal of Clinical and Molecular Medicine*. 1(3)5-2, 2018.

147. Chaler J, Louati H, Uhthoff HK, Trudel G. Supraspinatus tendon transosseous vs anchor repair surgery: a comparative study of mechanical recovery in the rabbit. *J Orthop Surg Res.* 15(1):585, 2020.
148. Rhee SM, Youn SM, Ko YW, Kwon TY, Park YK, Rhee YG. Retracted Rotator Cuff Repairs Heal With Disorganized Fibrogenesis Without Affecting Biomechanical Properties: A Comparative Animal Model Study. *Arthroscopy.* 37(12):3423-31, 2021.
149. Takamura M, Yasuda T, Nakano A, Shima H, Neo M. The effect of platelet-rich plasma on Achilles tendon healing in a rabbit model. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 51(1):65-72, 2017.
150. Uno T, Maruyama M, Satake H, Takakubo Y, Toyono S, Xing L, et al. Effectiveness of Bone Marrow-Derived Platelet-Rich Fibrin on Rotator Cuff Healing in a Rabbit Degenerative Model. *Am J Sports Med.* 50(12):3341-54, 2022.
151. Okamoto N, Kushida T, Oe K, Umeda M, Ikehara S, Iida H. Treating Achilles tendon rupture in rats with bone-marrow-cell transplantation therapy. *J Bone Joint Surg Am.* 92(17):2776-84, 2010.
152. Lee JH, Kim YH, Rhee SM, Han J, Jeong HJ, Park JH, et al. Rotator Cuff Tendon Healing Using Human Dermal Fibroblasts: Histological and Biomechanical Analyses in a Rabbit Model of Chronic Rotator Cuff Tears. *Am J Sports Med.* 49(13):3669-79, 2021.

10. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARAR METNİ

SAYI: 2020/ 55

22.05.2020

KONU: Sn. Prof. Dr. İsmail Kerem BİLSEL

Sayın, Prof. Dr. İsmail Kerem BİLSEL

“Tam Kat Rotator Manşet Yırtığı Tamirinde Trombositten Zengin Fibrin (PRF) ve Konsantré Büyüme Faktörü’ nün (CGF) Etkisinin Biyomekanik, Histolojik ve Anatomik Olarak İncelenmesi” başlıklı projenize ait başvurunuz 20.05.2020 tarihinde yapılan Yerel Etik Kurul toplantısında değerlendirilmiş ve onanmıştır.

Çalışılacak Hayvanın	Türü Sayısı	Tavşan
		21

Doç. Dr. Fahrî ARBAŞ
Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. İsmail MERAL

Doç.

Doç. Dr. Nâkhet KÜTÜK

Dr. Öğr. Üyesi Feyyâz ÖZGÖR

Doç.

Dr. Öğr. Üyesi Ömer UYSAL

Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk ÖZER

Vet. Hek. Mert ÇELİKTEN
Üye

Dr. Öğr. Üyesi

Semihâ ÇELİK
Üye

- Etik kurulumuzdan onam alan her proje için, çalışma başlamadan üç ay önce çalışılacak hayvan rezervinin uygunluğunu (tür, yaş, cinsiyet) belirlemek amacıyla Deney Hayvanları Laboratuvarına başvurulmalıdır.