



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

OTOLOG DERMİS GREFTİNİN RAT AŞİL TENDONU
İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Muhammet DOĞAN
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2023



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**OTOLOG DERMİS GREFTİNİN RAT AŞİL TENDONU
İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Muhammet DOĞAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Serkan ERBATUR

Bu araştırma Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından
TIP.22.029 proje numarası ile desteklenmiştir

DİYARBAKIR-2023

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, iyi bir hekim olma yolunda bana yol gösteren, bana her konuda koşulsuz şartsız destek olandeğerli hocam; Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Fatih Akkoç'a,

Eğitime başladığım günden bu yana, cerrahi alanda yetişmemde büyük katkıları olan, bana bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren kıymetli hocam; Prof. Dr. Caferi Tayyar Selçuk'a

Eşsiz tecrübelerini bize aktararak eğitimimde önemli katkıları olan, uzmanlık tezimin her aşamasında beni sabırla dinleyip katkıda bulunan, bilgi ve birikimlerini örnek aldığım, saygıdeğer tez hocam Dr. Öğr. Üyesi Serkan Erbatur'a,

Tezin her aşamasında desteklerini benden esirgemeyen arkadaşım Sibel Özaydın'a,

Çalışmadaki histopatolojik, analizleri büyük bir titizlikle gerçekleştiren Prof. Dr. Selver Özekinci'ye,

Çalışmadaki biyomekanik testlerin gerçekleşmesinde büyük emekleri olan Dr. Coşar Uzun'a,

Eğitim süresi ve tezin her aşamasında yanımda olan, bana destek veren sevgili asistan arkadaşlarıma ve tüm yardımcı sağlık personeline,

Yazım aşamasında değerleri bilgilerini paylaşan değerli arkadaşım Melih Fırat Oral'a,

Hayatım boyunca yanımda duran, bana koşulsuz destek olan, üzerimde büyük emekleri olan sevgili anneme ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	iv
TABLolar	v
ŞEKİLLER	vi
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1. GİRİŞ	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Aşıl Tendonu ile İlgili Genel Bilgiler	7
2.1.1 Aşıl tendon anatomisi	7
2.1.2 Aşıl tendon histolojisi	10
2.1.3 Aşıl tendon biyomekaniği	12
2.2. Aşıl Tendon İyileşme Süreci	14
2.2.1 İnflamasyon evresi	16
2.2.2 Proliferasyon evresi	16
2.2.3 Remodelling evresi	16
2.3. Aşıl Tendonun Yaralanma Mekanizmaları	19
2.4. Aşıl Tendon Rüptürlerinde Tedavi	20
2.5. Dermis Grefti	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1 Deney Hayvanları	25

3.2 Deney Grupları	26
3.3 Cerrahi Girişim	26
3.4 Değerlendirme Yöntemleri	37
3.4.1 Biyomekanik inceleme	37
3.4.2 Histopatolojik inceleme	40
3.4.3 İmmünohistokimyasal inceleme	43
3.4.4 İstatistiksel inceleme	44
4. BULGULAR	45
4.1 Biyomekanik Bulgular	45
4.2 Histopatolojik Bulgular	48
4.3 İmmünohistokimyasal Bulgular	55
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ	63
7. KAYNAKLAR	64

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

PRP Trombositten Zengin Plazma

cm Santimetre

PTA Posterior Tibial Arter

PA Peroneal Arter

cm² Santimetrekare

ECM Ekstrasellüler Matriks

N Newton

vb. ve benzeri

gr gram

°C santigrat derece

mm milimetre

mg miligram

kg kilogram

µm mikrometre

H&E Hematoksilen-Eozin

MT Masson Trichrome

AB Alcian Blue

TABLÖLAR

Tablo 3-1 Gruplar ve Yapılan İşlemler	26
Tablo 3-2 Semikantitatif Bonar Skoru	40
Tablo 3-3 Semikantitatif Movin Skoru	41
Tablo 4-1 Gruplar arasında biyomekanik sonuçlarının karşılaştırılması	45
Tablo 4-2 Gruplar arasında Bonar skortama sonuçlarının karşılaştırılması	51
Tablo 4-3 Gruplar arasında Movin skortama sonuçlarının karşılaştırılması	53
Tablo 4-4 Gruplar arasında kollajen yoğunluklarının karşılaştırılması	57
Tablo 4-5 Gruplar arasında Tip I, Tip III ve Tip I /Tip III kollajen yoğunluğu oranının dağılımının grafiksel gösterimi	58

ŞEKİLLER

Şekil 2-1 Aşıl Tendonu	7
Şekil 2-2 Aşıl Tendon Kanlanması	9
Şekil 2-3 Tendonun Histolojik Yapısı	10
Şekil 2-4 Aşıl Tendon Gerilim-Gerinim Eğrisi	12
Şekil 2-5 İntrinsik ve Ekstrinsik İyileşme	15
Şekil 2-6 Tendon İyileşmesi ve Tensil Gücü	15
Şekil 2-7 Tendon İyileşmesinin Evreleri	18
Şekil 2-8 Perkütan Tamir Tekniği	21
Şekil 2-9 Bunnel, Kessler ve Krackow Tekniği	22
Şekil 2-10 Epidermis	23
Şekil 2-11 Dermis ve Epidermis Tabakaları	24
Şekil 3-1 İnsizyon ve Tendon Explorasyonu	27
Şekil 3-2 Tendon Kesi Modeli	28
Şekil 3-3 Aşıl Tendon Onarımı	29
Şekil 3-4 Cıt Sütürasyonu ve Yara Yeri Pansumanı	30
Şekil 3-5 Dermis Grefti Tasarım ve De-epitelizasyon	31
Şekil 3-6 Dermis Grefti Alınması	31
Şekil 3-7 Donör Alan Kapaması ve Yara Yeri Pansumanı	32
Şekil 3-8 Dermis Grefti	33
Şekil 3-9 Dermis Grefti ile Tendon Rekonstrüksiyonu	34
Şekil 3-10 Histopatolojik İnceleme için Numune Alınması	35
Şekil 3-11 Biyomekanik İnceleme için Numune Alınması	36
Şekil 3-12 Biyomekanik Analiz için Kontrol ve Deney Grubu Numuneleri	38
Şekil 3-13 Germe-Test Cihazı	38
Şekil 3-14 Numunelerin Cihaza Yerleştirilmesi	39
Şekil 4-1 Gruplar arasında biyomekanik sonuçların grafiksel gösterimi	46
Şekil 4-2 Gruplar arasında biyomekanik sonuçların grafiksel gösterimi(2)	47
Şekil 4-3 Kontrol (A-B) ve Deney (C-D) grubunda H&E boyama sonrası alınan histolojik kesitler	48

Şekil 4-4 Kontrol (A-B) ve Deney (C-D) grubunda MT boyama sonrası alınan histolojik kesitler	49
Şekil 4-5 Kontrol (A-B) ve Deney (C-D) grubunda AB boyama sonrası alınan histolojik kesitler	50
Şekil 4-6 Gruplar arasında Bonar skorunun dağılımının grafiksel gösterimi	52
Şekil 4-7 Gruplar arasında Movin skorunun dağılımının grafiksel gösterimi	54
Şekil 4-8 Kontrol grubunda Tip I (A-B) kollajen ve Tip III (C-D) kollajen boyama sonrası alınan kesitler	55
Şekil 4-9 Deney grubunda Tip I (A-B) kollajen ve Tip III (C-D) kollajen boyama sonrası alınan kesitler	56



ÖZET

Otolog Dermis Greftinin Rat Aşıl Tendonu İyileşmesi Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi

“Dr. Muhammet Doğan”

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Serkan Erbatur

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Ana Bilim Dalı

Giriş ve Amaç: Tendon yaralanmaları günlük hayatta acil servise başvuru sebepleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Aşıl tendon en sık yaralanan tendonlardan biridir. Özellikle genç-orta yaşlı bireylerde, aktif spor uğraşı olan bireylerde görülme sıklığı daha fazladır. Tendon onarımı cerrahi olarak yapıldıktan sonra hasta takiplerinde rüptür (tekrar kopma) gibi olumsuz durumlarla karşılaşmaktadır. Bu tür durumlarda tekrar ameliyat ihtiyacından, kalıcı sakatlığa varan olumsuz durumlar meydana gelebilmektedir. Bu sonuç özellikle sporcularda aşıl kopmalarında işe geç dönüş ile sporcu kariyerini ciddi bir şekilde etkilemektedir. Yetersiz perfüzyon nedeniyle iyileşmesi sorunlu olan aşıl tendonu güçlendirmek için literatürde çeşitli yöntemler denenmiştir. Tendon güçlendirmesi için; Plantaris tendon grefti, fasyal flepler, sentetik greftler, çeşitli biyolojik materyaller (asellüler dermal matrix) kullanılmıştır. Ayrıca tendon iyileşmesini güçlendirmek için onarım bölgesine çeşitli enjeksiyonlar (kök hücre, PRP, otolog serum, büyüme faktörleri, hidrojeller vs.) yapılmıştır. Detaylı literatür taramasına rağmen tendon augmentasyon amacıyla kullanılan dermis greftine dair veri bulamadık. Dermis greftleri; kolay ulaşılabilen, maliyet olarak ucuz, öz doku olduğu için yabancı cisim reaksiyonu az, daha kısa zamanda alınabilen ve daha az donör alan morbiditesine yol açması sebebiyle alternatif olabilecek niteliktedir. Çalışmamızda amaç, aşıl tendon yaralanmalarında tendon iyileştirmesini güçlendirip

tekrar kopma riskini azaltmak ve güçlü bir iyileşme elde etmek için otolog dermis greftinin iyileşme üzerinde etkinliğini belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: Yaptığımız çalışmada 20 adet, 2-3 aylık, 300-350 gr ağırlığında Sprague Dawley türünden erkek sıçanlar kullanıldı. Ratlar randomize olarak iki gruba ayrıldı. Her iki grubun sağ aşil tendonuna atravmatik, tam kat, düz kesi yapıldı. İlk grupta yer alan ratlar kontrol grubu olup; tendon onarımı yapıldıktan sonra onarım bölgesine herhangi bir uygulama yapılmadı. İkinci grupta yer alan deney grubundaki ratlara ise tendon onarımı yapıldıktan sonra; sırttan alınan dermis grefti tendon onarım bölgesine çepeçevre sarılıp sütüre edildi. Ratlar 4 haftalık takibin sonunda sakrifiye edildikten sonra alınan numuneler; histopatolojik inceleme (semikantitatif Movin ve Bonar skorları ile), immünohistokimyasal inceleme (tip I ve tip III kollajen yoğunluğuna yönelik) ve biyomekanik incelemeler için değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

Bulgular: Bütün numunelerde tendon intakt izlendi, rüptür gözlenmedi. Histolojik parametreler açısından dermis grefti ile onarım yapılan deney grubunda anlamlı sonuçlar izlendi ($p < 0.05$). İmmünohistokimyasal incelemede deney grubunda tip I kollajen ve tip I/tip III kollajen yoğunluğu daha fazla gözlemlendi. Biyomekanik incelemelerde deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi. ($p < 0.05$).

Sonuç: Çalışmadan elde edilen bulgular sonucunda dermis greftinin, sıçanlarda aşil tendon yaralanması sonrası, iyileşme sürecine olumlu katkı sağlayabileceğini gösterdi. Dermis grefti ile tendon onarımı; tendon augmentasyonu veya güçlendirmesi için diğer yöntemlere göre iyi bir alternatif olabilir. Bu tekniğin klinik kullanımı için daha büyük çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Rat, Aşil tendon, Tendon iyileşmesi, Otolog, Dermis grefti

ABSTRACT

Evaluation Of The Effect Of Autologous Dermis Graft On Rat Achilles Tendon Healing

Introduction: Tendon injuries occupy an important place among the reasons for applying to the emergency department in daily life. The Achilles tendon is one of the most commonly injured tendons. Especially in young-middle-aged individuals, its incidence is higher in individuals who are active in sports. After the tendon repair is performed surgically, adverse conditions such as rupture (re-rupture) are encountered in the patient follow-ups. In such cases, negative situations can occur, from the need for reoperation to permanent disability. This result seriously affects the career of the athlete, especially with the late return to work in Achilles ruptures in athletes. Various methods have been tried in the literature to strengthen the Achilles tendon, which is problematic to heal due to insufficient perfusion. For tendon strengthening; Plantaris tendon graft, fascial flaps, synthetic grafts, various biological materials (acellular dermal matrix) were used. In addition, various injections (stem cell, PRP, autologous serum, growth factors, hydrogels, etc.) were made to the repair site to strengthen tendon healing. Despite a detailed literature review, we could not find any data on dermis graft used for tendon augmentation. Dermis grafts; It can be an alternative because it is easily accessible, cheap in cost, has less foreign body reaction because it is the core tissue, can be removed in a shorter time and causes less donor site morbidity. The aim of our study is to determine the effectiveness of autologous dermis graft on healing in order to strengthen tendon healing in Achilles tendon injuries, to reduce the risk of re-rupture and to obtain a strong healing.

Material and Method: In our study, 20 male Sprague Dawley rats, 2-3 months old, weighing 300-350 g, were used. Rats were randomly divided into two groups. An atraumatic, full-thickness, straight incision was made in the right Achilles tendon

of both groups. The rats in the first group are the control group; After the tendon repair

was performed, no application was made to the repair area. After the tendon repair was performed on the rats in the experimental group in the second group; The dermis graft taken from the back was wrapped around the tendon repair area and sutured. Samples taken after the rats were sacrificed at the end of the 4-week follow-up; evaluated for histopathological examination (with semiquantitative Movin and Bonar scores), immunohistochemical examination (for type I and type III collagen density), and biomechanical studies. $P < 0.05$ was accepted as the statistical significance limit.

Results: In all samples, the tendon was intact, no rupture was observed. In terms of histological parameters, significant results were observed in the experimental group repaired with dermis graft ($p < 0.05$). In immunohistochemical examination, type I collagen and type I/type III collagen density were observed more in the experimental group. In the biomechanical examinations, statistically significant results were obtained in the experimental group ($p < 0.05$).

Conclusion: As a result of the findings obtained from the study, it was shown that dermis graft can contribute positively to the healing process after Achilles tendon injury in rats. Tendon repair with dermis graft; It can be a good alternative to other methods for tendon augmentation or strengthening. Larger studies are needed for clinical use of this technique.

Keywords: Rat, Achilles tendon, Tendon healing, Autologous, Dermis graft

1. GİRİŞ

Tendon yaralanmaları günlük hayatta acil servise başvuru sebepleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Aşıl tendon en sık yaralanan tendonlardan biridir. Kesici delici alet yaralanması, ezilme tarzında yaralanma, ateşli silah ile yaralanma, kapalı yaralanma gibi çeşitli yaralanma tipleri mevcuttur. İnsidansı yıllık olarak 7-40/100.000 olarak bildirilmektedir(1). Özellikle genç-orta yaşlı erkeklerde görülme sıklığı daha fazladır.

Aşıl tendonundaki zamanla dejenerasyon ve yetersiz perfüzyon kopma için risk taşır(2). Tedavi seçenekleri olarak konservatif ve cerrahi (perkütan veya açık cerrahi) seçenekler bulunsa da son yıllarda cerrahi tendon onarımı daha popülerdir(3). Konservatif takip edilen vakalarda immobilizasyon süresi ameliyat ile tedavi edilenlere göre yüksektir. Yapılan çalışmalarda ameliyat ile açık teknik tendon onarımında tekrar kopma gibi riskler daha düşük bulunmuş(ameliyatsız takip edilenlere göre); operasyon sonrası işe dönüşler daha erken bulunmuştur(3). Bu sonuç özellikle sporcularda aşıl kopmalarında işe erken dönüş ile sporcu kariyerini ciddi bir şekilde etkilemektedir.

Tendon onarımı cerrahi olarak yapıldıktan sonra hasta takiplerinde tekrar kopma(re-rüptür) gibi olumsuz durumlarla karşılaşmaktadır(4). Bu durum hastalardatekrar ameliyat ihtiyacından, uzuv fonksiyonunu bozup kısmi veya tam sakatlığa varacak kadar olumsuz durumlar meydana getirebilmektedir.

Yetersiz perfüzyon nedeniyle iyileşmesi sorunlu olan aşıl tendonu güçlendirmek için literatürde çeşitli yöntemler denenmiştir. Tendon güçlendirmesi için; Plantaris tendon grefti, fasyal flepler, sentetik greftler, çeşitli biyolojik materyaller(asellüler dermal matrix) kullanılmıştır(3,5-7). Ayrıca tendon iyileşmesini güçlendirmek için onarım bölgesine çeşitli enjeksiyonlar(kök hücre, PRP, otolog serum,büyüme faktörleri, hidrojel vs.) yapılmıştır(5,7-9). Bazı çalışmalarda onarımın güçlendiğini ve tekrar kopma oranının deri eşdeğeri biyolojik materyal ile onarımda daha düşük oranda olduğu gösterilmiştir(10).

Birçok farklı materyalin araştırıldığı bu alanda, güçlendirilmiş tendon onarımı için tam bir çözüm üretilebilmiş değildir. İdeal bir materyal için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Tendon onarım sonrası sıklıkla karşılaştığımız bu komplikasyonların önlenmesi açısından; mevcut haliyle rinoplasti ameliyatlarında dorsum augmentasyonunda(11), yarık dudak ameliyatlarında filtral kolon augmentasyonunda(12), skar revizyonu(13) gibi birçok operasyonda kullanılan deri dokusunun bir alt ünitesi olan dermis greftini kullanmayı planlamaktayız.

Deri ve tendon histolojik olarak incelendiğinde ortak hücresel içeriğe sahiptir (tip1 kollajen, fibroblast vs.)(14). Ortak hücresel içerik göz önünde bulundurulduğunda derinin dermal tabakası tendon onarımı sonrası onarımın güçlendirilmesi için kullanılabilir.

Literatürde derinin alt ünitesi olan dermis grefti üzerine ratlarda yapılan deneysel çalışmalar mevcuttur(15). Fakat bildiğimiz kadarıyla deri eki olan dermis greftinin, tendon iyileşmesi üzerine yapılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Yapacağımız çalışmada amaç; travmatik tam kat aşıl tendon kesisi sonrası onarımı takiben tendon güçlendirilmesi için dermis grefti kullanmaktır.

Dermis grefti kolay ulaşılabilen, maliyet olarak ucuz, öz doku olduğu için yabancı cisim reaksiyon ihtimali düşük ideal bir biyolojik materyal olabilir.

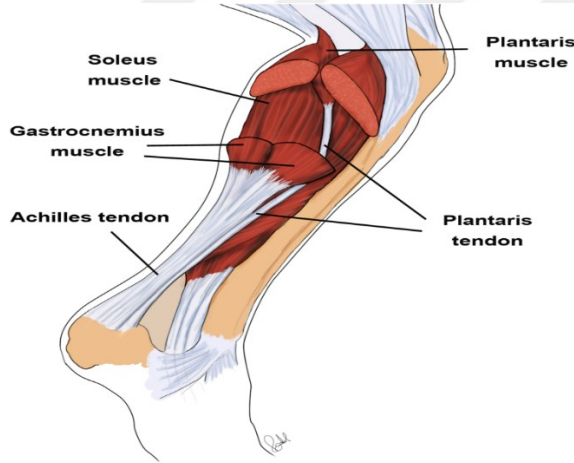
Otolog dermis greftinin ile tendon onarımında kullanıldığına dair(avantaj ve dezavantajlarını gösteren) detaylı bir çalışma bulunmamaktadır. Farklı alanlarda kullanılıp, faydası gösterilen bu dokunun tendon iyileşmesi üzerine olumlu etki edebileceği hipoteziyle bu çalışma planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Aşil Tendonu ile İlgili Genel Bilgiler

2.1.1 Aşil tendon anatomisi

Bacak bölgesinin yüzeysel kompartmanında bulunan ekstrasinoviyal bir yapı olan aşil tendonu, vücudun en dayanıklı ve geniş tendonudur(16). Bu tendon baldırın orta bölümünde gastrocnemius ve soleus kaslarının liflerinin birleşiminden oluşur(17). Proximalde gastrocnemius kasının lateral ve medial kısmı ile birlikte başlayan daha sonra soleus kasının birleşiminden oluştuğu için triceps surae olarak da adlandırılmaktadır. Plantaris kası ayrı bir yapı olarak değerlendirilirken, bazı kaynaklarda aşil tendonun yapısına katılabildiği gösterilmiştir(18). Tendon kalkaneustaki tüber calcaneiye yapışarak fonksiyonel olarak ayağın temel plantar fleksörüdür(Şekil 2.1). Tendonun lifleri 3 bölümden oluşur; santral liflerini soleus kası, anterior liflerini gastrocnemius kasının lateral başı, posterior liflerini ise gastrocnemius kasının medial başı oluşturmaktadır(19).



Şekil 2-1 Aşil Tendonu

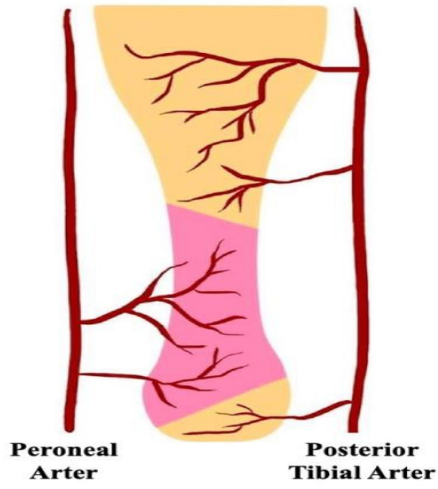
Yapılan çalışmalarda aşil tendonun uzunluğu 11-26 cm arasında değişmekle birlikte ortalama 15 cm'dir. Kalınlığı ise başlangıç yerinde ortalama 6.8 cm, orta kısmında 1.8cm, sonlanma bölgesinde ise ortalama 3.4 cm olarak tespit

edilmiştir(17). Orta bölümlere kadar yassı şekilde ilerleyen tendon, sonlanma bölgesine yaklaştıkça yuvarlaklaşır. Sonlanma yerinin ortalama 4 cm üstünde tamamen yuvarlaklaşıp(20); tendonun en dar bölümünü oluşturmaktadır. Bu noktadan sonra yuvarlak olan tendon yapısı distale doğru gittikçe tekrar yassılaşmaya başlar.

Aşıl tendonun kalkaneusa yapışma bölgesinde tendon ile çevre dokular arasında bursalar bulunmaktadır. Bunlardan en sık olanı tendon ile kemik arasında olan retrokalkaneal bursadır. Ön duvarı fibrokatilaginöz yapıda olan bursanın arka duvarı ince olup tendon ile bitişiktir(17). Daha nadir bulunan ise tendon ile cilt arasında bulunan yüzeysel bursa ve tendon ile plantar fasya arasında bulunan bursadır. Bu yapılar çevre ile sürtünmeyi azaltıp rahat bir hareket yeteneği sağlar.

Temel olarak aşıl tendonun beslenmesi sinovyal diffüzyon ve vasküler perfüzyon olarak iki bölüme ayrılmaktadır. Yapılan çalışmalarda beslenmede diffüzyonun perfüzyondan daha etkili olduğu gösterilmiştir(21,22).Aşıl tendonunda sinoviyal kılıf olmadığı için paratenondan difüzyon yolu ile beslenir. Paratenonun tendonun iç kısımlarına doğru ayrılan damarlar endotenonun içine doğru vasküler ağ oluşturur. Bu nedenle paratenonun aşıl tendon beslenmesinde önemli etken olduğu ortaya konulmuştur(23).

Popliteal arterin ana dallarından olan Posterior Tibial Arter(PTA) ve Peroneal Arter(PA) sırasıyla bacak posteriorunda medial ve lateral seyirli olarak uzanım göstermektedir. Tendonun vasküler perfüzyonu bu iki damarın dallarıyla olmaktadır. Tendonun proximal ve distal kısmı PTA ile sulanırken, orta kısım ise PA dalları ile sulanır(Şekil 2.2)(24). Tendon kanlanması ile ilgili yapılan bir çalışmada tendonun proksimal ve distalinde sırasıyla 73.4 damar/cm²ve 56.6 damar/cm²olan vasküler yoğunluk, tendonun orta kesiminde 28.2damar/cm² olarak saptanmıştır(25). Vasküler açıdan yetersiz olan tendon bölgelerinin, yaralanmaya yatkın olabileceği bölgeler ve iyileşme problemlerinin olabileceği bölgeler olarak tanımlanabilir. Ayrıca vasküler akımın yaşla azalabileceği de göz önünde tutulmalıdır(17).



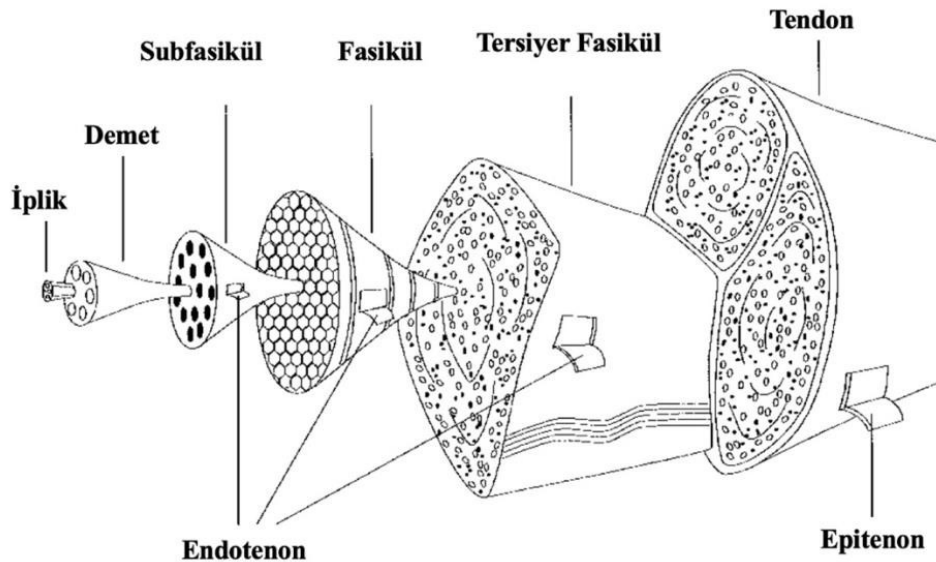
Şekil 2-2 Aşıl Tendon Kanlanması

Aşıl tendon temel olarak sural sinir tarafından duysal olarak inerve edilmektedir. Afferent sinir uçlarının büyük çoğunluğu, kemik-tendon bileşkesi ve çevresinde sonlanmaktadır ve dört çeşit reseptör gözlenmektedir: tip 1 basınç algılayıcı Ruffini korpuskülü, tip 2 hareketi algılayıcı Vater-Paccini korpuskülü, tip 3 mekanik etki algılayıcı golgi tendon aparatı ve tip 4 ağrı duyusunu algılayan serbest sinir uçlarıdır. Aşıl tendonun yapışma yerine yakın komuluğundan dolayı; sural sinir, aşıl tendon cerrahilerinde risk altındadır(24).

2.1.2 Aşıl tendon histolojisi

Tendonlar, kaslardan aldığı enerjiyi kemiğe ileterek iskelet sisteminde ekleme hareket kazandıran yapılardır. Sağlıklı tendon fibroelastik bir yapıya sahiptir ve rengi beyazdır. Yapısal olarak yoğun düz bağ dokusu içermektedir. Genel olarak tenosit hücreleri ve Ekstrasellüler Matrix(ECM) bileşeninden oluşmaktadır(26). Toplam ağırlığının %30'u kadar kuru tendon ağırlığını oluştururken; %70'i ise içeriğindeki su miktarıdır(27). ECM içeriğinin yaklaşık yaklaşık %31'i kollajen, yaklaşık %2'sini elastin kalan kısmını ise su oluşturmaktadır. Bu bileşendeki kollajenlerin %90'ından fazlasını Tip I kollajen oluşturmaktadır(26).

Tip I kollajen yapılarak birleşerek iplikleri oluşturur. İpliklerin paralel düzlemde birleşmesiyle demetler oluşur. Demet yapılarına nörovasküler yapıların eklenmesiyle fasiküller oluşur. Endotenon ile kaplı fasiküller makroskopik tendon yapısını oluşturur(Şekil 2.3)(28). Tendonun dış tabakasında epitenon ve para tenon yapıları mevcut olup; iki yapı arasında sürtünmeyi azaltan gevşek bağ dokusu mevcuttur. Tendonun en vasküler kısmı olan paratenondur(28). Yapısında gerçek sinovya olmadığı için aşıl tendon için koruma görevi görmektedir.



Şekil 2-3 Tendonun Histolojik Yapısı

Tendona biyomekanik özelliğini kazandıran, kollajenden sonra en önemli yapı elastindir. Toplam tendon ağırlığının %1'inden azını oluşturur(24). Tendona biyomekanik özelliklerini kazandıran elastin, fonksiyonel olarak kollajenden oldukça farklıdır. Yük altında kendi boyunu %200'e kadar uzatıp, tekrar eski haline dönme kabiliyetine sahiptir(17). İstirahat halindeki bir tendonda normal miktarlardaki elastin tendona normal gevşeyebilme yeteneği kazandırırken, fazla miktardaki elastin kasılma sırasında yükü tendondan kalkaneusa iletmekte zorluğa neden olabilir(17).

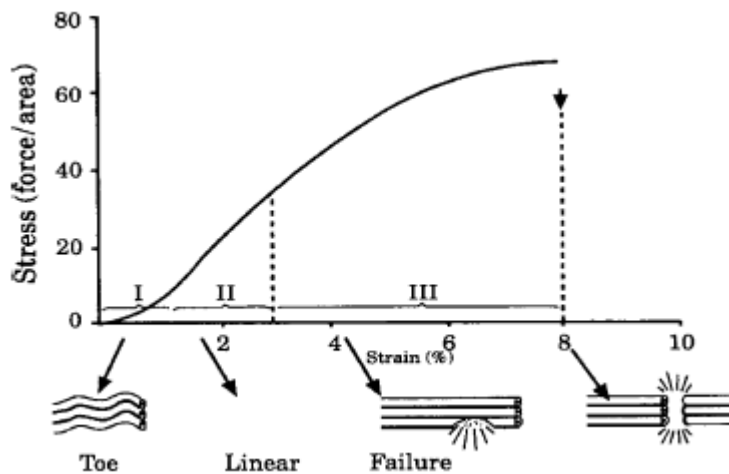
Sağlıklı tendon yapısında %90 Tip I kollajen bulunur. Ancak yaralanmalardan sonra en fazla Tip III kollajen üretilir ve Tip I kadar esnek değildir(29). Yaşlanmayla birlikte tendon yapısındaki Tip I kollajen miktarı azalıp elastikiyet azalmasıyla rüptüre daha duyarlı hale gelmektedir. Dejenere olan tendonda Tip III kollajen hakimiyeti olur. Tip I kollajen kadar dayanıklı olmayan, Tip III kollajen hakimiyeti olan durumlarda tendonlar rüptüre daha meyilli olmaktadır(30).

2.1.3 Aşıl tendon biyomekaniği

Tendonlar kastan aldığı enerjiyi kemiğe ileterek eklemden hareket sağlayan yapılardır. Tendonlar bu işlevi gerçekleştirdikten sonra kasılma sonrası oluşan deforme halini tekrar orijinal haline döndürme yeteneğine sahiptir. Kollajenlerin aoluğum paterni mekanik değişiklikleri etkiler.

İstirahat halinde kıvrık şekilde duran kollajen lifleri, %2'lik gerim uygulandığında düz bir şekil almaktadır. Bu yüzden tendonların gerim kuvvetlerine yanıtı liflerin düzleşmesidir. Bu gerim %4'e kadar uygulandığında, gerim altındaki tendon eski haline dönme meyilindedir(16). Uygulanan gerimin %4'ün üzerine çıkmasıyla mikroskobik değişiklikler ortaya çıkar. %8-10 arasında makroskobik değişiklikler görülürken, %10 üzerindeki gerimlerde rüptür meydana gelmektedir(27)

Aşıl tendonu biyomekanik ölçümlerinde en sık kullanılan yöntemlerden biri in vitro şartlarda yapılan gerilim-gerinim eğrisidir(17)(Şekil 2.4). Biyomekanik analizler sonucunda koşu sırasında aşıl tendona binen yükün 9000N olarak hesaplanmış olup, bu aşıl tendona uygulanan maksimum yüke yakın olduğu saptanmıştır.



Şekil 2-4 Aşıl Tendon Gerilim-Gerinim Eğrisi

Bir kollajen molekülünün dayanıklılık gücünü oluşturduğu bağlar ve fibrilin çapı belirler. Bundan dolayı kollajen fibrillerinin çapının artması biyomekanik dayanıklılığını artırmaktadır(31). Dejenere olmuş veya iyileşme sürecinde olan tendonlarda; yoğunluğu artan tip III kollajen fibril çapının tip I kollajen'e göre daha küçük ve gerilme kuvvetlerine karşı daha dayanıksız olduğu bilinmektedir(32).



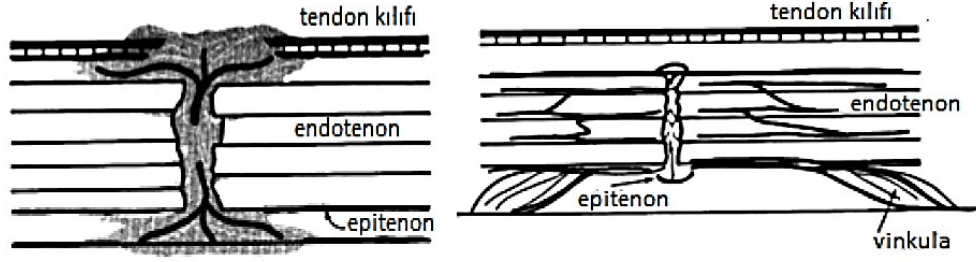
2.2. Aşıl Tendon İyileşme Süreci

Başarılı bir tendon onarımı için tendon iyileşme sürecinin bilinmesi gerekmektedir. Rüptür olan bir tendonda tedavinin nihai amacı tendonun yaralanmadan önceki hareket yeteneğini mümkün mertebe geri kazandırmaktır. Tedavi şekli fark etmeksizin yaralanma sonrası iyileşen bir tendonun, yaralanma öncesi orijinal biyolojik ve mekanik durumlarını tam olarak yakalayamazlar(33,34).Biyomekanik özellik kaybı dağınık kollajen lifleri ve tendonlarda hücre dışı matriks bileşimi ile skar dokusu gelişimine bağlıdır.Aşıl tendon yaralanmalarında konservatif tedavinin rüptür riskini artırdığı, tendonun uzayarak iyileşebileceği ve buna bağlı olarak ayağın plantar fleksiyonun bozulabileceği unutulmamalıdır. Fonksiyonel bir onarım için dikkatli ve kibar bir cerrahi diseksiyon yapıp halihazırda vasküler yapısı zayıf olan tendonun dolaşımını daha fazla bozmamak gerekmektedir. Ardından uygun sütür materyali ve uygun dikiş yöntemi ile boşluksuz uç-uca bir onarım yapılmalıdır. Daha sonra iyileşmeye bırakılan tendona yapılacak olan erken rehabilitasyon başarılı bir tendon onarımında kilit rol oynamaktadır.

Tendon iyileşmesinde iki farklı iyileşme modeli bilinmektedir(Şekil 2.5). Bunlardan biri çevre dokulardan kaynaklı granülasyon dokusu destekli fibroblastik aktivite olan ekstrinsik iyileşmedir. Diğeri ise endotenon ve epitenon kaynaklı tenosit hücrelerinin tenoblastlara dönüşmesiyle, fagositoz ve kollajen üretim aşamasıyla devam eden intrinsik iyileşmedir(35). Genel olarak tendonda intrinsik iyileşme esastır. Ekstrinsik iyileşme hâkimiyetinde tendon ve çevre dokular arasında yapışıklık gibi sorunlar baş göstermektedir.

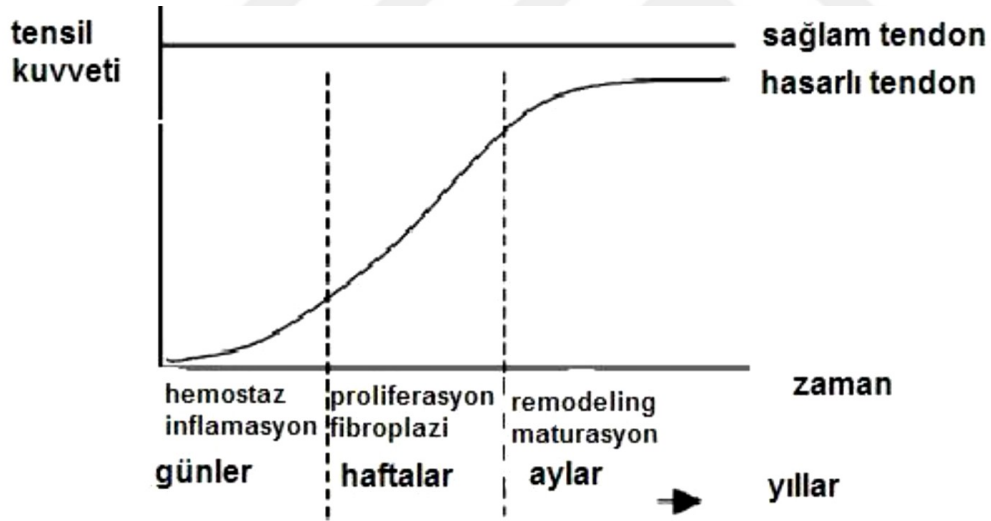
Ekstresek iyileşme

İntrensek iyileşme



Şekil 2-5 İntrinsik ve Ekstrinsik İyileşme

Tendon iyileşmesi birbirini takip eden inflamasyon evresi, proliferasyon evresi ve remodelling evresi olmak üzere 3 süreç içerisinde gerçekleşmektedir(Şekil 2.6).



Şekil 2-6 Tendon İyileşmesi ve Tensil Gücü

2.2.1 İnflamasyon evresi

Yaralanma döneminin 0-5.günlerini oluşturur. Vazodilatasyon ve lokal kan akımında artış olur. Vasküler permeabilite artışından sonra ödem oluşur. İnflamatuvar dönemin en belirgin özelliği hücre migrasyonu ve fagosit aktivasyonudur. İnflamatuvar fazda ilk olarak eritrositler ve inflamatuvar hücreler, kısmen nötrofiller yaralanma alanına girerler. Nötrofiller yara bölgesine 4-6 saat arasında ulaşır, 24-48 saat arasında da elimine olurlar. Makrofajlar ise 2 ile 3 gün içinde yaralanma bölgesine gelir ve daha kalıcıdır. Yaralanmayı takiben başlayan inflamasyon 1-3 günde giderek artarak en yüksek seviyeye ulaşır. Bu süreçte hipoksinin ve inflamasyonun etkisiyle yaralanan dokularda nekroz gelişimi başlar. Makrofajlar bu nekrotik materyalin fagositozundan sorumludurlar. Artmış geçirgenlik sayesinde vazoaktif ve kemotaktik föktörler serbestleşir, anjiogenezin artmasıyla tenositlerin proliferasyonu uyarılır ve daha fazla inflamatuvar hücre uyarılır(36) . Tenositler yara yerine yerleştikçe tip III kollajen sentezi başlar (37) .

2.2.2 Proliferasyon evresi

Sürecin 5-21. günlerini oluşturmaktadır.Yara bölgesine fibroblastlar 8 saat ile 10 saat arasında gelir. Eş zamanlı olarak kollajen sentezi de başlar. Fibroblast proliferasyonu 3. gün belirginleşir, 5 gün ile 7 gün arasında en yüksek seviyelere ulaşır ve yaklaşık olarak 10 gün sürer.

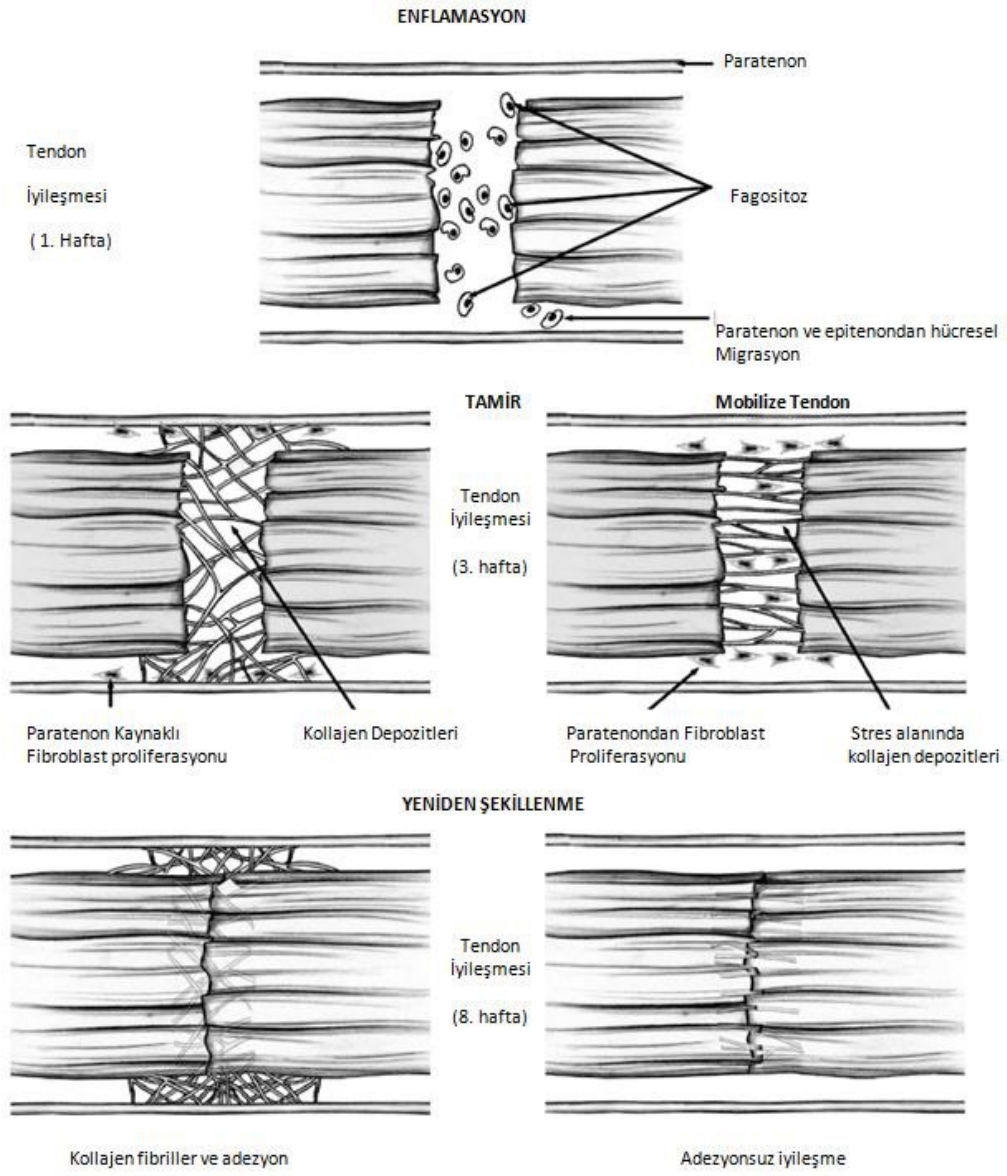
Tip III kollajen üretiminin en yoğun olduğu dönemdir ve kollajen dizilimi düzensizdir(Şekil 2.7). Su içeriği ve glikozaminoglikan konsantrasyonları bu aşamada yüksek kalır. İyileşme sürecinde oluşan ana kollajen Tip III kollajendir fakat gerilim gücü zayıftır. Tip III kolajen zamanla yerini Tip I kollajene bırakır. Hücrel çoğalma ve matriks oluşumu ile karakterizedir.(37)

2.2.3 Remodelling evresi

Bu faz 3. haftadan sonra başlayıp aylar kadar süren bir süreçtir. İyileşme sürecinin başında kollajen sentezi hâkimdir. Remodelling fazında kollajen sentez hızı azalmasına rağmen gerilme ve kırılma kuvveti artmaya devam eder(38,39).

Remodelling fazı konsolidasyon ve matürasyon olarak temel olarak iki bölüme ayrılabilir. Konsolidasyon 6. haftada başlar ve 10. haftaya kadar sürer. Onarılan tendon dokusu hücresel birhalden fibröz bir hale döner. Tenosit metabolizmasındaki artış devam eder. Tenositler ve kollajen lifleri, yük eksenine doğrultusunda dizilirler. Bu dönemde yüksek oranda tip I kollajen sentezi olur. Onuncu hafta sonunda matürasyon başlar ve fibröz doku, skar benzeri tendon dokusuna dönmeye başlar. Kollajen matürasyonu sırasında kollajen molekülleri arasındaki çapraz bağların sayısı ve kalitesi artar(38,39). Bu dönem yaklaşık bir yıl sürer. Dönemin ikinci yarısında, tenosit metabolizması ve tendon vaskülaritesi azalır(39,40).





Şekil 2-7 Tendon İyileşmesinin Evreleri

2.3

2.3. Aşıl Tendonun Yaralanma Mekanizmaları

Aşıl tendon rüptürü sık görülen tendon yaralanmalarından biridir. Rüptürler çoğunlukla erkeklerde, spor aktiviterlerinde ve sol taraflı meydana gelmektedir(41,42).Rüptürlerin en sık oluşum mekanizması; diz ekstansiyonda iken ön ayağa uygulanan kuvvet sonrası ayağın ani dorsifleksiyonu sonucudur.Aşıl tendonunun spontan rüptürlerine inflamatuvar, otoimmün, kolajen doku ve nörolojik hastalıklar neden olarak gösterilebilmektedir(43).

Rüptüre neden olan sebepleri kesin olarak belirlenememek zordur. Yapılan bazı çalışmalarda öne sürülen çeşitli teoriler mevcuttur. Bunlardan biri dejenerasyon teorisidir. Bu teoriye göre kronik dejenerasyonu olan tendonda aşırı yüklenme olmadan bile tendonda rüptür meydana gelebilir(44).Tekrarlayan küçük travmalar, yaşlanma ve tendonun belli alanlarındaki damarlanma azlığı şüphelenilen yatkınlık faktörleridir. Yapılan bir çalışmada akut kopma sonrası cerrahi tedavi sırasında alınan biyopsi materyallerinde aşıl tendonunda hipoksik, mukoid dejenerasyon, tendinolipomatozis, kalsifiye tendinit gözlemlenmiştir ve bu değişikliklerin kopma öncesinde var olduğu söylenmektedir(45).

Tendon rüptürleri, anjiyografik çalışmalarda gösterdiği gibi göreceli olarak hipovasküler bölge olan kalkaneal yapışma yerinin 2–6 cm üstünde olur(46).

Hareket sırasında açığa çıkan ısının tendon hücreleri üzerindeki olumsuz etkiden dolayı, hiperterminin tendon dejenerasyonuna neden olabileceği gösterilmiştir(47).

Kinolon grubu antibiyotiklerin kullanımı, kortikosteroidlerin enteral ve parenteral gibi sistemik uygulamaları ile perkütan ve intratendinöz gibi lokal uygulamaları tendinopati zemininde aşıl tendon yırtıklarına neden olabilir(48,49).

Hasarlanmamış tendon taşıyabileceği gerilme kuvvetlerinin üzerinde güce maruz kaldığında rüptüre olabileceği gibi, aşırı yüklenme sonucunda muskületendinoz bileşkede bulunun aşırı gerilmeyi önleyici inhibitör mekanizmaların yetmezliği de rüptür mekanizmalarından sorumlu tutulmuştur(50).

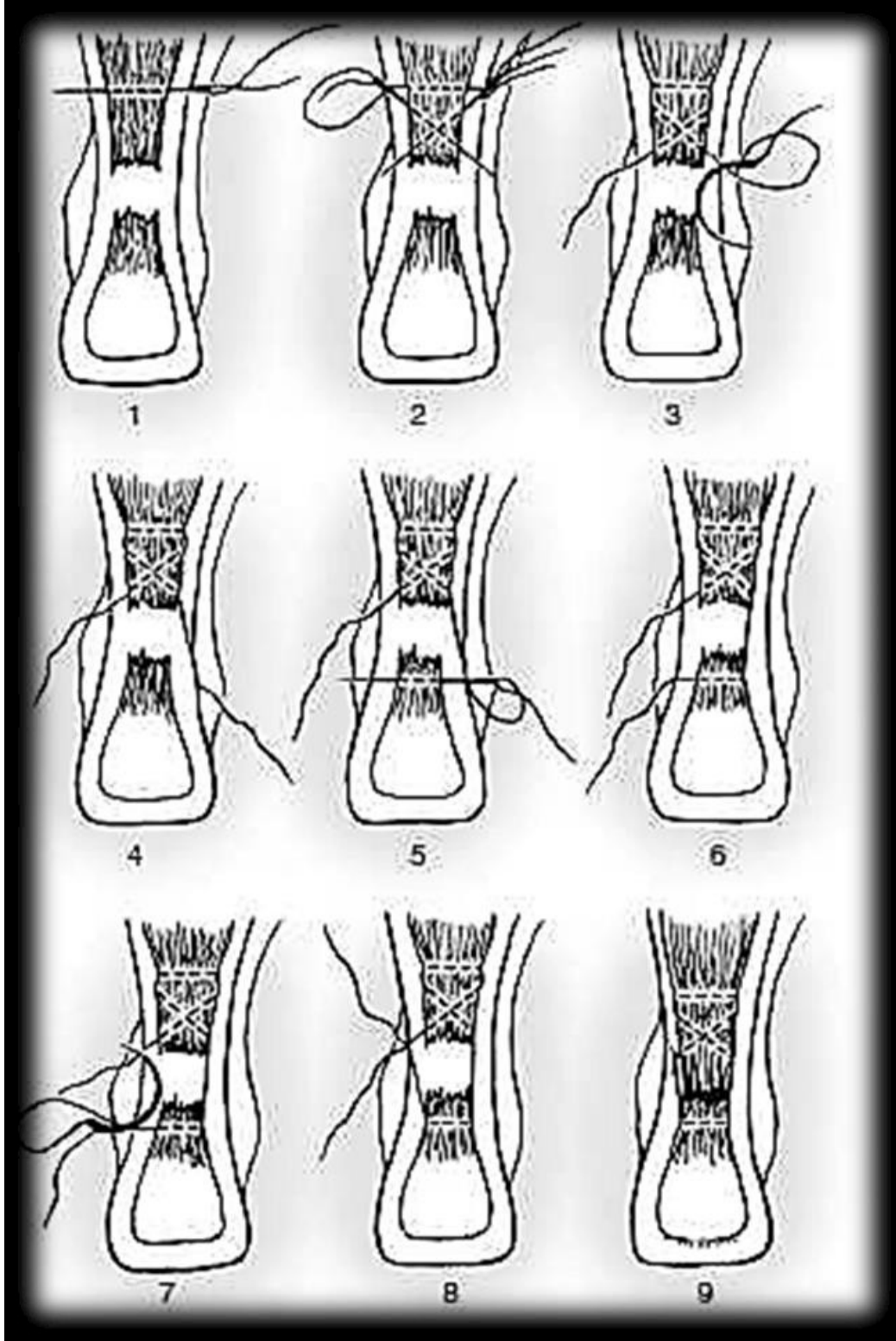
2.4. Aşıl Tendon Rüptürlerinde Tedavi

Rüptür tedavisi konservatif tedavi ve cerrahi tedavi olarak ikiye ayrılmaktadır. Her iki tedavi seçeneğinin de avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Tedavi seçimi konusunda ortak bir görüş bulunmamakla birlikte, cerrahın ve hastanın tercihinine bağlı olarak değişmektedir. Genel kabul gören yaklaşım; sedanter yaşam tarzı olan ve komorbid hastalıkları fazla olan hastaların konservatif tedavi edilmesi; genç, aktif hastalar ile sporcularda cerrahi yöntemlerin tercih edilmesi yönündedir(51,52).

Yapılan bazı çalışmalarda konservatif tedavi ve cerrahi tedavinin hareket sınırları, kuvvet, g    ve fonksiyonel seviye açısından benzer sonuçlar verse de(53); bazı çalışmalarda konservatif tedavide rer  pt  r oranının yüksek olduğu, cerrahi tedavide düşük rer  pt  r oranı, düşük enfeksiyon oranı nedeni ile cerrahi tedavi önerilmektedir(54). Bundan yola çıkılarak hastalara uygulanacak olan tedavinin standart bir tedaviden ziyade, hastaya özel tedavinin seçilmesi daha uygun olacaktır.

Konservatif tedavi prensibi ayak bileğine ekin pozisyonunda uygulanacak alçı ile rehabilitasyondanoluşmaktadır. Alçı içinde geçen süre genelde 6-8 hafta arasındadır(41). Yapılan çalışmalarda konservatif tedavideki başarısızlığın ve yüksek re-  pt  r oranlarının en önemli nedenlerinden biri de immobilizasyonun gereğinden kısa ve yetersiz yapılmasıdır(53). Bu tedavi yönteminde rer  pt  r oranları %6-39 arasında değişkenlik göstermektedir(52). Ayrıca bu yöntemde tendon uzunluğu korunamaz ve uzun kalır, dolayısıyla yürümenin salınım öncesi fazını yapamaz. Koşma, merdiven inip çıkma, sıçrama gibi aktiviteler kısıtlanır(55).

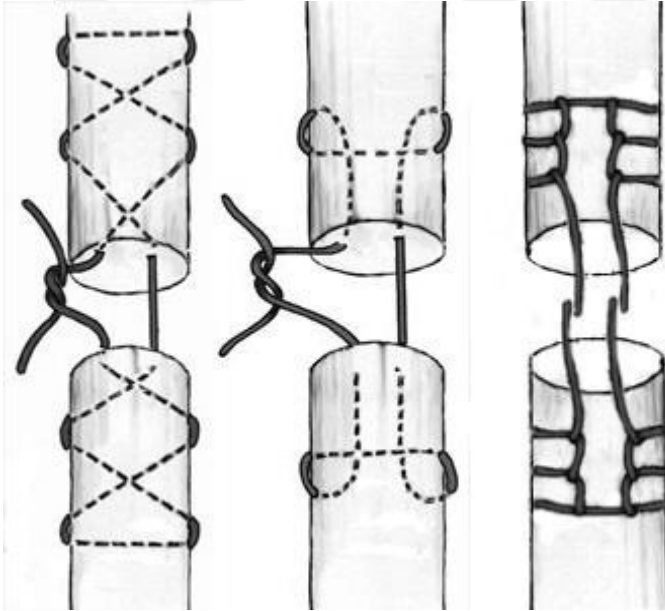
Cerrahi tedavi ise perkütan onarım ve açık cerrahi teknik olarak ikiye ayrılır. Perkütan tamir; açık cerrahi teknik ile konservatif tedavi arasında bir teknik sayılabilir. Bu teknikte onarım bölgesine kesi atılmadan; medial ve laterallere mini insizyonlar a ılır(şekil 2.8). Bu teknikte cerrahi tekniğe göre rer  pt  r oranları daha yüksek ve yüksek sural sinir sıkışma oranları rapor edilmiştir(41).



Şekil 2-8 Perküitan Tamir Tekniği

Açık cerrahi tedavisinde amaç tendonun uzunluğunu koruyacak biçimde uç-uca gelecek şekilde birleştirip iyileşmeye bırakmaktır. Yaş, komorbidite, ilaç kullanım öyküsü, yaralanma şekli, tendon uçlarının durumu, tendon uçlarının durumu vb. gibi etkenler cerrahide başarı şansını etkileyen faktörlerdir. Ayrıca operasyon tekniği, operasyon sonrası takip ve tedavinin de başarı şansı üzerine etkisi vardır.

Açık cerrahi tamirde Kessler, Bunnel, Krackow en sık kullanılan dikiş tekniklerindendir (56,57)(Şekil 2.9). Ayrıca kalkaneal tamir tekniği, Lynn tekniği, Teuffer tekniği, Bosworth tekniği, Abraham ve Pankovich tekniği, Lindholm tekniği gibi birçok onarım yöntemi mevcuttur(58).

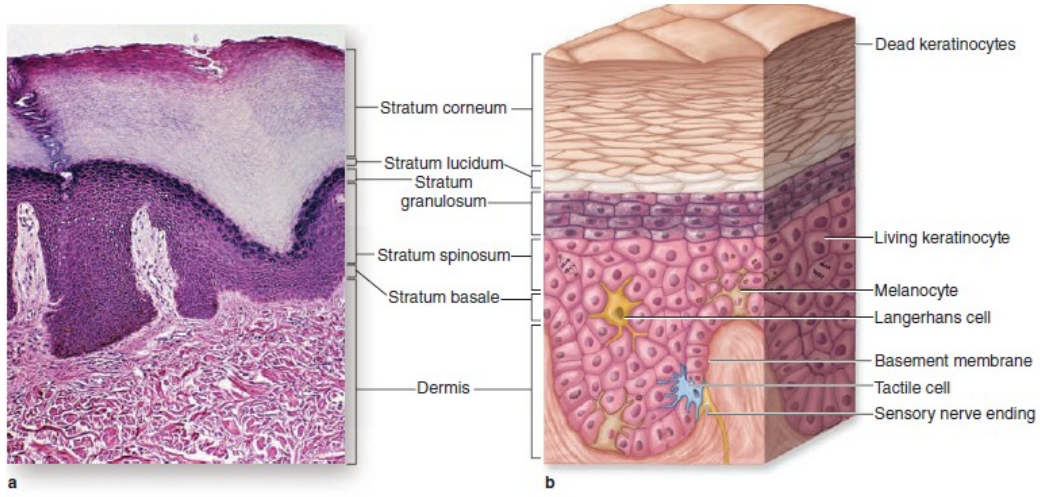


Şekil 2-9 Bunnel, Kessler ve Krackow Tekniği

Cerrahi ve konservatif tedavilerin kıyaslamasında en çok kullanılan parametre rerüptürdür. Soroceanu ve ark. tarafından yayınlanan bir meta-analizde cerrahi tedavinin rerüptür riskini %5.5 azalttığını göstermiştir. Yara enfeksiyonu, sural sinir yaralanması gibi komplikasyonlar sadece cerrahi tedavide görülür. Cerrahi ve konservatif tedavi metotları arasında ayak bileği hareket açıklığı ve fonksiyonel skorlar açısından anlamlı fark bulunmazken, cerrahi tedavi uygulanan hastaların işe geri dönüşlerinin erken olduğu gösterilmiştir(59,60).

2.5. Dermis Grefiti

Deri vücudumuzda bulunan en büyük organdır. Temel olarak epidermis ve dermis olarak iki histolojik alt ünitelerden oluşur. En üst tabakada bulunan epidermiste çoğunlukla Keratinosit hücreleri olmak üzere, pigment üreten Melanosit hücreleri, reseptör görevi gören Merkel hücreleri ve antijenik özellik bulunduran Langerhans hücreleri mevcuttur. En üstten en alta doğru Stratum Corneum, Stratum Lucidum, Stratum Granulosum, Stratum Spinosum, Stratum Basale olarak sınıflanır(Şekil 2.10). Epidermiste vasküler yapılar bulunmadığından dermisten diffüzyon yolu ile beslenir.



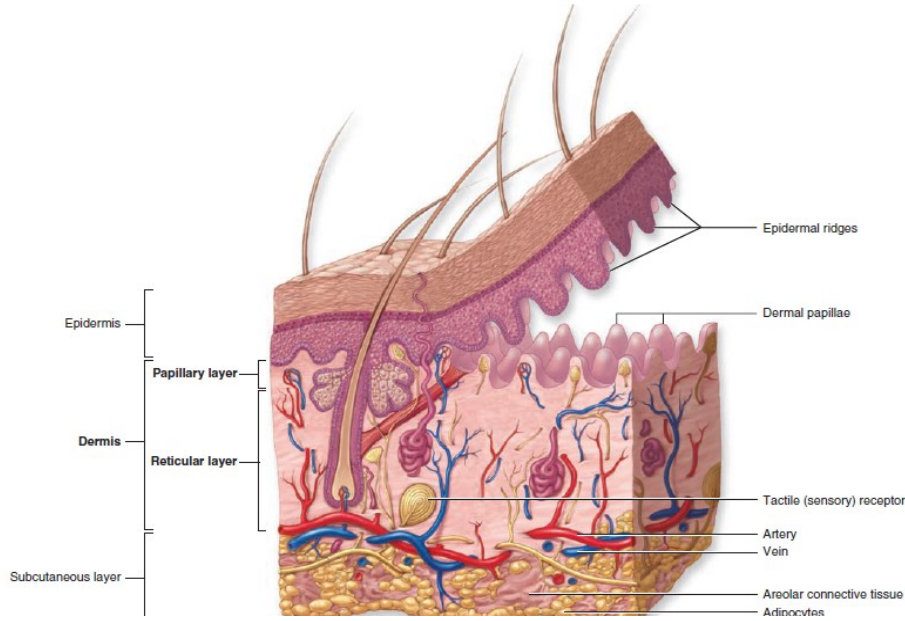
Şekil 2-10 Epidermis

Dermis ise epidermin hemen altında bulunur. Dermis; sinir ve damar ağlarını, epidermal olarak türetilmiş uzantıları, fibroblastları, makrofajları ve mast hücrelerini barındıran bir fibröz ve amorf bağ dokusu sistemidir. Elastin ve kollajen ana hücrelerdir. Kollajen cilde gerilme mukavemeti sağlarken, elastin elastikiyetten sorumludur(61). Papiller ve retiküler dermis olmak üzere iki tabakadan oluşur(Şekil 2.11). Deriye direnç, esneklik ve elastikiyet sağlayan dermiş dokusu vasküler açıdan zengindir. Papiller tabaka Tip I-III kollajen, mast hücreleri, fibroblast ve dendritik hücrelerinin bir araya getirdiği ince, gevşek bağ dokusundan oluşur(62). Retiküler tabaka daha kalın olup düzensiz yoğun bir bağ dokusundan oluşur. Retiküler dermiste daha az hücre bulunur, ancak daha çok elastik ve kollajen lif bulundurur. Ciltaltı bağ dokusunda büyük musküler arter ve venler bulunur. Bu damarlar cilde

paralel seyrederek ve bunlardan çıkan daha küçük damarlar ise dermisin asıl kan dolaşımını sağlar. Bu küçük damarlardan oluşan ağ papiller dermiste papiller pleksusu, daha derinde ise retiküler pleksusu oluşturur. Epidermis bu zengin damarsal ağdan difüzyon yoluyla beslenir. Cilt lenfatikleri hem yüzeysel hem de derin pleksusta bulunup venüllere eşlik eder.

Myelinli ve myelinli olmayan sinir subpapiller dermal pleksusu oluşturur. Myelinli sinir lifleri epidermise ve dermisteki Meissner ve Pacini cisimcikleri dahil duyu reseptörlerine sinir uçları sağlar (63). Lucidum tabakası bulunan avuç içinde ve ayaktabanında papiller dermiste yoğun bir şekilde Meissner cisimcikleri bulunur, bunlar mekanoreseptör görevi görür. Pacini cisimcikleri ise dermisin daha alt tabakasında ve subkutan dokuda bulunup derin basınç duyusunu sağlar (63).

2-1



Dermis ve Epidermis Tabakaları

Şekil

1

3. GEREÇ ve YÖNTEM

‘Otolog Dermis Greftinin Rat Aşıl Tendonu İyileşmesi Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi’’ başlıklı tez çalışması Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun (DÜHADEK) 30/06/2022 toplantı tarihinde alınan kararla 2022/41 protokol numaralı çalışma onayı alındı. Helsinki Deklarasyonuna ve Avrupa Konseyinin önerdiği şartlara uyularak çalışma Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM) bünyesinde gerçekleştirildi. Çalışma sonunda ratlardan alınan örneklerin histopatolojik incelenmesi Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarında, biyomekanik testler ise Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Ana Bilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Bu araştırmanın mali desteği Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TIP.22.029proje numarası ile sağlanmıştır.

3.1 Deney Hayvanları

Çalışmada 20 adet Sprague-Dawley türünde ortalama 300-350gr ağırlığında 12-16 haftalık erkek ratlar kullanıldı. Deney hayvanları 4 hafta boyunca 21-24 °C’de, %50-70 nem oranında, 12 saatlik aydınlık-karanlık siklusüne uyularak tutuldu. Ameliyat öncesi ve sonrası dönemde standart sıçan yemi kullanıldı ve suları (ad libitum) olarak verildi.

Stres ve korku ortamı oluşturmamak adına tüm hayvanlara 3 günlük alışma süreci sonrasında işlem başlatıldı. Deneyler başlanmadan önce laboratuvarın veteriner hekimi sıçanları değerlendirdi. Sıçanlarda beslenme yetersizliği, enfeksiyon veya açık yara gibi bulguların yanı sıra başka bir sağlık problemini işaret edecek herhangi bir bulguya rastlanmadığı doğrulandı. Tüm deney hayvanlarında cerrahi işlemler genel anestezi altında, veteriner hekim gözetiminde yapıldı.

3.2 Deney Grupları

Çalışmada biri kontrol grubu diğeri de deney grubu olmak üzere toplamda iki grup oluşturuldu. 20 adet sıçan randomize olarak 10'arlı olmak üzere iki gruba ayrıldı. Her kafeste 5 hayvan olacak şekilde 4 kafeste(2 deney- 2 kontrol) takipleri yapıldı.

Kontrol grubu: Sıçanların sağ aşil tendonu kalkaneusa yapışma yerinden yaklaşık 0.5 cm proksimalden tam kat olarak kesildi. Modifiye kessler yöntemi ile aynı seansta dikildi. 28. Gün sıçanlar sakrifiye edildi ve aşil tendon numuneleri alındı.

Deney grubu: Sıçanların sağ aşil tendonu kalkaneusa yapışma yerinden yaklaşık 0.5 cm proksimalden tam kat olarak kesildi. Modifiye kessler yöntemi ile aynı seansta dikildi. Sonrasında hayvanın sırtından alınan dermis grefti tendon onarım bölgesine yerleştirildi.28. Gün sıçanlar sakrifiye edildi ve aşil tendon numuneleri alındı.

Tablo 3-1 Gruplar ve Yapılan İşlemler

Grup Adı	Uygulanan işlem	Bakım süresi	Hayvan sayısı
Kontrol	Tam kat kesi+ primer onarım	28 gün	10
Deney	Tam kat kesi+ primer onarım+Dermis grefti ile rekonstrüksiyon	28 gün	10

3.3 Cerrahi Girişim

Cerrahi işlemler ve enjeksiyonlar aynı cerrahi ekip tarafından gerçekleştirildi. Tüm hayvanlarda sağ aşil tendon kullanıldı. Aseptik şartlarda tüm sıçanlara intramüsküler yolla ketamin hidroklorür (50 mg/kg-Ketalar®, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve xylazine hidroklorit (5 mg/kg-Rompun®, Bayer, Türkiye) verilerek tüm cerrahi işlemler genel anestezi altında yapıldı. Anestezi derinliği parmak kıstırma,

ekstremitte çekme yanıtı yoluyla kontrol edildi, gerek duyulduğunda ekstra doz ilaç verildi.

Genel anestezi sağlandıktan sonra hayvanların sağ arka bacağı tıraş edildi ilave olarak deney grubundaki hayvanların sırt bölgesi de tıraş edildi. Cerrahi alanlar povidon iyot çözeltisi ile boyandı.

Kontrol Grubu: Aşıl tendonuna klasik posteromedial longitudinal yaklaşım 2 cm'lik insizyon ile girilerek cilt geçildi. İnsizyon tendon kılıfına kadar keskin olarak geçildi. Aşıl tendonu ve plantaris tendonu explore edildi. Klemp yardımı ile aşıl tendonu iyice yakın yumuşak dokulardan sıyrıldı(Şekil 3.1). Tüm sıçanların aşıl tendonu 11 nolu bistüri kalkaneusa yapışma yerinin yaklaşık 5 mm proksimalinden tam kat olarak kesildi(Şekil 3.2).



Şekil 3-12 İnsizyon ve Tendon Explorasyonu

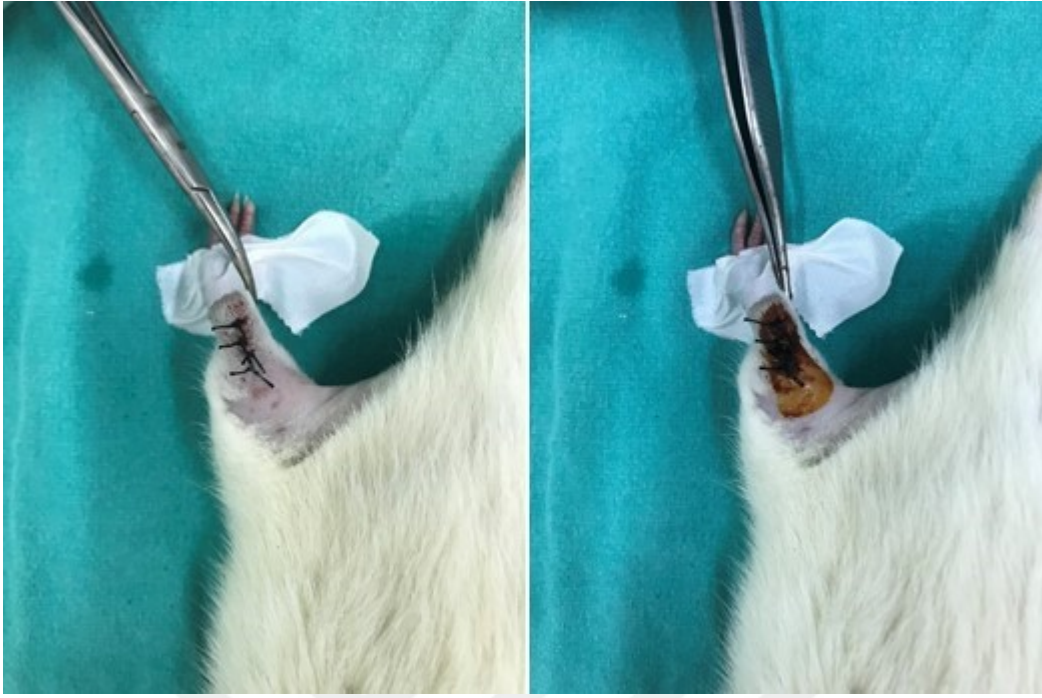


Şekil 3-13 Tendon Kesi Modeli

Kesik olan tendon uçları 4/0 Propilen suture(Doğsan, İstanbul, Türkiye) kullanılarak modifiye Kessler yöntemi ile uç-uca onarım yapıldı(Şekil 3.3). 3/0 ipek/silk suture (Doğsan, İstanbul, Türkiye) ile deri dikişleri atıldıktan sonra povidon iyot çözeltisi ile pansuman yapıldı(Şekil 3.4). Postoperatif ağrı kontrolü için 5mg/kg dozunda Tramadol intraperitoneal olarak uygulandı. İmmobilizasyon uygulanmadığından atel uygulaması yapılmadı. Deney bitiminden sonra hayvanlar kafeslerine alındı.

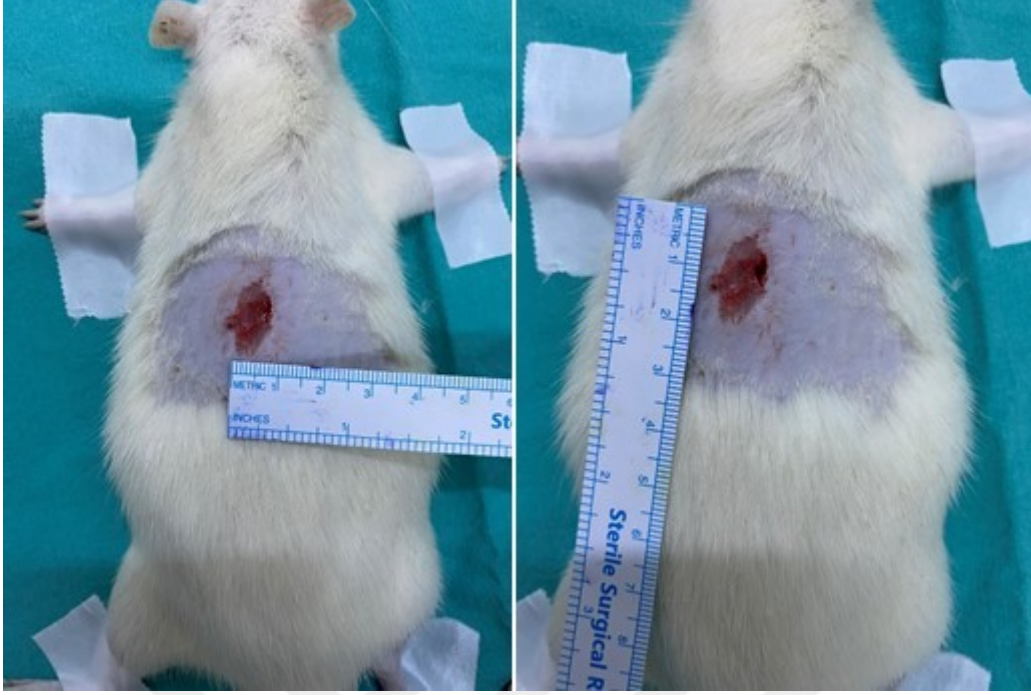


Şekil 3-14 Aşil Tendon Onarımı



Şekil 3-15 Cilt Sütürasyonu ve Yara Yeri Pansumanı

Deney Grubu: Sıçanın sırtında 1x2 cm'lik eliptik bir deri adası cerrahi kalem ile işaretlendi. İşaretlenen deri adasına 10 nolu bistüri kullanılarak, en üst tabakadaki epidermis de-epitelize edildi(Şekil 3.5). Ardından insizyonlar tamamlanıp dermiş grefti alındı(Şekil 3.6). Graft alındıktan sonra retrakte olup küçülmemesi için içerisinde serum fizyolojik bulunan bir kaba konuldu. Ardından greft alınan donör bölgesi 3/0 keskin ipek suture ile gerginliksiz primer suture edildi(Şekil 3.7). Daha sonra kontrol grubunda olduğu gibi; sağ aşil bölgesine 2 cm'lik longitudinal insizyon açılıp aşil tendonu explore edildi. Tendona 11 nolu bistüri ile tam kat kesi uygulandıktan sonra modifiye Kessler yöntemi ile tendon onarımı yapıldı.



Şekil 3-16 Dermis Grefti Tasarım ve De-epitelizasyon

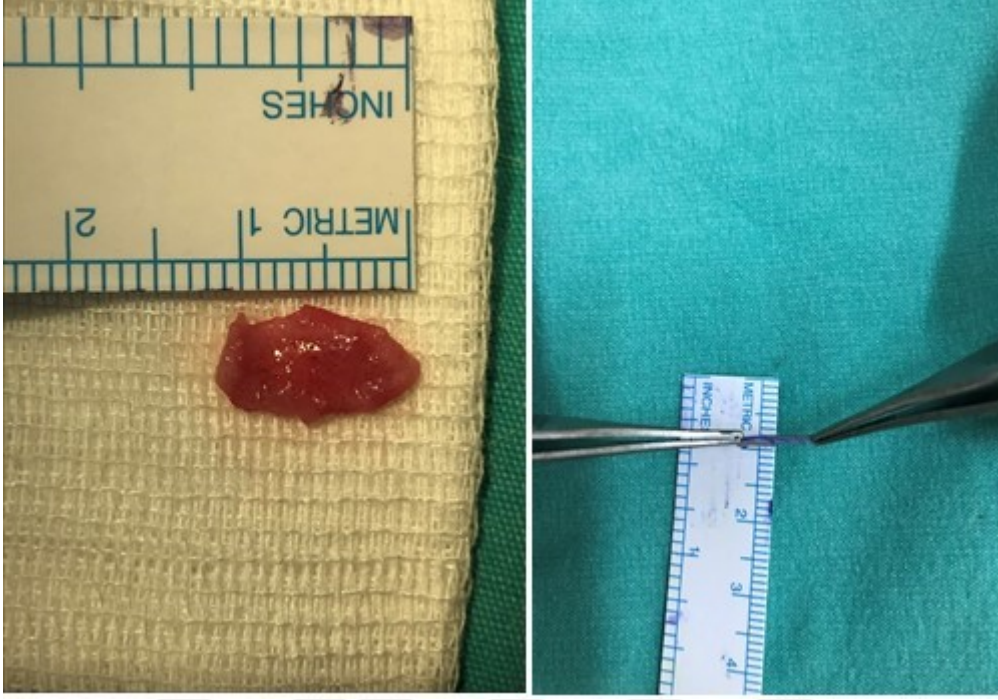


Şekil 3-17 Dermis Grefti Alınması



Şekil 3-18 Donör Alan Kapaması ve Yara Yeri Pansumanı

Tendon onarımı yapıldıktan sonra alınan dermiş grefti(Şekil 3.8), tendon onarım bölgesini çepeçevre saracak şekilde yerleştirildi(3.9). Ardından tendonu saran ve tüp halini alan dermiş greftinin uçları, 6/0 Tekmon suture(Doğsan, İstanbul, Türkiye) ile uç-uca dikildi. Deri dikişleri atılıp, povidon iyot çözeltisi ile pansuman yapıldı. Kontrol grubunda olduğu gibi deney grubuna da immobilizasyon uygulanmadı. Postoperatif ağrı kontrolü için 5mg/kg dozunda Tramadol intraperitoneal olarak uygulandı.



Şekil 3-19 Dermis Grefti



Şekil 3-20 Dermis Grefti ile Tendon Rekonstrüksiyonu

Sıçanlar 4 hafta boyunca takip edildi. Hiçbir grupta hayvan kaybı gözlenmedi. 4 haftalık takip sonrasında yüksek doz anestezi ile sakrifiye edildi.

Kontrol ve deney gruplarındaki her 10 sıçanın aşil tendon numuneleri randomize olarak 5'erli olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

Kontrol grubundaki 10 tane aşil tendon numunesinin 5'i histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme, 5'i e biyomekanik inceleme için ayrılmıştır.

Deney grubundaki 10 tane aşil tendon numunesinin 5'i histopatolojik inceleme, 5'i de biyomekanik inceleme için ayrılmıştır.

Histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için alınan numuneler; proximalde kas-tendon bileşkesinden, distalde ise onarım bölgesinin daha aşağısında kalkaneusa yapışma yerinden kesilerek alındı(Şekil 3.10).



Şekil 3-21 Histopatolojik İnceleme için Numune Alınması

Biyomekanik inceleme için de; proximalde kas-tendon bileşkesinin üstünde kas dokusunu içerecek şekilde, distalde ise ayağın tamamı dâhil edilecek şekilde alındı(Şekil 3.11).



Şekil 3-22 Biyomekanik İnceleme için Numune Alınması

Histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için alınan numuneler içinde formaldehit bulunan kaplara konularak Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalına teslim edildi. Biyomekanik incelemeler şehir dışında yapıldığından, numuneler 24 saat boyunca -70°C donduruldu. Daha sonra soğuk zincir altında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Ana Bilim Dalına sevk edildi.

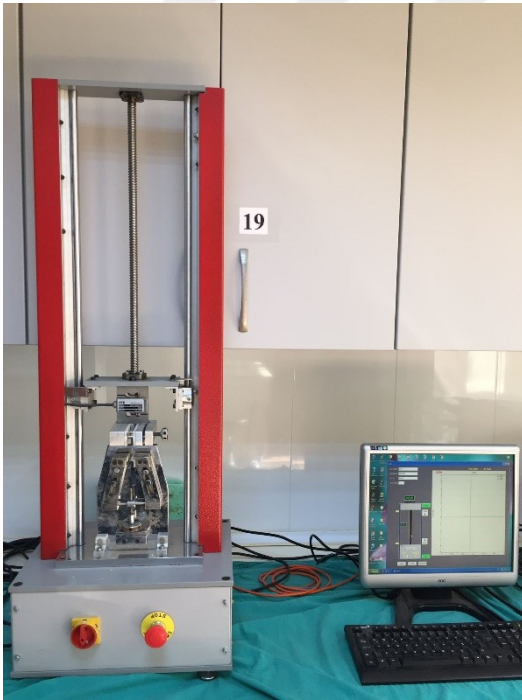
3.4 Değerlendirme Yöntemleri

3.4.1 Biyomekanik inceleme

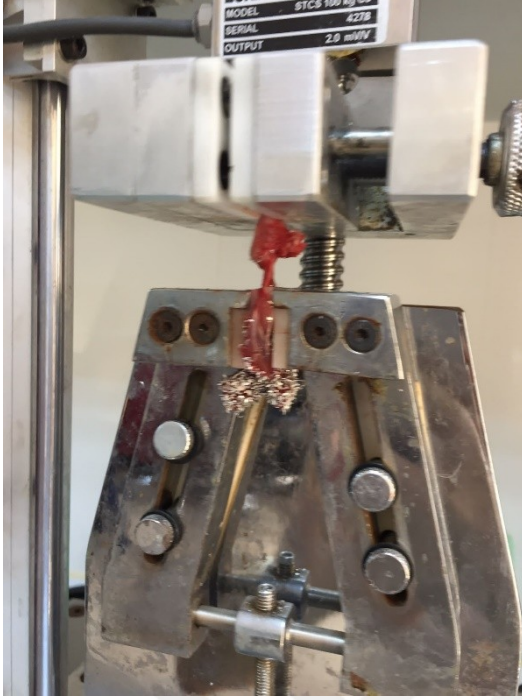
Alınan numuneler oda ısısında çözülmesi beklendikten sonra (Şekil 3.12) analize geçildi. Sıçanlardan izole edilen aşil tendonların biyomekanik ölçüm ve analizleri; Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan germe hızı 0-250 mm/dk olan ve maksimum 1000 N'a kadar ölçüm yapabilen özellikte load-cell sahip Germe-Test Cihazı (İlfa Elektronik San.Tic.Ltd.Şti) ile yapıldı (Şekil 3.13). Biyomekanik teste başlamadan önce tendonların; ilk boyları ($L \sim 8-9$ mm) olacak şekilde ölçüldü. Genişlik (D; mm) , kalınlıkları (T; mm) ve ilk boylar (L; mm) digital kumpas ile ölçüldü. Daha sonra tendonun klemplere daha sıkı tutunmasını sağlamak ve sünmesini engellemek amacıyla; tendonun her iki ucuna alüminyum tozları serpiştirildi (64). Tendonlar Germe-Test cihazına gastroknemius kas ucu alt klemplere, kalkaneus ucu (ayak ve kemiklerle birlikte klemplere tutturuldu) ise üst klemplere gelecek şekilde yerleştirildi(Şekil 3.14)(65) . Daha sonra klempler arası mesafe eşit ve 17 ± 3 mm, germe hızı 25 mm/dk olacak şekilde ayarlandı(65,66).



Şekil 3-23 Biyomekanik Analiz için Kontrol ve Deney Grubu Numuneleri



Şekil 3-24 Germe-Test Cihazı



Şekil 3-25 Numunelerin Cihaza Yerleştirilmesi

Germe testi sonunda cihazda kaydedilen Yük-Deformasyon verileri LoggerPro yazılımına (V 3.8.3, Vernier Software & Technology, Orlando, FL, USA) aktararak değerlendirildi. Test sonunda yük-deformasyon eğrisi çizdirilerek; maksimum kuvvet (F_U ; N), maksimum deformasyon (d_U ; mm), kopuncaya kadar depolanan enerji (U ; mJ) ve sertlik (S ; N/mm) parametreleri direkt olarak elde edildi (Şekil). Ayrıca maksimum kopma dayanımı (σ_U ; MPa), maksimum strain (ϵ_U ; mm/mm), maksimum stres (maksimum çekme dayanımı, σ_U ; MPa) esneklik katsayısı (E ; MPa) ve dayanıklılık (u ; MPa) parametreleri Stres-Strain eğrisi elde edilerek hesaplandı (65,67,68).

3.4.2 Histopatolojik inceleme

Histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme için kontrol ve deney grubundan 5'er adet rat tendonu kullanıldı. Kontrol ve Deney gruplarına ait tendon dokuları ışık mikroskopisi altında incelenmek üzere %10'luk formaldehit solüsyonu ile 24 saat tespit edildi. Otomatik doku takibi cihazı ile (Thermo, Excelsior AS) standart histolojik doku takibi süreci sonrasında dokular döküm cihazında (Thermo, Histostar) parafine gömülerek bloklaya işlemi yapıldı. Rutin histolojik takip işlemlerinin ardından elde edilen parafin bloklardan mikrotom ile (Minux S700A Rotary Microtome) histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemleri için 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Ardından numunler Hematoksilen-Eozin(HE), Alcian Blue (AB), Masson Trichrome(MT) boyaları ile boyanarak Bonar(Tablo 3.2) ve Movin(Tablo 3.3) semikantitatif skorları(69,70) ile incelendi.

Tablo 3-2 Semikantitatif Bonar Skoru

Özellik	Evre 0	Evre 1	Evre 2	Evre 3
Tenosit	Işık mikroskopunda belirgin stoplazma olmadan uzun içsi çekirdek	Belirgin sitoplazma olmadan çekirdeğin yuvarlaklaşması	Bir miktar görülebilir sitoplazma ile birlikte çekirdeğin yuvarlaklığının ve boyutunun artması	Yuvarlak ve büyük çekirdek ile birlikte bol miktarda stoplazma ve Laküna oluşumu
Zemin Maddesi	Boyanma yok	Lifler arasında boyanabilir müsin mevcut ancak demetler hala ayırık	Lifler arasında boyanabilir müsin mevcut ancak demetlerin sınırları kaybolmuş	Göze çarpmayan kollajen boyama ile birlikte bol miktarda müsin
Kollajen	Normal yapıda kollajen, homojen polarizasyon	Demetler korunmuş, lifler ayrılmış, azalmış polarizasyon	Demetlerin sınırlarının kaybı, ayrılmış lifler, polarizasyon kaybı	Yapısal kayıp ile birlikte kollajen liflerinin tamamen ayrılması
Vaskülarite	Demetler arasında belirgin olmayan kan damarları	Ara sıra kılcal kümeler, 10'luk büyütmede sahada 1'den az kapiller	10'luk büyütmede sahada 1-2 arası kapiller	10'luk büyütmede sahada 2' den fazla kapiller

Tablo 3-3 Semikantitatif Movin Skoru

Özellik	0	1	2	3
Fibril yapısı	Normal	Hafif Anormal	Orta Anormal	Belirgin Anormal
Fibril düzeni	Normal	Hafif Anormal	Orta Anormal	Belirgin Anormal
Nukleus Yuvarlaklığı	Normal	Hafif Anormal	Orta Anormal	Belirgin Anormal
Hücre sel değışiklik	Normal	Hafif Anormal	Orta Anormal	Belirgin Anormal
Vaskülerite artışı	Normal	Hafif Anormal	Orta Anormal	Belirgin Anormal
Kollajen boyanmasında azalma	Normal	Hafif Anormal	Orta Anormal	Belirgin Anormal
Hyalinizasyon	Normal	Hafif Anormal	Orta Anormal	Belirgin Anormal
GAG	Normal	Hafif Anormal	Orta Anormal	Belirgin Anormal

Hematoksilen-Eozin (HE) Boyama Protokolü

Kontrol ve deney gruplarına ait tendon kesitleri, deparafinizasyon işlemi sonrasında, otomatik boyama cihazında (Sakura, tissue-Tek Prisma Plus Sakura Finetek europa) Hematoksilen-Eozin (H&E) ile standart metodlara göre boyandı. Daha sonra kapama cihazı (Sakura, Tissue-Tek Film Automated Coverslipper) ile kesitlerin kapama işlemi gerçekleştirildi. Histopatolojik değerlendirme için preparatlar ışık mikroskobu ile (Nikon, Eclipse 50i) incelendi.

Masson's Trichrome Boyama Protokolü

Kontrol ve deney gruplarına ait tendon kesitleri deparafinizasyon işlemi sonrasında boyamaya hazır hale getirildi. Kesitler Masson Trichrome boyama kiti(kod: 04-010802, Bio-Optica, Italy) ile otomatik histokimya cihazında (Ventana, Bench Mark special stain) boyandı. Histokimyasal değerlendirme için preparatlar ışık mikroskobu ile (Nikon, Eclipse 50i) incelendi.

Alcian Blue Boyama Protokolü

Kontrol ve deney gruplarına ait tendon kesitleri deparafinizasyon işlemi sonrasında Alcian Blue Kiti(kod: 04-160802A, Bio-Optica, Italy) ile otomatik histokimya cihazında (Ventana, Bench Mark special stain) boyandı. Histokimyasal değerlendirme için preparatlar ışık mikroskobu ile (Nikon, Eclipse 50i) incelendi.

3.4.3 İmmünohistokimyasal inceleme

İmmünohistokimyasal inceleme için tendon dokularına ait parafin bloklardan 4 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Kesitler rutin işlemlerin ardından Tip1 (1:200, E-AB-66975, Elabscience Biotechnology, ABD) ve Tip3 (1:200, E-AB-10250, Elabscience Biotechnology, ABD) kollajen antikörleri ile otomatik boyama cihazında (DAKO Omnis) boyandı. İmmünohistokimyasal değerlendirme için preparatlar ışık mikroskobu ile (Nikon, Eclipse 50i) incelendi.

Deney gruplarına ait tendon kesitlerinde Tip I ve Tip III kollajen immünoreaktivite yoğunluğu ImageJ programı kullanılarak değerlendirildi.



3.4.4 İstatistiksel inceleme

Çalışmanın analizleri SPSS 25.0 paket programında yapılmıştır. Sürekli sayısal değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma, median (minimum – maksimum) değerleri ile özetlenmiştir. Sürekli sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile kontrol edilmiştir. Gruplar arasında sayısal verilerin normal dağılmadığı belirlenmiştir. Sürekli sayısal değişkenlerin gruplar arasında karşılaştırmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak p değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

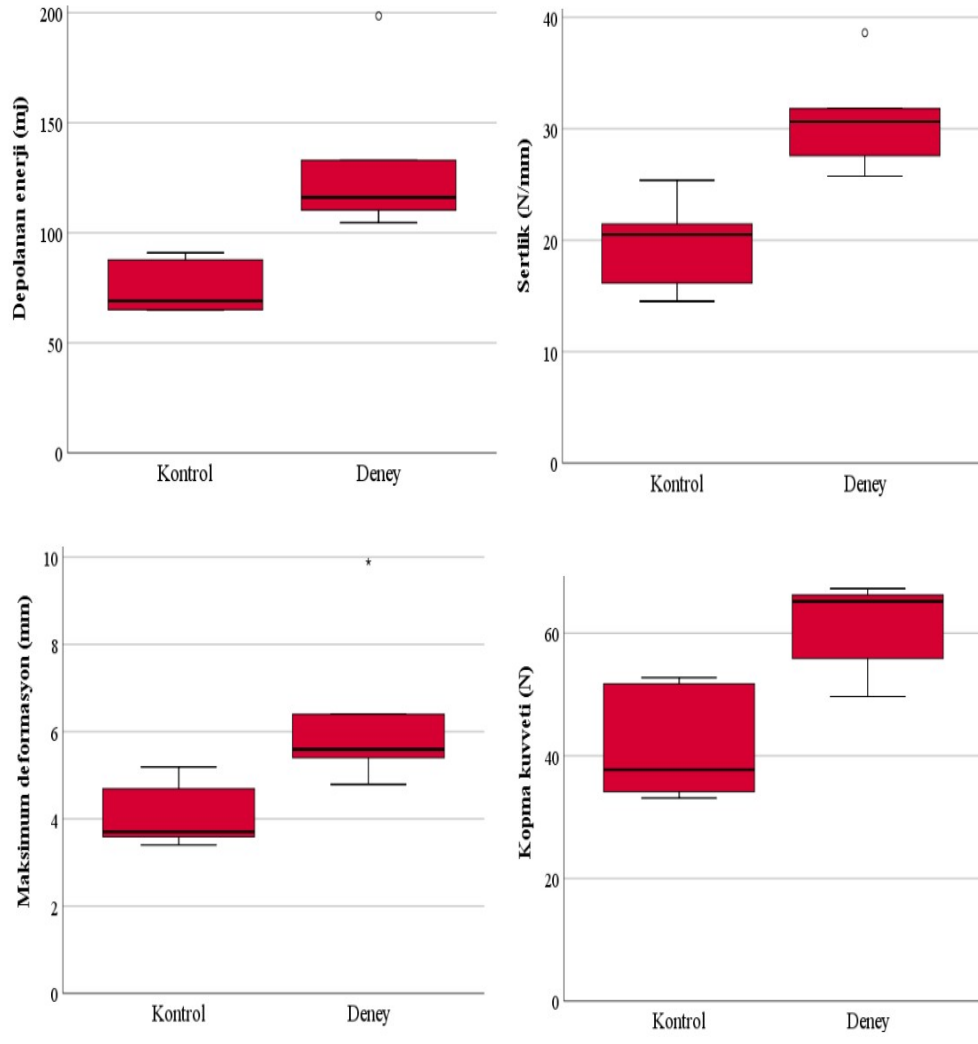
4.1 Biyomekanik Bulgular

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda depolanan enerji ($p = 0,008$), sertlik ($p = 0,008$), kopma kuvveti ($p = 0,032$), maksimum deformasyon ($p = 0,032$), Young modülü ($p = 0,008$), dayanıklılık ($p = 0,008$), maksimum stres ($p = 0,008$) ve maksimum strain ($p = 0,016$) değerleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlaydı(Tablo 4.1).

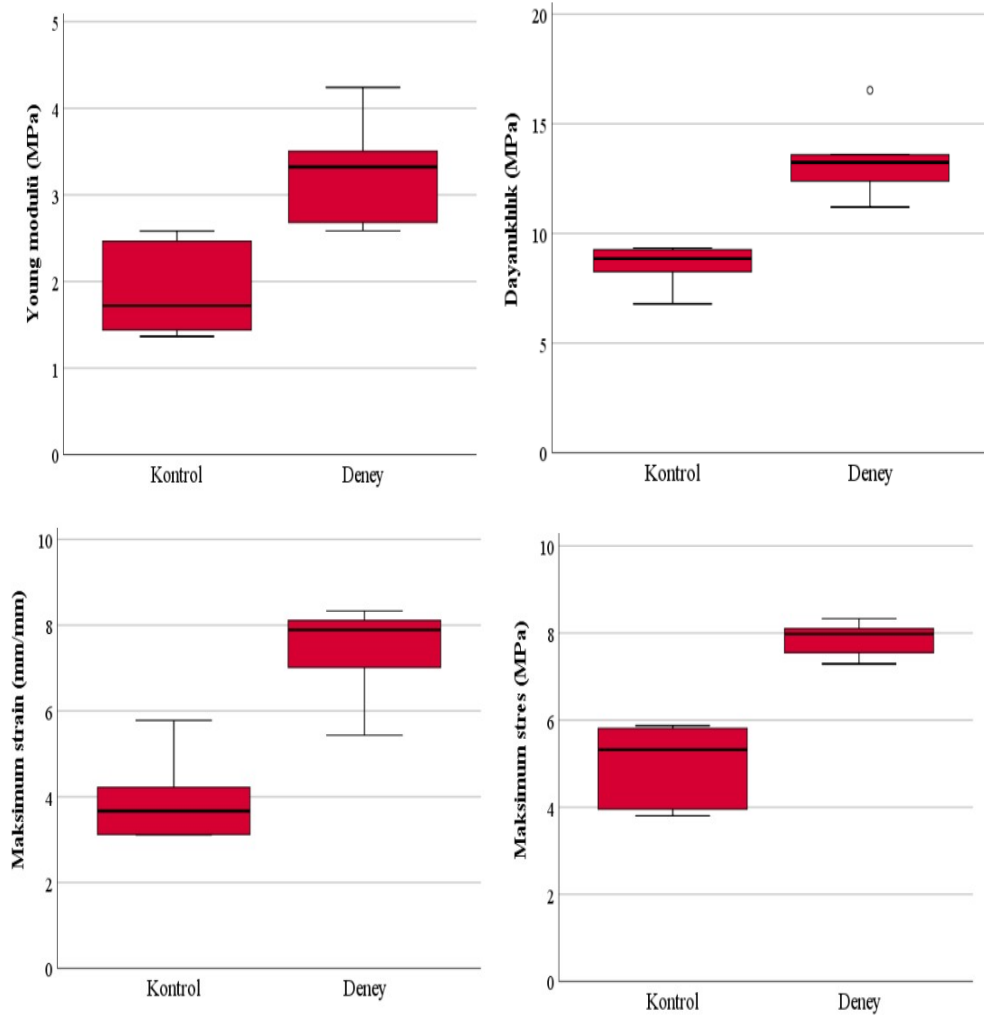
Tablo 4-4Gruplar arasında biyomekanik sonuçlarının karşılaştırılması

Parametre	Kontrol (n = 5)	Deney (n = 5)	p
Depolanan enerji (mj)	75,53 ± 12,77	132,5 ± 38,39	0,008
	69,02 (64,88 - 90,98)	116,1 (104,6 - 198,5)	
Sertlik (N/mm)	19,61 ± 4,34	30,87 ± 4,95	0,008
	20,51 (14,52 - 25,38)	30,64 (25,74 - 38,6)	
Kopma kuvveti (N)	41,89 ± 9,61	60,82 ± 7,72	0,032
	37,74 (33,1 - 52,75)	65,17 (49,65 - 67,24)	
Maksimum deformasyon (mm)	4,11 ± 0,78	6,41 ± 2,03	0,016
	3,7 (3,4 - 5,19)	5,59 (4,79 - 9,89)	
Young modülü (MPa)	1,92 ± 0,57	3,27 ± 0,67	0,008
	1,72 (1,37 - 2,58)	3,32 (2,59 - 4,24)	
Dayanıklılık (MPa)	8,5 ± 1,05	13,39 ± 1,98	0,008
	8,85 (6,79 - 9,33)	13,24 (11,2 - 16,53)	
Maksimum stres (MPa)	4,95 ± 1,01	7,85 ± 0,42	0,008
	5,32 (3,8 - 5,88)	7,98 (7,29 - 8,33)	
Maksimum strain (mm/mm)	3,98 ± 1,1	7,36 ± 1,19	0,016
	3,67 (3,11 - 5,78)	7,89 (5,43 - 8,33)	

Veriler ortalama ± standart sapma ve median (min – max) değerleri ile özetlenmiştir. Karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanılmıştır.



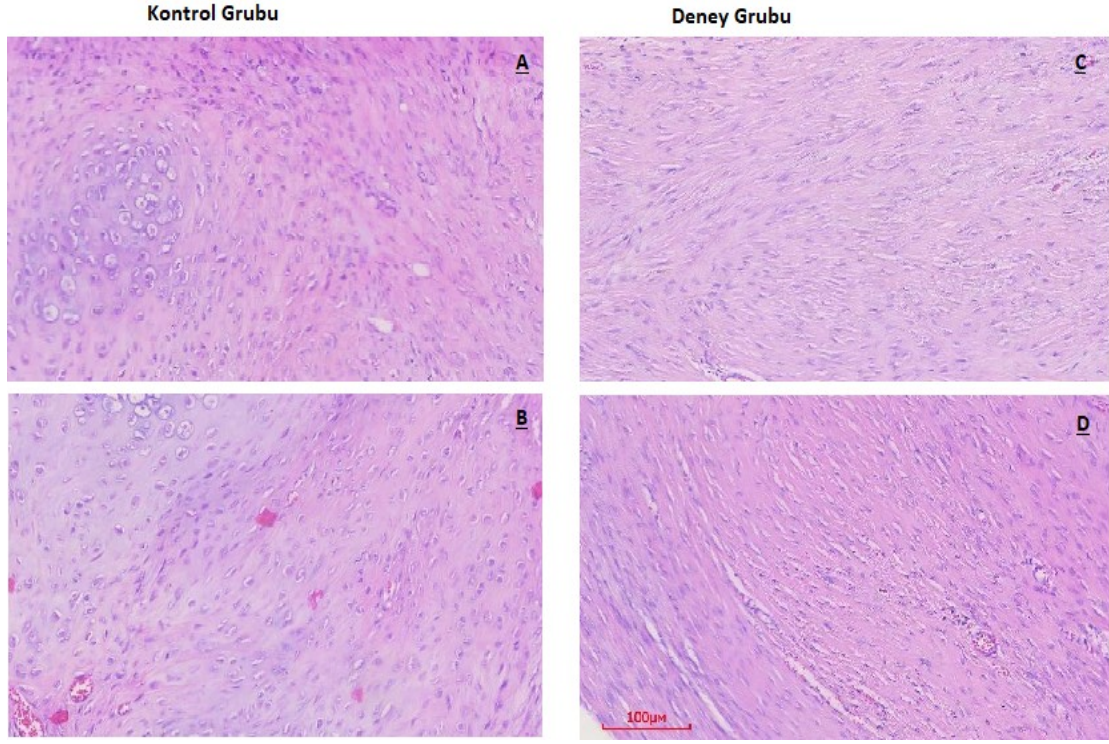
Şekil 4-26 Gruplar arasında biyomekanik sonuçların grafiksel gösterimi



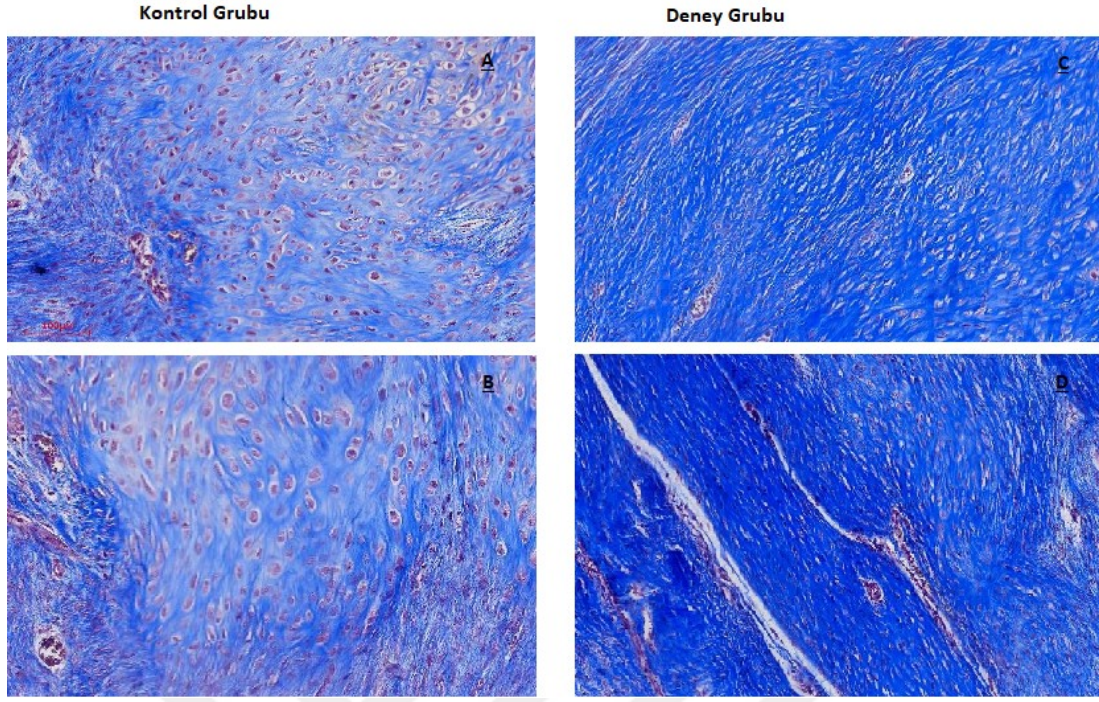
Şekil 4-27 Gruplar arasında biyomekanik sonuçların grafiksel gösterimi(2)

4.2 Histopatolojik Bulgular

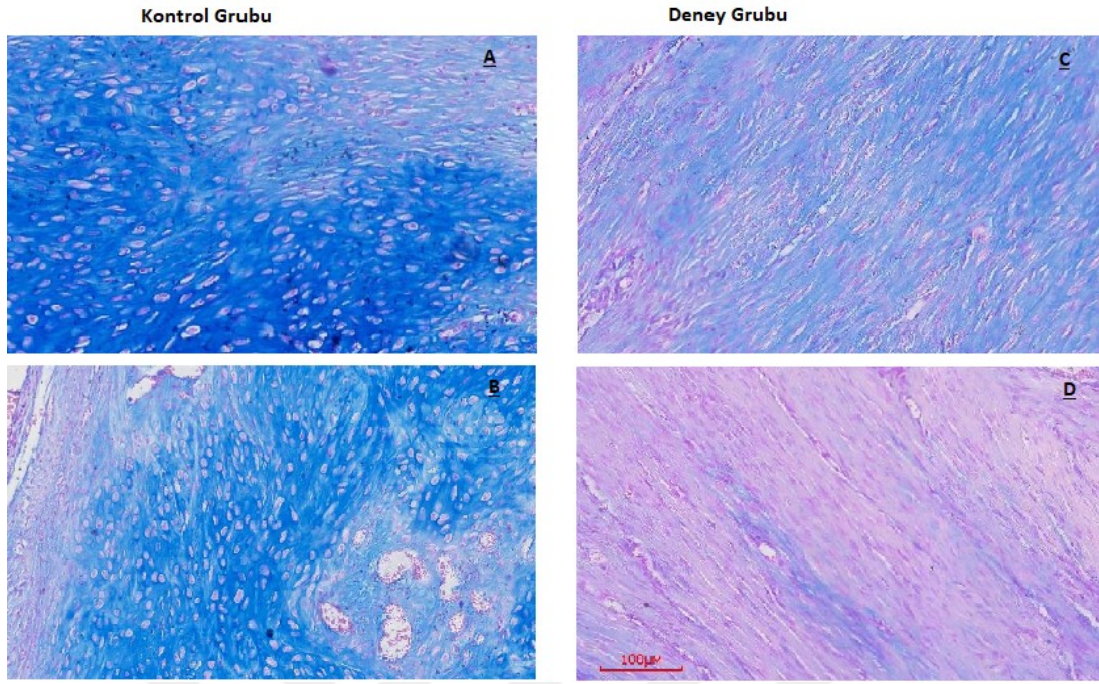
H&E boyama sonrası alınan kesitler Şekil 4.3’de, Masson’s trichrome boyama sonrası alınan kesitler Şekil 4.4’de ve Alcian blue ile boyama sonrası alınan kesitler Şekil 4.5’de gösterilmiştir.



Şekil 4-28 Kontrol (A-B) ve Deney (C-D) grubunda H&E boyama sonrası alınan histolojik kesitler



Şekil 4-29 Kontrol (A-B) ve Deney (C-D) grubunda MT boyama sonrası alınan histolojik kesitler



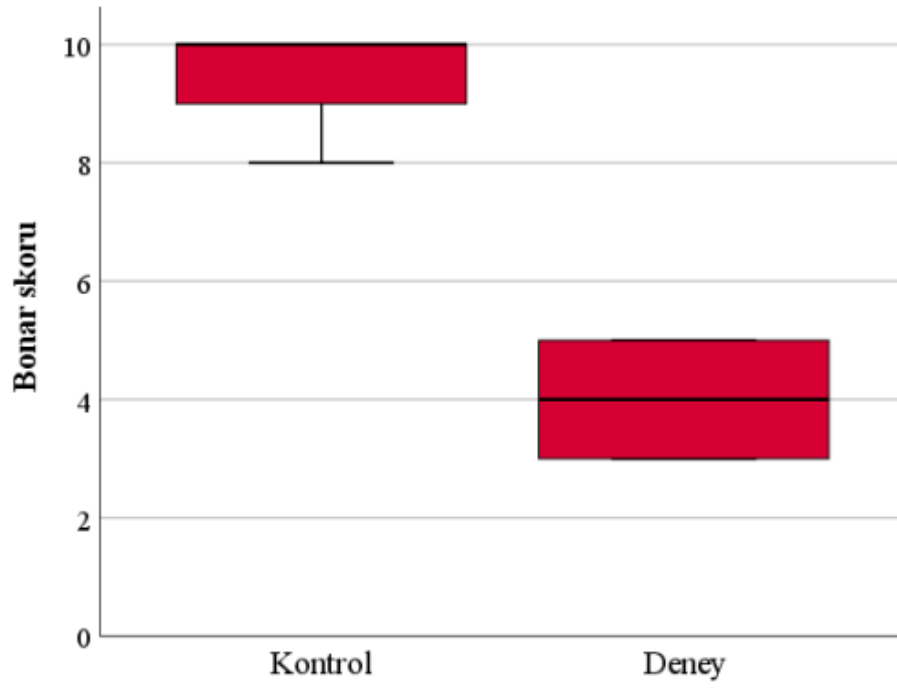
Şekil 4-30 Kontrol (A-B) ve Deney (C-D) grubunda AB boyama sonrası alınan histolojik kesitler

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda kollajen ($p = 0,008$), vaskülarite ($p = 0,016$) ve Bonar skoru ($p = 0,008$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü. Tenosit ($p = 0,056$) ve zemin maddesi ($p = 0,095$) değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 4.2).

Tablo 4-5 Gruplar arasında Bonar skorlama sonuçlarının karşılaştırılması

Parametre	Kontrol (n = 5)	Deney (n = 5)	<i>p</i>
Tenosit	2,2 ± 0,84	0,8 ± 0,84	0,056
	2 (1 - 3)	1 (0 - 2)	
Zemin maddesi	1,8 ± 0,84	0,8 ± 0,45	0,095
	2 (1 - 3)	1 (0 - 1)	
Kollajen	2,6 ± 0,55	1 ± 0	0,008
	3 (2 - 3)	1 (1 - 1)	
Vaskülarite	2,8 ± 0,45	1,4 ± 0,55	0,016
	3 (2 - 3)	1 (1 - 2)	
Bonar skoru	9,4 ± 0,89	4 ± 1	0,008
	10 (8 - 10)	4 (3 - 5)	

Veriler ortalama ± standart sapma ve median (min – max) değerleri ile özetlenmiştir. Karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanılmıştır.



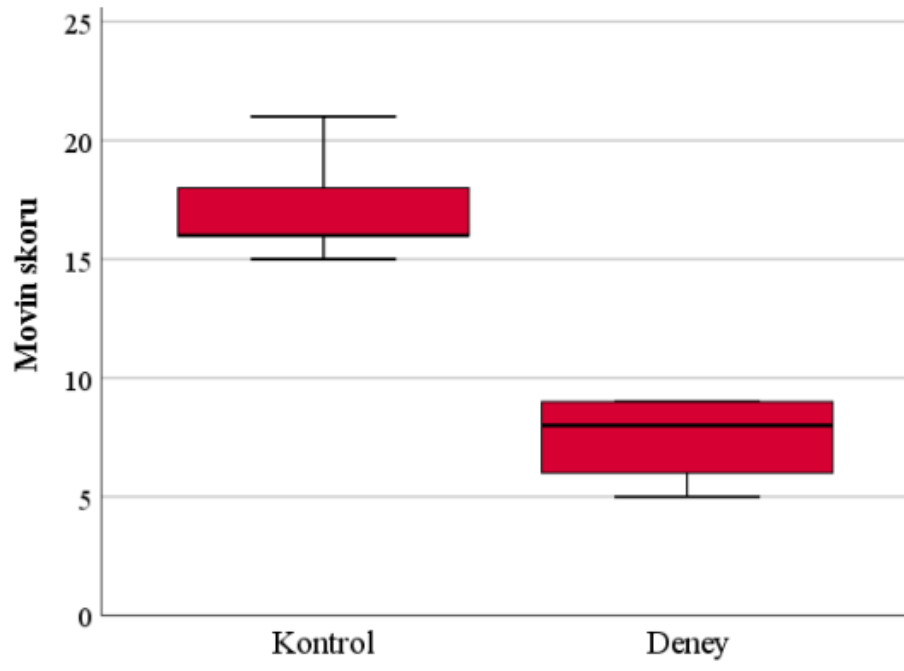
Şekil 4-31 Gruplar arasında Bonar skorunun dağılımının grafiksel gösterimi

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda fibril yapısı ($p = 0,008$), fibril düzeyi ($p = 0,016$), nükleus yuvarlaklığı ($p = 0,032$), vaskülarite artışı ($p = 0,016$), GAG içeriği ($p = 0,016$) ve Movin skoru ($p = 0,008$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü. Gruplar arasında hücrel değişiklik ($p = 0,056$), kollajen boyanmasında azalma ($p = 0,095$) ve hyalinizasyon ($p = 0,056$) değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark yoktu (Tablo 4.3).

Tablo 4-6 Gruplar arasında Movin skora sonuçlarının karşılaştırılması

Parametre	Kontrol (n = 5)	Deney (n = 5)	p
Fibril yapısı	2,2 ± 0,45	1 ± 0	0,008
	2 (2 - 3)	1 (1 - 1)	
Fibril düzeni	2,4 ± 0,55	1 ± 0,71	0,016
	2 (2 - 3)	1 (0 - 2)	
Nükleus yuvarlaklığı	2 ± 0,71	1 ± 0	0,032
	2 (1 - 3)	1 (1 - 1)	
Hücrel değişiklik	2,2 ± 0,84	1 ± 0,71	0,056
	2 (1 - 3)	1 (0 - 2)	
Vaskülarite artışı	2,8 ± 0,45	1,4 ± 0,55	0,016
	3 (2 - 3)	1 (1 - 2)	
Kollajen boyanmasında azalma	1,8 ± 0,84	0,8 ± 0,45	0,095
	2 (1 - 3)	1 (0 - 1)	
Hyalinizasyon	1,8 ± 0,84	0,6 ± 0,55	0,056
	2 (1 - 3)	1 (0 - 1)	
Movin GAG içeriği	2 ± 0,71	0,6 ± 0,55	0,016
	2 (1 - 3)	1 (0 - 1)	
Movin skoru	17,2 ± 2,39	7,4 ± 1,82	0,008
	16 (15 - 21)	8 (5 - 9)	

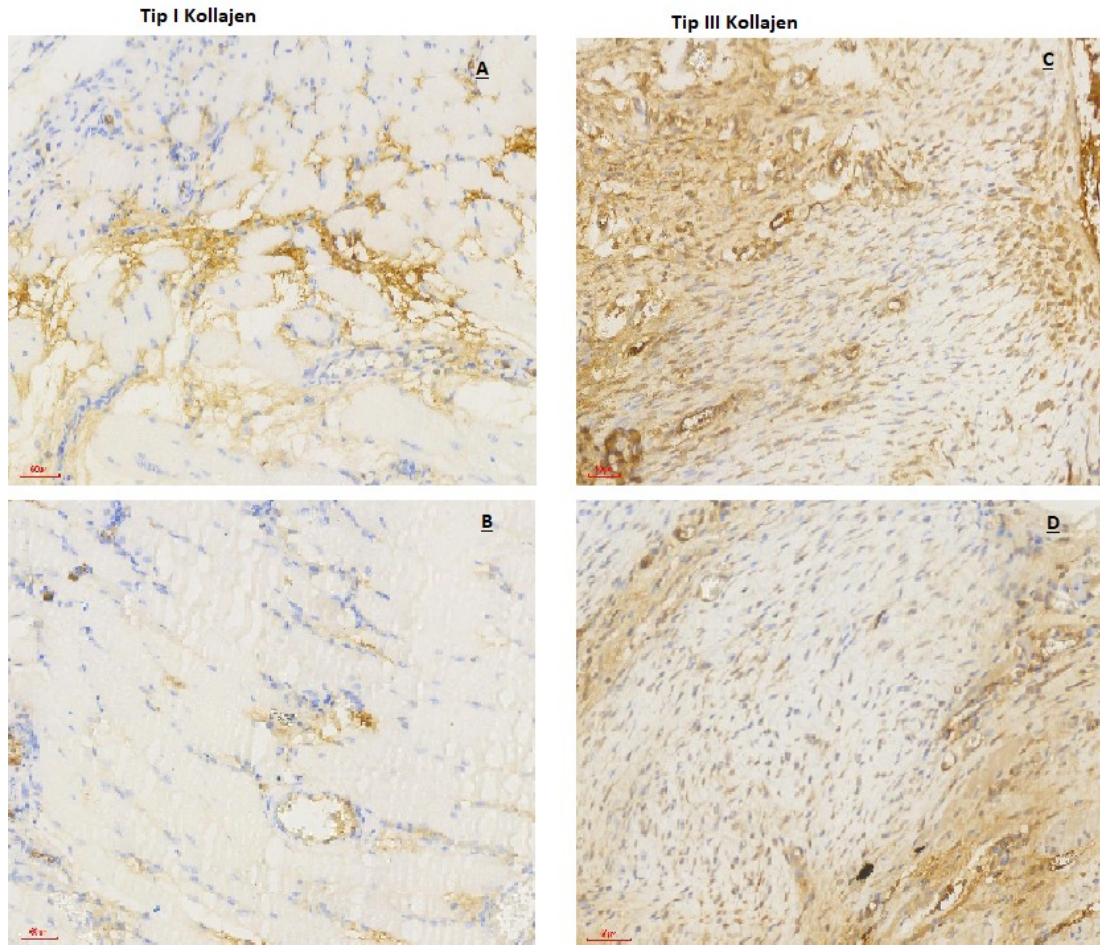
Veriler ortalama ± standart sapma ve median (min – max) değerleri ile özetlenmiştir. Karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanılmıştır.



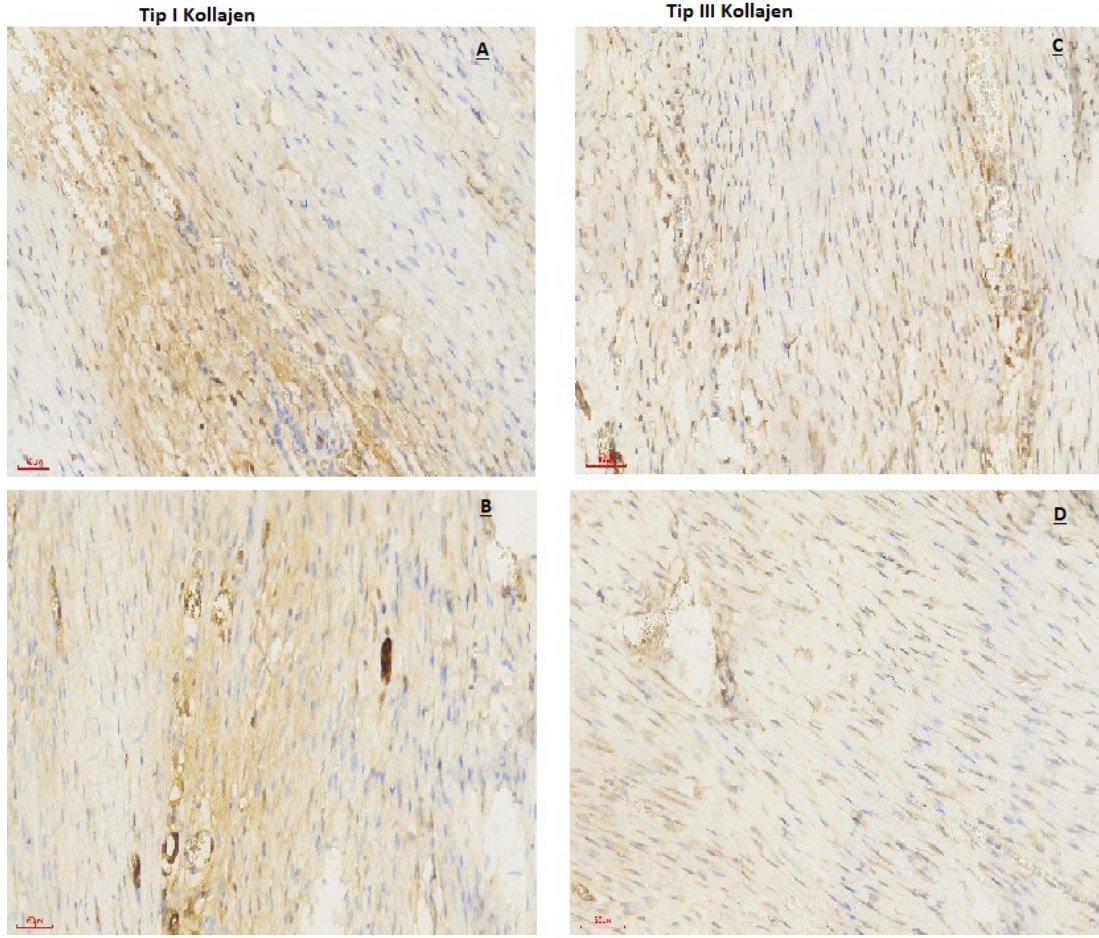
Şekil 4-32 Gruplar arasında Movin skorunun dağılımının grafiksel gösterimi

4.3 İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol grubuna ait numunelerin tip I ve tip III kollajen boyama sonrası alınan kesitler Şekil 4.8’de, deney grubuna ait numunelerin tip I ve tip III kollajen boyama sonrası alınan kesitler Şekil 4.9’da gösterilmiştir.



Şekil 4-33 Kontrol grubunda Tip I (A-B) kollajen ve Tip III (C-D) kollajen boyama sonrası alınan kesitler



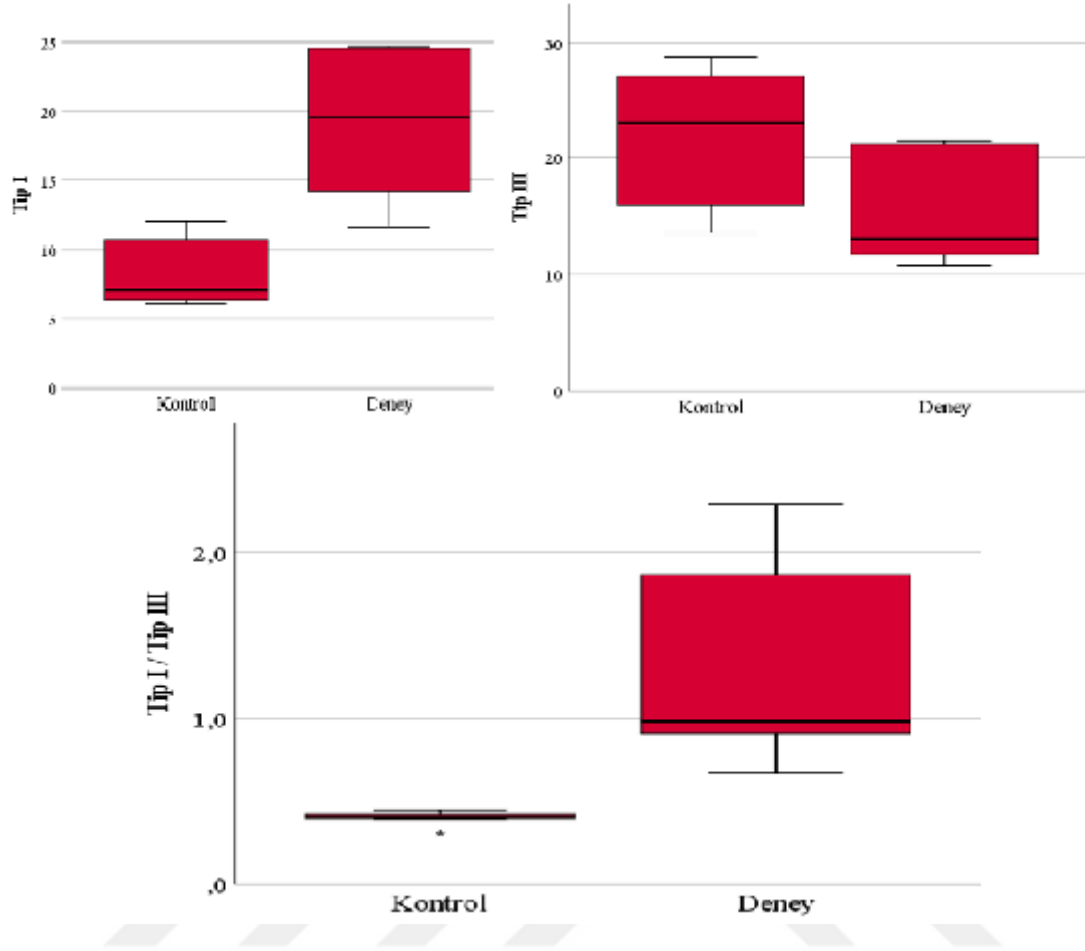
Şekil 4-34 Deney grubunda Tip I (A-B) kollajen ve Tip III (C-D) kollajen boyama sonrası alınan kesitler

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda tip I kollajen yoğunluğu ($p = 0,016$) ve tip I kollajen/ tip III kollajen oranı ($p = 0,008$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlaydı. Tip III kollajen yoğunluğu bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 4.4) ($p = 0,095$)

Tablo 4-7Gruplar arasında kollajen yoğunluklarının karşılaştırılması

Parametre	Kontrol (n = 5)	Deney (n = 5)	p
Tip I	$8,46 \pm 2,74$	$18,93 \pm 5,95$	0,01 6
	7,06 (6,06 - 12,10)	19,55 (11,59 - 24,74)	
Tip III	$21,70 \pm 6,71$	$15,71 \pm 5,25$	0,09 5
	23,09 (13,57 - 28,76)	13,15 (10,81 - 21,54)	
TipI / Tip III	$0,39 \pm 0,05$	$1,34 \pm 0,70$	0,00 8
	0,40 (0,31 - 0,45)	0,98 (0,67 - 2,29)	

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma ve median (min – max) değerleri ile özetlenmiştir. Karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanılmıştır.



Tablo 4-8 Gruplar arasında Tip I, Tip III ve Tip I /Tip III kollajen yoğunluğu oranının dağılımının grafiksel gösterimi

5. TARTIŞMA

Rat aşıl tendon yaralanma modelinde otolog dermis greftinin tendon iyileşmesi üzerine etkisinin incelendiği bu çalışmada; histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyomekanik olumlu sonuçlar elde edilerek çalışma hipotezi doğrulanmıştır. Aşıl tendon onarımında, otolog dermiş greftinin tendon iyileşmesi üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışma, detaylı bir literatür taramasında bulunmadığından dolayı özgün bir çalışmadır.

Tendonlar kas-iskelet sisteminde kastan aldığı enerjiyi kemiklere aktaran ara yapılardır. Vücudun en güçlü ve kalın tendonu olan aşıl tendonu, ayağın temel plantar fleksörüdür. Vücudun en sık yaralanan tendonlardan biri olan aşıl tendonun akut ve kronik yaralanma tipleri mevcuttur. Daha çok damarlanması zayıf olan bölgelerden rüptür gözlenen aşıl tendonda kronik dejenerasyon teorisi rüptürlerde suçlanan temel mekanizmalardandır(44).

Tendon iyileşmesi birbirinden keskin sınırlarla ayrılmayan 3 fazdan oluşmaktadır; inflamasyon, proliferasyon ve remodelling fazı. İyileşme sürecinin başlarında Tip III kollajen hakimiyeti mevcutken, daha ilerleyen dönemlerde özellikle remodelling fazında kollajen hakimiyetini Tip I kollajen sürdürmektedir. Daha çok iyileşme aşamasında bulunan Tip III kollajen, sağlam tendona göre daha geniş bir kesit alanına sahip olmakla birlikte uzama eğilimindedir. Bu nedenle biyomekanik olarak fonksiyonel özelliklerini yerine getirememektedir(71,72). Bu yüzden remodelling öncesi dönemde tendonlar re-rüptüre olma eğilimindedir ve gerilme direnci sağlıklı tendona göre daha düşük kalabilmektedir.

Tedavi metodları arasında konservatif ve cerrahi tedavi seçenekleri mevcuttur. Hangi tedavinin kullanılacağı ile ilgili tartışmalar mevcuttur. Khan ve ark. yaptığı çalışmada cerrahi tedavide önemli ölçüde daha düşük nüks oranı, ancak konservatif tedavide önemli ölçüde daha düşük komplikasyon oranı buldu (73). Holm ve ark. 2 tedavi tipi arasında komplikasyon ve nüks oranları açısından önemli bir fark olmadığını bildirdi, ancak bazı çalışmalarda konservatif tedavide daha düşük nüks oranları bildirdi (74). Bu incelemeler ile birlikte cerrahi tedavinin tercih edilen

seçenek olduğunu ancak hem nüks hem de komplikasyon oranlarını daha da azaltmak için alternatif tekniklere ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Augmentasyon, onarım bölgesini güçlendirmek ve tekrar yırtılma riskini azaltmak için tendon onarımında kullanılmıştır. Augmentasyon özellikle rotator manşet tamiri gibi tendon tamir tiplerinde kullanılmış olmasına rağmen(75); Aşıl tendonu tedavisi ile randomize kontrollü çalışmalar da dahil olmak üzere kullanımı hakkında daha az çalışma bildirilmiştir(76). Ototogreftler, ksenogreftler ve allogreftler dahil olmak üzere farklı tipte tendon büyütme malzemeleri mevcuttur. Ototogreftlerde hücrel rejeksiyon riski bulunmamakla birlikte, bu greftler potansiyel olarak ameliyatın süresini artırır ve ayrıca donör bölgesinde morbidite ve ağrıya neden olabilir. Ksenogreftler donör morbidite olmamasına rağmen, yabancı madde insan hastalarda aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olabilir ve zayıf klinik sonuçlar, bazı araştırmacıların tendon büyütme için kullanımlarını bırakmalarına neden olmuştur(77).

Rinoplasti ameliyatlarında dorsum augmentasyonunda(11), yarık dudak ameliyatlarında filtral kolon augmentasyonunda(12), skar revizyonu(13) gibi birçok operasyonda kullanılan deri dokusunun bir alt ünitesi olan dermis grefti başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Dermis greftinin kullanımı ile ilgili temel olarak 2 problem teşkil etmektedir; rezorpsiyona uğraması ve kist oluşumudur(12,78,79). Thompson yüz bölgesi rekonstrüksiyonunda dermal greftle çok iyi sonuçlar aldığını ancak %20'den daha fazla bir rezorpsiyon oranı belirtmiştir. İlave olarak kıl folikülleri ve sebase bezlerden küçük epidermoid kistlerin geliştiğini ancak bunların zamanla fagosite olup yerinin fibröz dokuyla dolduğunu belirtmiştir(80). Cilt altına gömülen epidermis kalıntılarından kist oluşumu çalışmalarla gösterilmiştir(81). Ancak deepitelize edilmiş dermal greftler için aynı durum söz konusu değildir. Peer ve Paddock yaptıkları çalışmada dermis greftlerinde epidermal bileşenlerin kaldığını, bunlara bağlı olarak erken dönemde küçük kavitasyonların oluştuğunu ancak bunların zaman içerisinde kaybolduğunu göstermişlerdir(82). Aynı zamanda on hafta içerisinde epidermis, kıl folikülleri ve sebase bezlerin kaybolduğunu; ter bezlerinin sebat ettiğini ancak aktivite göstermediğini ve herhangi bir kist oluşumunun

olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda Peer'in çalışmasıyla benzer olarak herhangi bir kist olgusuna rastlanmadı.

Philip ve ark. 126 rat aşıl tendonu üzerine yapılan çalışmada, amniyon derive multipotent progenitor hücrelerin tendon iyileşmesi üzerindeki etkisine bakmıştır. Amniyon derive multipotent progenitor hücreler verilen grup ile kontrol 48 grubu maksimum yük açısından istatistiksel olarak kıyaslanmıştır fakat iki grup arasında anlamlı farklılık oluşmadığı görülmüştür (83)

Yüksel ve ark. yaptığı çalışmada kontrol ve PRP yapılan gruplar arasında 15.gün ve 30.gün maksimum kuvvet karşılaştırmalarında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Kontrol grubunda 15.gün değerlerinin 30.güne göre daha düşük olduğu bulunmuştur. PRP grubundaise 15.gün ile 30.günler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır(8)

Kim ve ark. yaptığı deneysel çalışmada salin ve hidrojel yapılan gruplar arasında 2, 4 ve 8. haftalardaki biyomekanik verileri karşılaştırmıştır. Veriler ışığında 4. Haftada elde edilen maksimum yük dışındaki diğer veriler de anlamlı sonuç bulunmamıştır(9).

Barber ve ark yaptıkları çalışmada GraftJacket matrix(Asellüer dermal matrix) kullanılarak augmented edilen aşıl tendonların biyomekanik çalışmasında; deney grubunda onarım gücünün ve sertliğini istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır(84). Ön çalışmaların, bu biyomalzemelerin tendon büyütme için bir alternatif sağlama yeteneğine sahip olduğu fikrini desteklemektedir. Bununla birlikte, tendon büyütme için biyomateriyallerin kullanımına ilişkin kesin sonuçlara izin verecek mevcut veriler eksiktir(75). Üzerinde net bir fikir birliği olmayan biyomalzemelerin tendon augmentasyonunda kullanımıyla ilgili zor ulaşılabilirliği ve yüksek maliyetleri göz önünde bulundurulmalıdır.

Çalışmamızın biyomekanik sonuçlarına bakıldığında 4.hafta sonunda elde edilen veriler ışığında maksimum yük dahil tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi. Bu sonuçlar bize tüm şartları standardize edilmiş eşit strese maruz bırakılan ratlarda, deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek maksimum kuvvet değerleri ile dermis greftinin tendon iyileşme sürecine olumlu etkisi olabileceğini düşündürmektedir.

Devana ve ark. kök hücre kullanarak tendonda transeksiyon yaptıktan sonra tendon augmentasyonu yaptığı çalışmada kök hücre enjeksiyonun erken Aşıl tendon iyileşmesinin histolojik özelliklerini değil, biyomekanik özelliklerini iyileştirdiğini göstermiştir(85). Histolojik olarak özelliklerin değişmemesinin sebebi tendon yaralanma modelinin transeksiyon ile gerçekleştirilmiş olması olabilir. Biz çalışmamızda tendon yaralanma modelimizi tendona kesi uygulayarak gerçekleştirdik.

Çalışmamızda histopatolojik inceleme semikantitatif Movin ve semikantitatif Bonar skoruna göre ayrı ayrı yapıldı. Movin skorunda fibril düzeni, fibril yapısı, nükleus yuvarlaklığı, neovaskülarizasyon ve GAG içeriği istatistiksel olarak deney grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bonar skorunda ise kollajen ve vaskülarite artışı istatistiksel olarak deney grubunda anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda immünohistokimyasal değerlendirme ile tip1 ve tip3 kollajen yoğunluklarını bilgisayar programı ile değerlendirerek iyileşme üzerine etkisini araştırdık. İyileşme döneminin başında proliferasyon döneminde tip 3 kollajen sentezi daha yoğundur. Proliferasyon ve remodelling döneminde kollajen yoğunlukları değişkenlik gösterebilir. İyileşme döneminin başında hem tip1 hem de tip 3 kollajen sentezi artarken tip3 kollajen sentezi daha yoğundur. İyileşme süreci ile beraber geç iyileşme döneminde remodelling fazında tip 1 kollajen yoğunluğu artar, tip3 kollajen yoğunluğu azalır, tip1 /tip3 kollajen yoğunlukları oranı artar(71). Biz de çalışmamızda deney grubunda kontrol grubuna göre Tip I kollajen yoğunluğunu ve Tip I/ Tip III kollajen yoğunluğu oranını anlamlı derecede yüksek bulduk. Veriler ışığında 4 haftalık takip sonunda dermis greftinin daha erken bir sürede proliferasyon fazından remodelling fazına geçiş yaptığı söylenebilir.

Çalışmamızda bazı kısıtlılıklar mevcuttur. Hayvan sayısındaki kısıtlılık bazı sonuçları etkilemiş olabilir. Tendon kesiti çapı, adezyon ve genetik çalışmalar da değerlendirilerek çalışma daha güçlü kılınabilirdi. Uzun dönem etkisini görmek adına hayvanların takip süresi daha uzun tutulabilirdi. DeneySEL bir çalışma olduğundan klinik sonuçlar değerlendirilemedi.

6. SONUÇ

Otolog dermis greftinin iyileşme üzerinde etkisinin araştırıldığı bu çalışmada 4 haftalık takip sonucunda; biyomekanik sonuçlara bakıldığında dermis greftinin aşıl tendon augmentasyonuna olumlu etkilerinin olduğu gözlemlendi. Maksimum yük ve diğer parametrelerde anlamlı olarak yüksek izlendi.

Deney grubunda histolojik parametrelere bakılınca her iki skorda da daha düşük puanlar elde edilmiş olup, dermis greftinin tendon iyileşmesinin histolojik etkileri üzerine olumlu sonuçları olduğu gözlenmektedir.

Dermis grefti ile yapılan immünohistokimyasal incelemede iyileşmenin 4. haftasında bakılan kollajen yoğunluklarında Tip I/ Tip III kollajen yoğunluğunun daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Klinik olarak aşıl tendon yaralanmaları sonrasında tendon augmentasyonu için henüz standardize edilmiş bir protokol bulunmamaktadır. Augmentasyon amaçlı kullanılan biyomateryaller, ilaçlar ve diğer yöntemlerin kolay ulaşılabilir olmaması ve yüksek maliyetinden dolayı kullanımı sınırlamaktadır. Otolog greftlerinde donör alan morbiditesi, cerrahi olarak elde edilmesi dezavantaj olarak sayılabilir. Kullanılacak materyal ve teknik konusunda cerrahın tecrübesi ve literatürdeki çalışmalar önem kazanmaktadır. Yaptığımız bu çalışmada elde ettiğimiz verilere göre dermis grefti tendon augmentasyon amaçlı kullanılabilmektedir. Ancak klinik kullanım için daha ileri deneysel çalışmalara gereksinim vardır.

7.KAYNAKLAR

1. Lemme NJ, Li NY, DeFroda SF, Kleiner J, Owens BD. Epidemiology of Achilles Tendon Ruptures in the United States: Athletic and Nonathletic Injuries From 2012 to 2016. *Orthop J Sports Med.* 2018 Nov;6(11):2325967118808238.
2. Seeger JD, West WA, Fife D, Noel GJ, Johnson LN, Walker AM. Achilles tendon rupture and its association with fluoroquinolone antibiotics and other potential risk factors in a managed care population. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2006 Nov;15(11):784–92.
3. Rosenzweig S, Azar FM. Open repair of acute Achilles tendon ruptures. *Foot Ankle Clin.* 2009 Dec;14(4):699–709.
4. Longo UG, Ronga M, Maffulli N. Acute ruptures of the achilles tendon. *Sports Med Arthrosc Rev.* 2009 Jun;17(2):127–38.
5. González-Quevedo D, Díaz-Ramos M, Chato-Astrain J, Sánchez-Porras D, Tamimi I, Campos A, et al. Improving the regenerative microenvironment during tendon healing by using nanostructured fibrin/agarose-based hydrogels in a rat Achilles tendon injury model. *Bone Joint J.* 2020 Aug;102-B(8):1095–106.
6. Bertasi G, Cole W, Samsell B, Qin X, Moore M. Biological incorporation of human acellular dermal matrix used in Achilles tendon repair. *Cell Tissue Bank.* 2017 Sep;18(3):403–11.
7. Pillai DS, Dhinsa BS, Khan WS. Tissue Engineering in Achilles Tendon Reconstruction; The Role of Stem Cells, Growth Factors and Scaffolds. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2017;12(6):506–12.
8. Genç E, Yüksel S, Çağlar A, Beytemur O, Güleç MA. Comparison on effects of platelet-rich plasma versus autologous conditioned serum on Achilles tendon healing in a rat model. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2020 Jul;54(4):438–44.
9. Kim MY, Farnebo S, Woon CYL, Schmitt T, Pham H, Chang J. Augmentation of tendon healing with an injectable tendon hydrogel in a rat Achilles tendon model. *Plast Reconstr Surg.* 2014 May;133(5):645e–53e.
10. Lee DK. Achilles tendon repair with acellular tissue graft augmentation in neglected ruptures. *J Foot Ankle Surg.* 2007;46(6):451–5.
11. Suh MK. Dorsal Augmentation Using Autogenous Tissues. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2018 Aug;26(3):295–310.
12. Mulliken JB. Double unilimb Z-plastic repair of microform cleft lip. *Plast Reconstr Surg.* 2005 Nov;116(6):1623–32.
13. Guyuron B, Son JH. String Fat/Dermis Graft for Correction of Wrinkles and Scars. *Plast Reconstr Surg.* 2019 Jul;144(1):93–6.

14. Chu J, Lu M, Pfeifer CG, Alt V, Docheva D. Rebuilding Tendons: A Concise Review on the Potential of Dermal Fibroblasts. *Cells*. 2020 Sep 8;9(9):2047.
15. Fatemi MJ, Foroutan KS, Ashtiani AK, Mansoori MJ, Vaghardoost R, Pedram S, et al. Comparison of divided sciatic nerve growth within dermis, venous and nerve graft conduit in rat. *J Res Med Sci*. 2010 Jul;15(4):208–13.
16. O'Brien M. The anatomy of the Achilles tendon. *Foot Ankle Clin*. 2005 Jun;10(2):225–38.
17. Doral MN, Alam M, Bozkurt M, Turhan E, Atay OA, Dönmez G, et al. Functional anatomy of the Achilles tendon. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2010 May;18(5):638–43.
18. Spang C, Alfredson H, Ferguson M, Roos B, Bagge J, Forsgren S. The plantaris tendon in association with mid-portion Achilles tendinosis: tendinosis-like morphological features and presence of a non-neuronal cholinergic system. *Histol Histopathol*. 2013 May;28(5):623–32.
19. Szaro P, Witkowski G, Smigielski R, Krajewski P, Cizek B. Fascicles of the adult human Achilles tendon - an anatomical study. *Ann Anat*. 2009 Dec;191(6):586–93.
20. Del Buono A, Chan O, Maffulli N. Achilles tendon: functional anatomy and novel emerging models of imaging classification. *Int Orthop*. 2013 Apr;37(4):715–21.
21. Wong JKF, Metcalfe AD, Wong R, Bush J, Platt C, Garcon A, et al. Reduction of tendon adhesions following administration of Adaprev, a hypertonic solution of mannose-6-phosphate: mechanism of action studies. *PLoS One*. 2014;9(11):e112672.
22. Curzi D, Salucci S, Marini M, Esposito F, Agnello L, Veicsteinas A, et al. How physical exercise changes rat myotendinous junctions: an ultrastructural study. *Eur J Histochem*. 2012 Apr 16;56(2):e19.
23. Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *J Bone Joint Surg Am*. 2005 Jan;87(1):187–202.
24. Winnicki K, Ochała-Kłos A, Rutowicz B, Pękala PA, Tomaszewski KA. Functional anatomy, histology and biomechanics of the human Achilles tendon - A comprehensive review. *Ann Anat*. 2020 May;229:151461.
25. Zantop T, Tillmann B, Petersen W. Quantitative assessment of blood vessels of the human Achilles tendon: an immunohistochemical cadaver study. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2003 Nov;123(9):501–4.
26. Waggett AD, Ralphs JR, Kwan AP, Woodnutt D, Benjamin M. Characterization of collagens and proteoglycans at the insertion of the human Achilles tendon. *Matrix Biol*. 1998 Mar;16(8):457–70.

27. Yang G, Rothrauff BB, Tuan RS. Tendon and ligament regeneration and repair: clinical relevance and developmental paradigm. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2013 Sep;99(3):203–22.
28. Kannus P. Structure of the tendon connective tissue. *Scand J Med Sci Sports*. 2000 Dec;10(6):312–20.
29. Whittaker P, Canham PB. Demonstration of quantitative fabric analysis of tendon collagen using two-dimensional polarized light microscopy. *Matrix*. 1991 Feb;11(1):56–62.
30. Carr AJ, Norris SH. The blood supply of the calcaneal tendon. *J Bone Joint Surg Br*. 1989 Jan;71(1):100–1.
31. Järvinen TAH, Järvinen TLN, Kannus P, Józsa L, Järvinen M. Collagen fibres of the spontaneously ruptured human tendons display decreased thickness and crimp angle. *J Orthop Res*. 2004 Nov;22(6):1303–9.
32. Maffulli N, Ewen SW, Waterston SW, Reaper J, Barrass V. Tenocytes from ruptured and tendinopathic achilles tendons produce greater quantities of type III collagen than tenocytes from normal achilles tendons. An in vitro model of human tendon healing. *Am J Sports Med*. 2000;28(4):499–505.
33. Azad-Tirgan M, Sarrafzadeh-Rezaei F, Malekinejad H, Hobbenaghi R, Heshmatian B. Evaluation of tendon healing using fibroblast like synoviocytes in rabbits: A biomechanical study. *Vet Res Forum*. 2016;7(1):21–6.
34. Strickland JW. The scientific basis for advances in flexor tendon surgery. *J Hand Ther*. 2005;18(2):94–110; quiz 111.
35. Jw S. Flexor tendons-acute injuries. *Green's Operative Hand Surgery*. 1999;1851–97.
36. Murphy PG, Loitz BJ, Frank CB, Hart DA. Influence of exogenous growth factors on the synthesis and secretion of collagen types I and III by explants of normal and healing rabbit ligaments. *Biochem Cell Biol*. 1994;72(9–10):403–9.
37. Oakes BW. Tissue Healing and Repair: Tendons and Ligaments. In: *Rehabilitation of Sports Injuries: Scientific Basis* [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2003 [cited 2023 Apr 12]. p. 28–98. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470757178.ch4>
38. Woo SL, Hildebrand K, Watanabe N, Fenwick JA, Papageorgiou CD, Wang JH. Tissue engineering of ligament and tendon healing. *Clin Orthop Relat Res*. 1999 Oct;(367 Suppl):S312–323.
39. Komi PV, Fukashiro S, Järvinen M. Biomechanical loading of Achilles tendon during normal locomotion. *Clin Sports Med*. 1992 Jul;11(3):521–31.

40. Lui PPY, Cheuk YC, Hung LK, Fu SC, Chan KM. Increased apoptosis at the late stage of tendon healing. *Wound Repair Regen.* 2007;15(5):702–7.
41. Cetti R, Christensen SE, Ejsted R, Jensen NM, Jorgensen U. Operative versus nonoperative treatment of Achilles tendon rupture. A prospective randomized study and review of the literature. *Am J Sports Med.* 1993;21(6):791–9.
42. Komi PV. Relevance of in vivo force measurements to human biomechanics. *J Biomech.* 1990;23 Suppl 1:23–34.
43. Dent CM, Graham GP. Osteogenesis imperfecta and Achilles tendon rupture. *Injury.* 1991 May;22(3):239–40.
44. Khan RJK, Fick D, Keogh A, Crawford J, Brammar T, Parker M. Treatment of acute achilles tendon ruptures. A meta-analysis of randomized, controlled trials. *J Bone Joint Surg Am.* 2005 Oct;87(10):2202–10.
45. Kannus P, Józsa L. Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients. *J Bone Joint Surg Am.* 1991 Dec;73(10):1507–25.
46. Lagergren C, Lindholm A. Vascular distribution in the Achilles tendon; an angiographic and microangiographic study. *Acta Chir Scand.* 1959 May 15;116(5–6):491–5.
47. Birch HL, Wilson AM, Goodship AE. The effect of exercise-induced localised hyperthermia on tendon cell survival. *J Exp Biol.* 1997 Jun;200(Pt 11):1703–8.
48. Chiou YM, Lan JL, Hsieh TY, Chen YH, Chen DY. Spontaneous Achilles tendon rupture in a patient with systemic lupus erythematosus due to ischemic necrosis after methyl prednisolone pulse therapy. *Lupus.* 2005;14(4):321–5.
49. Lühje P, Nurmi I, Nyyssönen T. Missed Achilles tendon rupture due to oral levofloxacin: surgical treatment and result. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2005 Mar;125(2):124–6.
50. Inglis AE, Sculco TP. Surgical repair of ruptures of the tendo Achillis. *Clin Orthop Relat Res.* 1981 May;(156):160–9.
51. Park SH, Lee HS, Young KW, Seo SG. Treatment of Acute Achilles Tendon Rupture. *Clin Orthop Surg.* 2020 Mar;12(1):1–8.
52. Gross CE, Nunley JA. Acute Achilles Tendon Ruptures. *Foot Ankle Int.* 2016 Feb;37(2):233–9.
53. Lea RB, Smith L. Non-surgical treatment of tendo achillis rupture. *J Bone Joint Surg Am.* 1972 Oct;54(7):1398–407.

54. Inglis AE, Scott WN, Sculco TP, Patterson AH. Ruptures of the tendo achillis. An objective assessment of surgical and non-surgical treatment. *J Bone Joint Surg Am.* 1976 Oct;58(7):990–3.
55. McComis GP, Nawoczinski DA, DeHaven KE. Functional bracing for rupture of the Achilles tendon. Clinical results and analysis of ground-reaction forces and temporal data. *J Bone Joint Surg Am.* 1997 Dec;79(12):1799–808.
56. Krackow KA, Thomas SC, Jones LC. A new stitch for ligament-tendon fixation. Brief note. *J Bone Joint Surg Am.* 1986 Jun;68(5):764–6.
57. Jaakkola JJ, Hutton WC, Beskin JL, Lee GP. Achilles tendon rupture repair: biomechanical comparison of the triple bundle technique versus the Krakow locking loop technique. *Foot Ankle Int.* 2000 Jan;21(1):14–7.
58. Azar FM. Travmatik bozukluklar, Campbell’s Operative Orthopaedics 3. cilt 10. baskı. Hayat tıp kitapçılık. 2007;2449–93.
59. Deng S, Sun Z, Zhang C, Chen G, Li J. Surgical Treatment Versus Conservative Management for Acute Achilles Tendon Rupture: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Foot Ankle Surg.* 2017;56(6):1236–43.
60. Soroceanu A, Sidhwa F, Aarabi S, Kaufman A, Glazebrook M. Surgical versus nonsurgical treatment of acute Achilles tendon rupture: a meta-analysis of randomized trials. *J Bone Joint Surg Am.* 2012 Dec 5;94(23):2136–43.
61. Prost-Squarcioni C, Fraitag S, Heller M, Boehm N. [Functional histology of dermis]. *Ann Dermatol Venereol.* 2008 Jan;135(1 Pt 2):1S5-20.
62. Anthony LM. Junqueira’s basic histology: text and atlas. LANGE Series, McGraw-Hill Medical; 2013.
63. Ovalle WK, Nahirney PC, Netter FH. Netter’s essential histology with correlated histopathology. 2021.
64. Joensen J, Gjerdet NR, Hummelsund S, Iversen V, Lopes-Martins RAB, Bjordal JM. An experimental study of low-level laser therapy in rat Achilles tendon injury. *Lasers Med Sci.* 2012 Jan;27(1):103–11.
65. Uzun C, Erdal N, Gürgöl S, Kalaycı D, Yılmaz ŞN, Özdemir AA, et al. Comparison of the Effects of Pulsed Electromagnetic Field and Extracorporeal Shockwave Therapy in a Rabbit Model of Experimentally Induced Achilles Tendon Injury. *Bioelectromagnetics.* 2021;42(2):128–45.
66. Koc M, Yucens M, Aydemir N, Yorukoglu AC, Guvenc K, Uzun C, et al. Do adipofascial flaps affect the mechanical properties of a repaired tendon? A biomechanical rat model study. *Hand Surgery and Rehabilitation.* 2019;38(5):323–7.

67. Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS. Laser photostimulation accelerates wound healing in diabetic rats. *Wound Repair and Regeneration*. 2001;9(3):248–55.
68. Liao JL, Chen J, Xu JQ, Cheng Y, Xie HJ, He G, et al. Viability and biomechanics of bare diced cartilage grafts in experimental study. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2017;28(6):1445–50.
69. Maffulli N, Longo UG, Franceschi F, Rabitti C, Denaro V. Movin and Bonar scores assess the same characteristics of tendon histology. *Clin Orthop Relat Res*. 2008 Jul;466(7):1605–11.
70. Movin T, Gad A, Reinholt FP, Rolf C. Tendon pathology in long-standing achillodynia. Biopsy findings in 40 patients. *Acta Orthop Scand*. 1997 Apr;68(2):170–5.
71. Sharma P, Maffulli N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2006;6(2):181–90.
72. Müller SA, Dürselen L, Heisterbach P, Evans C, Majewski M. Effect of a Simple Collagen Type I Sponge for Achilles Tendon Repair in a Rat Model. *Am J Sports Med*. 2016 Aug;44(8):1998–2004.
73. Khan RJK, Fick D, Keogh A, Crawford J, Brammar T, Parker M. Treatment of acute achilles tendon ruptures. A meta-analysis of randomized, controlled trials. *J Bone Joint Surg Am*. 2005 Oct;87(10):2202–10.
74. Holm C, Kjaer M, Eliasson P. Achilles tendon rupture--treatment and complications: a systematic review. *Scand J Med Sci Sports*. 2015 Feb;25(1):e1-10.
75. Longo UG, Lamberti A, Maffulli N, Denaro V. Tendon augmentation grafts: a systematic review. *Br Med Bull*. 2010;94:165–88.
76. Cole W, Samsell B, Moore MA. Achilles Tendon Augmented Repair Using Human Acellular Dermal Matrix: A Case Series. *J Foot Ankle Surg*. 2018;57(6):1225–9.
77. Iannotti JP, Codsì MJ, Kwon YW, Derwin K, Ciccone J, Brems JJ. Porcine small intestine submucosa augmentation of surgical repair of chronic two-tendon rotator cuff tears. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2006 Jun;88(6):1238–44.
78. Tarhan E, Cakmak O, Ozdemir BH, Akdogan V, Suren D. Comparison of AlloDerm, fat, fascia, cartilage, and dermal grafts in rabbits. *Arch Facial Plast Surg*. 2008;10(3):187–93.
79. Reich J. The application of dermis grafts in deformities of the nose. *Plast Reconstr Surg*. 1983 Jun;71(6):772–82.

80. Thomson N. The subcutaneous dermis graft. *Plast Reconstr Surg.* 1960;26:1–1.
81. Zimches JL. Über das Schicksal des in die tieferen Gewebe frei transplantierten Deckepithels in Zusammenhang mit der Lehre von den Epithelcysten. *Frankfurt Ztschr Path.* 1931;42:203–27.
82. Peer LA. Fate of buried skin grafts in man. *Archives of Surgery.* 1939;39(1):131–44.
83. Philip J, Hackl F, Canseco JA, Kamel RA, Kiwanuka E, Diaz-Siso JR, et al. Amnion-derived multipotent progenitor cells improve achilles tendon repair in rats. *Eplasty.* 2013;13.
84. Barber FA, McGarry JE, Herbert MA, Anderson RB. A biomechanical study of Achilles tendon repair augmentation using GraftJacket matrix. *Foot Ankle Int.* 2008 Mar;29(3):329–33.
85. Devana SK, Kelley BV, McBride OJ, Kabir N, Jensen AR, Park SJ, et al. Adipose-derived Human Perivascular Stem Cells May Improve Achilles Tendon Healing in Rats. *Clin Orthop Relat Res.* 2018 Oct;476(10):2091–100.