

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA AŞIL TENDON İYİLEŞMESİNDE KİTOSAN  
VE TERAPÖTİK ULTRASON TEDAVİSİNİN ETKİSİ:  
FONKSİYONEL VE HİSTOLOJİK ÇALIŞMA**

Rahime ŞEKERCİ

DOKTORA TEZİ

2019-ANTALYA

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**ANATOMİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA AŞIL TENDON İYİLEŞMESİNDE KİTOSAN  
VE TERAPÖTİK ULTRASON TEDAVİSİNİN ETKİSİ:  
FONKSİYONEL VE HİSTOLOJİK ÇALIŞMA**

Rahime ŞEKERCİ

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN**

**Prof.Dr.Nigar KELEŞ ÇELİK**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2016-2061 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2019-ANTALYA

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;**

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı Anatomi Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 25/06/2019

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nigar KELEŞ ÇELİK  
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. L.Bikem SÜZEN  
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Özkan KÖSE  
Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Piraye KERVANCIOĞLU  
Gaziantep Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Ayhan CÖMERT  
Ankara Üniversitesi

İmza

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../..... tarih ve ...../..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN

Enstitü Müdürü

## ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Rahime ŞEKERCİ

İmza



Nigar KELEŞ ÇELİK

İmza



## TEŐEKKÜR

Hem yüksek lisans hem de doktora eğitimim boyunca engin bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, sadece akademik olarak değil, insan iliŐkileri ve hayata olan bakıŐ aısından çok Őey öğrendiğim, bana sabırla yol gösteren, her zaman yanımda olduğunu hissettiren ve destekleyen, kendisi ile çalıŐmayı büyük bir Őans kabul ettiğim kıymetli danıŐmanım Sayın Prof. Dr. Nigar KELEŞ ÇELİK'e sonsuz teŐekkürlerimi sunarım. Aynı süre içerisinde desteklerini benden esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini bana aktaran Anatomi Anabilim Dalı'mızın saygıdeğer öğretim üyelerine ve değerli asistan arkadaşlarıma teŐekkür ederim. Bu çalışmanın gerçekleşmesindeki katkı ve yardımlarından dolayı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden canım arkadaşım Doç. Dr. Nuray ACAR AYDEMİR'e, tezimde yer alan cerrahi işlemleri yapan Dr. Faruk KILIÇASLAN'a, bugüne kadar hem akademik hayatımda hem de çalıŐmamın deneysel kısmındaki her aşamada yanımda olup, desteğini benden asla esirgemeyen çok kıymetli dostum Dr. Öğretim Üyesi Eren ÖĞÜT'e teŐekkür ederim.

TEMGA ünitesinde beraber çalıŐtıđımız Hakan ER ve özellikle kesit işlemlerindeki zorlu aşamalar için sevgili arkadaşım Arife DEMİRTOP'a değerli yardımları için teŐekkür ederim. Akdeniz Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde yer alan teknik ve idari birime tüm yardımları için teŐekkür ederim. Ayrıca lisansüstü eğitimimin tüm aşamalarında verdikleri destek, yardım ve gösterdikleri dostluktan ötürü Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalıŐanlarına sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Son olarak hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, yaşamımın bana verdiği en değerli hediye olan canım aileme bütün kalbimle sevgilerimi sunarım.

## ÖZET

**Amaç:** Hasarlanan tendonun tam anlamıyla iyileşmesini sağlamak ve sahip olduğu fonksiyonelliğini geliştirmek gerekmektedir. Çalışmamızı aşıl tendonu hasarının iyileşmesine kitosan ve terapötik ultrasonun zamana bağlı etkisini incelemek amacıyla planladık. Tendon iyileşmesini ve sürecini farklı gruplarda farklı zaman aralıklarıyla kendi aralarında karşılaştırarak en etkili tedavi yönteminin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

**Yöntem:** Wistar albino, Rattus norvegicus türü yetişkin erkek ratlar (250-270 gr), 5 gruba ayrıldı (n= 156). Grup I: Kontrol (n=12) hiçbir işlem uygulanmazken, Grup II: Hasar (n=36) grubuna ait deneklerin sağ aşıl tendonları cerrahi olarak orta hattan kesilerek hasar oluşumu sağlandı ve Kessler yöntemi ile dikildi. Grup III:Kitosan (n=36) grubuna Kessler yöntemi sonrası kitosan solüsyonu uygulandı. Grup IV:Ultrason (n=36) grubuna Kessler yöntemi sonrası terapötik ultrason uygulandı (haftanın 5 günü 5 dakika süre ile 1 Mhz frekanslı 1 watt/cm<sup>2</sup>). Grup V:Ultrason+Kitosan (n=36) grubuna Kessler yöntemi sonrası hem kitosansolüsyonu hem de terapötik ultrason uygulandı (haftanın 5 günü 5 dakika süre ile 1 Mhz frekanslı 1 watt/cm<sup>2</sup>). Yapılan deneylerle tenascin-C ve tip 3 kollajen ekspresyonuna etkisine araştırıldı.

**Bulgular:** Tedavi uygulanan tüm gruplar içerisinde kontrol grubuna en yakın morfolojideki kollajen lifleri 6 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan gruptaki deneklerde gözlemledik. Ökromatik yapıda nükleusa sahip tenosit sayısında artışın daha fazla, düzensiz yapıda olan kollajen liflerin daha düzenli, sayıca oldukça fazla ve etraflarının çok daha pürüzsüz olduğu elde edilen bulgularla desteklenmiştir.

**Sonuç:** Tüm grupların fonksiyonel ve histolojik değerlendirilmeleri elde edildikten sonra, tendon iyileşme süreci göz önüne alınarak hem kitosan hem de terapötik ultrason uygulanan yöntemin daha etkili olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Aşıl tendonu, kitosan, terapötik ultrason, kollajen

## ABSTRACT

**Objective:** It is necessary to ensure that the damaged tendon is fully healed and to improve its functionality. We have planned our study to investigate the time-dependent effect of chitosan and therapeutic ultrasound on healing of Achilles tendon damage. It is aimed to determine the most effective treatment method by comparing tendon healing and process in different groups at different time intervals.

**Method:** Wistar albino, *Rattus norvegicus* adult male rats (250-270 g) were divided into 5 groups (n = 156). Group I: Control (n = 12) No operation was performed. Group II: Damage (n = 36): Right Achilles tendons of the subjects were surgically cut from the midline to prevent damage and were planted with Kessler method. Group III: Chitosan (n = 36): Chitosan solution was applied by Kessler method. Group IV: Ultrasound (n = 36): Therapeutic ultrasound was performed after the Kessler method (1 watt / cm<sup>2</sup> at 1 Mhz frequency for 5 minutes per week). Group V: Ultrasound + Chitosan (n = 36): After the Kessler method, both chitosan solution and therapeutic ultrasound were applied (1 watt / cm<sup>2</sup> with 1 Mhz frequency for 5 minutes per week for 5 minutes). The effects of tenascin-C and type 3 collagen expression were investigated.

**Results:** Among all the groups treated, we observed collagen fibers in the morphology closest to the control group in both the ultrasound and chitosan group for 6 weeks. The increase in the number of tenocytes with echromatic structure of the nucleus was supported by the findings that the collagen fibers with irregular structure were more regular, more numerous in number and their surroundings were much smoother.

**Conclusion:** After obtaining functional and histological evaluations of all groups, both chitosan and therapeutic ultrasound methods were found to be more effective by considering the tendon healing process.

**Key words:** Achilles tendon, chitosan, therapeutic ultrasound, collagen

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
<b>ÖZET</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	iii
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	vii
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	x
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2. 1.    Tendon	3
2. 1.1.    Tendon Yapısı	3
2. 1.2.    Ekstraselüler Kompartmanlar	6
2. 2.    Aşil Tendonu'nun Anatomisi	6
2. 2.1.    Musculus Gastrocnemius	7
2. 2.2.    Musculus Soleus	7
2. 2.3.    Musculus Plantaris	7
2. 3.    Aşil Tendonu	8
2. 3.1.    Aşil Tendonu'nun Beslenmesi	8
2. 3.2.    Aşil Tendonu'nun İnnervasyonu	9
2. 3.3.    Aşil Tendonu'nun Histolojisi	10
2. 3.4.    Aşil Tendonu'nun Biyomekaniği	10
2. 4.    Etiyoloji	10
2. 5.    Tendonun İyileşme Aşamaları	11
2. 5.1.    Enflamatuar Faz	11
2. 5.2.    Proliferatif Faz	11
2. 5.3.    Yeniden Yapılanma Fazı	12
2. 6.    Ultrason	12



2. 6.1.	Ultrasonun Termal Etkileri	13
2. 6.2.	Ultrasonun Termal Olmayan Etkileri	13
2. 7.	Terapötik Ultrason	14
2. 8.	Kitosan	14
2. 8.1.	Kitosan Yapısı	14
2. 8.2.	Kitosanın Etkileri	15
2. 9.	Aşil Fonksiyonel Testi	17

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

3. 1.	Deney Grupları	19
3. 2.	Fonksiyonel Yürüme Testi	19
3. 3.	Cerrahi İşlemler	20
3. 4.	Deney Grupları ve Uygulamalar	21
3. 5.	Aşil Tendon Eksizyonu ve Sakrifikasyonu	22
3. 6.	Histolojik Değerlendirme	23
3. 6.1.	Doku Takibi	23
3. 6.2.	Hematoksilen Eozin Boyaması	23
3. 6.3.	Masson Trikrom Boyaması	24
3. 6. 4.	İmmünohistokimya	25
3. 6. 5.	Elektron Mikroskopik İncelemeler	26
3. 7.	İstatistiksel Analiz	27

### **4. BULGULAR**

4. 1.	Fonksiyonel Yürüme Testi Sonuçları	28
4. 2.	İmmünohistokimyasal Değerlendirmeler	28
4. 2. 1.	Hematoksilen-Eozin Boyanması Bulguları	28
4. 2. 2.	Masson Trikrom Boyanması Bulguları	32
4. 2. 3.	Tip 3 Kollajen İmmünohistokimya Bulguları	36
4. 2. 4.	Tenascin C İmmünohistokimyası Bulguları	43
4. 2. 5.	TEM Sonuçları	49

<b>5. TARTIŞMA</b>	63
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	70
<b>KAYNAKLAR</b>	72
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	89

## TABLolar DİZİNİ

3. 1.	Deney grupları ve gruplara ait denek sayıları	19
3. 2.	2.,4. ve 6. Haftalar sonunda çalışılacak gruplara ait denek sayıları	22

## ŞEKİLLER DİZİNİ

2. 1.	Tendonun hiyerarşik yapısının şematik gösterimi	3
2. 2.	Kadavra Aşil tendon diseksyonu	6
2. 3.	Fonksiyonel rat yürüme testi ölçüm parametreleri	18
3. 1.	Fonksiyonel yürüme testi	20
3. 2.	Aşil tendon cerrahisi	21
3. 3.	Deneklere terapötik ultrason uygulaması	22
3. 4.	Aşil Tendon Eksizyonu	23
4. 1.	Kontrol grubuna ait Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları.	28
4. 2.	Hasar oluşturulduktan 2,4 ve 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları.	29
4. 3.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları.	30
4.4.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları	31
4. 5.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason + kitosan uygulanan ratlara ait Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları	32
4. 6.	Kontrol grubuna ait masson trikrom boyama sonuçları	32
4. 7.	Hasar oluşturulduktan 2,4 ve 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait masson trikrom boyama sonuçları	33
4. 8.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait masson trikrom boyama sonuçları	34
4. 9.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait masson trikrom boyama sonuçları.	35

4. 10.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason + kitosan uygulanan kitosan uygulanan ratlara ait Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları.	36
4. 11.	Kontrol grubuna ait tip 3 kollajen immünohistokimya boyama sonuçları.	37
4. 12.	Hasar oluşturulduktan 2,4 ve 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait tip 3 kollajen immünohistokimya boyama sonuçları	38
4. 13.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait tip 3 kollajen immünohistokimya boyama sonuçları.	39
4.14.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait tip 3 kollajen immünohistokimya boyama sonuçları.	40
4. 15.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta ultrason + kitosan uygulanan ratlara ait kollajen 3 immünohistokimya boyama sonuçları	41
4. 16.	Tüm gruplara ait İzotip kontrol kesit sonuçları.	42
4. 17.	Kontrol grubuna ait tenascin C immünohistokimya boyama sonuçları.	43
4. 18.	Hasar oluşturulduktan 2,4 ve 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait tenascin C immünohistokimya boyama sonuçları.	44
4. 19.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait tenascin C immünohistokimya boyama sonuçları.	45
4. 20.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait tenascin C immünohistokimya boyama sonuçları.	46
4. 21.	Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrasonkitosan uygulanan ratlara ait kollajen 3 immünohistokimya boyama sonuçları.	47
4. 22.	Tüm gruplara ait İzotip kontrol kesit sonuçları.	48

4. 23.	Kontrol grubuna ait TEM görüntüleri	50
4. 24.	2 haftalık hasar grubuna ait TEM görüntüleri	51
4. 25.	4 haftalık hasar grubuna ait TEM görüntüleri	52
4. 26.	6 haftalık hasar grubuna ait TEM görüntüleri	53
4. 27.	2 haftalık ultrason grubuna ait TEM görüntüleri	54
4. 28.	4 haftalık ultrason grubuna ait TEM görüntüleri	55
4. 29.	6 haftalık ultrason grubuna ait TEM görüntüleri	56
4. 30.	2 haftalık kitosan grubuna ait TEM görüntüleri	57
4. 31.	4 haftalık kitosan grubuna ait TEM görüntüleri	58
4. 32.	6 haftalık kitosan grubuna ait TEM görüntüleri	59
4. 33.	2 haftalık ultrason+kitosan grubuna ait TEM görüntüleri	60
4. 34.	4 haftalık ultrason+kitosan grubuna ait TEM görüntüleri	61
4.35.	6 haftalık ultrason+kitosan grubuna ait TEM görüntüleri	62

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>AFI</b>	: Aşıl fonksiyonel indeks
<b>CH<sub>3</sub>OH</b>	: Methanol
<b>DAB</b>	: Di Amino Benzidin
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>H<sub>3</sub>BC<sub>3</sub></b>	: Borik asit
<b>hiPSC</b>	: İnsan kaynaklı pluripotent kök hücreler
<b>Ig</b>	: Immunoglobulin
<b>IL-1</b>	: İnterlökin
<b>ITF</b>	: İntermediary toe-spread factor
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	: Hidrojen Fosfat
<b>NaCl</b>	: Sodyum Klorür
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	: Disodyum Hidrojen Fosfat
<b>OsO<sub>4</sub></b>	: Ozmiyum tetroksit
<b>PBS</b>	: Phosphate Buffer Saline
<b>PMN</b>	: Polimorf onükleer lökositler
<b>PLF</b>	: Print length foot
<b>TSF</b>	: Toe spreading factor
<b>3D</b>	: Üç boyutlu <b>intermediary toe-spread factor</b>

## 1. GİRİŞ

Aşil tendonu, in vivo streslerle karşılaşması diğer tendonlara göre daha yüksek olan bir tendondur. Bu nedenle çok fazla travmaya uğrar ve rüptüre olur ( Khan ve ark., 2005). Karşılaşılan tendon yaralanmaları akut ya da kronik, intrinsik ya da ekstrinsik sebeplerle ortaya çıkabilir. Aşil tendonuna ani yük bindirilip aniden yükün kalktığı durumlarda, özellikle spor aktivitelerinde tendon yaralanması ile karşılaşmaktadır. Yüksek bir yerden atlanması sonucunda ayağın sertçe dorsifleksiyona zorlanması ile de meydana gelebilir. Muskulotendinöz bileşkede yer alan koruyucu inhibitör yolağın fonksiyon bozukluğu da tendon yaralanmasına sebep olabilmektedir. (Khan ve ark., 2005; Sharma ve Maffulli, 2005). Literatürde yer alan bazı kadavra çalışmalarında, kalkaneal yapışma kısmının 3–6 cm üstünde yer alan bölgede intravasküler volümün azalmasının, tendonda spontan rüptüre neden olabileceği gösterilmiştir (Tatari ve ark., 2005). Tendon iyileşmesi ile ilgili birçok çalışma yapılmasına rağmen mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. Yeni kollajen üretimi ve tendon iyileşmesinde görülen tenosit, tendon içindeki ve dışındaki hücre veya fibroblastlardan hangisinin hangi oranda sorumlu olduğu araştırılmaktadır (Hyman ve Rodeo, 2000; Kader ve ark., 2002). Literatürde yer alan son çalışmalara göre, tendon iyileşmesini hızlandırmak için yeni tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. Hyaluronik asit, nitrik oksit, gen terapisi, sklerozan madde enjeksiyonu, insan amniotik sıvısı, sitokin ve büyüme faktörleri, mezensimal kök hücreler ile doku mühendisliği uygulamaları, heparin, insan amniyotik membranı ve aprotinin bunlardan birkaçıdır (Ghahary ve ark., 1993; Young ve ark., 1998; Kurtz ve ark., 1999; Alfredson ve Lorentzon, 2000; Sharma ve Maffulli, 2005).

Tendon iyileşmesini hızlandırmak için yeni tedavi yöntemleri araştırılmaktadır ve bunlardan birisi de kitosan adlı maddedir. Kitosan çok etkili bir absorbent olarak tanımlanmaktadır. En belirgin özellikleri antimikrobiyal ve antioksidan olmasıdır. Literatürde, tendon tedavisi amacıyla kitosanın kullanıldığı araştırmalar yeterli sayıda değildir. Kitosan, yara iyileşmesi prosesinde; polimorfonükleer hücre (PMN) ve makrofajların aktivasyonu, fibroblast aktivasyonu, sitokin üretimi, dev hücre migrasyonu ve kollajen sentezinin stimülasyonu gibi aşamalarda önemli rol



oynamaktadır. Ayrıca, mikroorganizmalara karşı koruyucu etki göstermekte ve doku olusumunu simüle etmektedir (Usami ve ark., 1998).

Terapötik ultrason konservatif tedavinin en önemli modellerinden biri olarak gösterilip tendon tedavi araştırmalarında yer almıştır. Tendona uygulanan ultrason tedavisi sonrasında tendondaki kollajen konsantrasyonu, kollajen fibrillerin büyüklüğü ve yoğunluklarının arttığı yönünde çalışmalar yer almaktadır (Frieder ve ark., 1988; McWhorter ve ark., 1991; Ng ve ark., 2003).

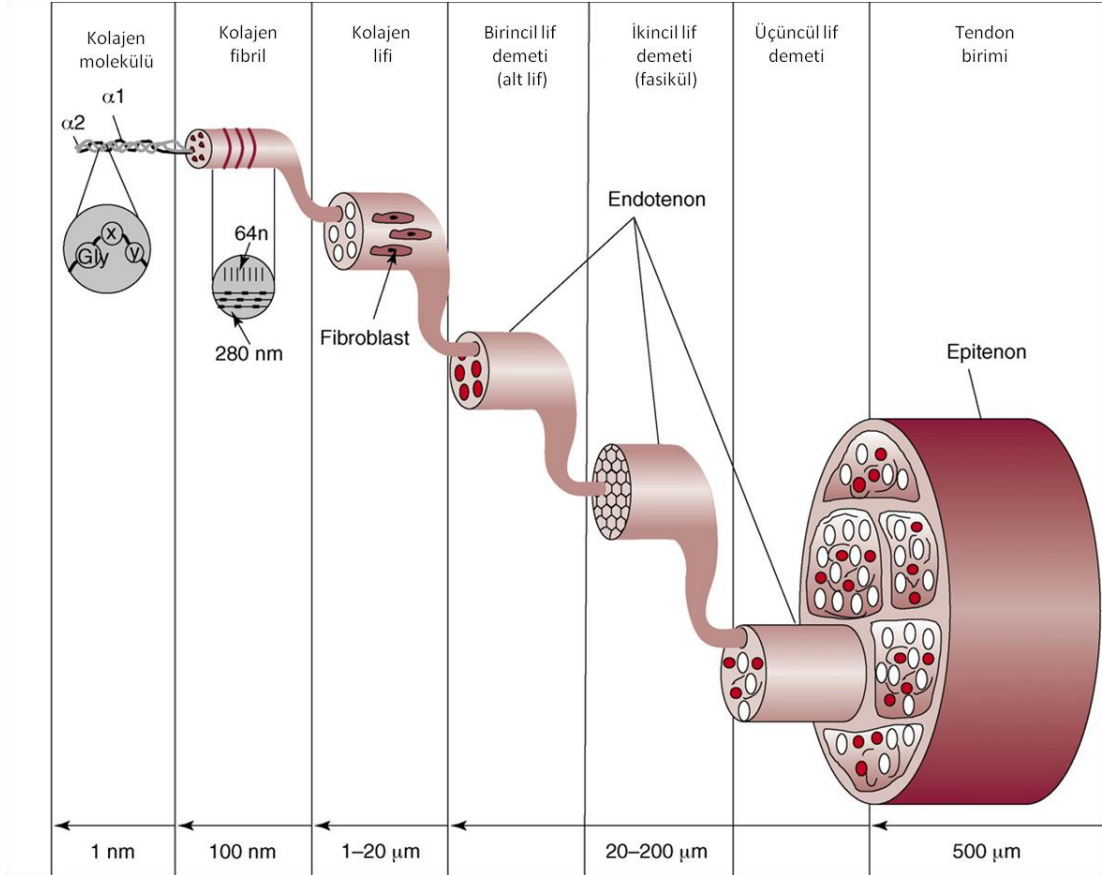
Bir tendon, temel olarak yumuşak doku ile aynı şekilde iyileşir; enflamasyon (1-7 gün), proliferatif (7-21 gün) ve yeniden yapılanma (3 hafta- 1yıl) evrelerinden geçer. Tendonlar, yapılarındaki kollajenlerin olgunlaşma ve yeniden şekillenmelerine rağmen, biyokimyasal ve metabolik olarak kemik ve kasa göre daha az aktiftir (Leadbetter, 1992). Fibroblastlar proliferatif fazda kollajen tip III'ü sentezler. Bu, yavaş yavaş gerilme kuvveti artan artışla 12-14. Günlerden itibaren kollajen tip I ile değiştirilecektir (Józsa, 1997). Ameliyattan 15 gün sonra tendondaki iyileşme yaklaşık olarak; gerilme kuvvetinin % 48'i, enerji emiliminin % 30'u, çekme geriliminin % 20'si geri kazanılır. İyileşen tendonlar, normal tendonların kollajenlerinin % 80'ine ve kollajen çapraz bağlarının (hidroksipiridinyum) % 60'ına sahiptir. İyileşen tendonlar sağlam tendonlardan daha fazla çözünür kollajen içerir ve olgunlaşan kollajen rezorpsiyonu, sağlam tendonlara kıyasla daha fazladır (Reddy ve ark., 1999). Tendon hasarından sonraki iyileşme süreci, düşük oksijen tüketimi, yapısal proteinin yavaş sentezi ve aşırı yük gibi birçok faktörden dolayı yavaştır (Vailas ve ark., 1978). Bu çalışmanın amacı aşıl tendonu hasarı oluşturulan rat modelinde kitosan ve terapötik ultrasonun fonksiyonel düzey ve histolojik değişikliklere olan etkilerini zamana bağlı olarak araştırmak ve uygun tedavi yöntemini belirleyebilmektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tendon

#### 2.1.1. Tendon Yapısı

Tendon kasları kemiğe bağlayan ve kuvvet iletmeye yarayan tek eksenli bir bağ dokusudur. Tendonlar, fiber olarak organize edilmiş yüksek derecede hizalanmış kollajen fibrillerinden oluşur. Lifler tendon fibroblastları ile birlikte fasiküller halinde düzenlenir ve fasiküller bir tendon oluşturmak için bağ dokusu kılıfları ile birbirine bağlanır. Tendon, tendonun uzun eksenine paralel uzanan kollajen molekülleri, fibriller, lif demetleri, fasiküller ve tendon ünitelerinden oluşan çok birimli hiyerarşik bir yapıya sahiptir (Şekil 2.1) (Wang, 2006). Bu hiyerarşik yapı, tendonun mekanik yeterliliğine katkıda bulunur (Kastelic ve ark., 1978; Birk ve Trelstad, 1986; Birk ve Mayne, 1997).



Şekil 2.1. Tendonun hiyerarşik yapısının şematik gösterimi. (Wang, 2006).

Fibroelastik bir dokuya sahip olan tendonlar parlak ve beyaz renklidir. Tendonlar yapı olarak çeşitlilik gösterirler; yuvarlağımsı kordonlar, bantlar veya düz şeritler şeklinde yerleşim gösterirler (Benjamin, 1995). Hücre dışı matris ağı içinde tenoblastlar ve tenositler yer alır. Bu yapılar tendonların yapısını oluşturan hücresel elemanların yaklaşık % 90-95'ini oluşturur. Olgunlaşmamış tendon hücrelerine tenoblast denmektedir. Uzayan ve olgunlaşan tenoblastlar ise tenositlere dönüşür. Tenositler ve tenoblastlar, tendonun uzun ekseni boyunca kollajen lifleri arasında bulunur (Kannus ve ark., 2000). Tendonların hücresel elemanlarının geriye kalan % 5-10'u ise bağlantı bölgelerindeki kondrositler, tendon kılıfının sinovyal hücreleri, kapiller endotel hücreler ve arteriollerin düz kas hücreleri tarafından oluşur. Tenositler enerji kaynağı olarak, anaerobik glikoliz, pentoz fosfat, aerobik Krebs döngüsünü kullanarak kollajen ve hücre-dışı matris ağının diğer tüm bileşenlerini sentezlerler (Józsa ve ark., 1979; Kvist ve ark., 1987; M O'brien, 1997). Artan yaşla birlikte metabolik yollar aerobikten daha çok anaerobik enerji üretimine geçmektedir (Kannus ve Jozsa, 1991). Tendon ve ligamentlerin oksijen tüketimi iskelet kaslarına göre yaklaşık 7,5 kat daha azdır (Vailas ve ark., 1978). Tendonların kuru kütlesinin % 65-80'i kollajen tip I, yaklaşık % 2'sini ise elastin oluşturur (M O'brien, 1997).

Kollajen ve tenositleri çevreleyen hücre dışı matriks ağının temel maddesi proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar, glikoproteinler ve diğer birkaç küçük molekülden oluşmaktadır (Kannus ve ark., 2000). Güçlü bir hidrofilik olan proteoglikanlar, suda çözünür moleküllerin hızlı yayılmasını ve hücrelerin göçünü sağlar. Fibronektin ve trombospondin gibi yapışkan glikoproteinler tendonda tamir ve rejenerasyon süreçlerine katılırlar (Jozsa ve ark., 1991).Tendonun hücre dışı matriks ağının bir başka önemli bileşeni olan Tenascin-C, tendonda, osteoendinöz ve miyotendinöz yapılarda yoğun miktarda bulunur (Riley ve ark., 1996; Kannus ve ark., 1998). Tendonda kollajen fibrillojenezi, olgun kollajen fibrillerinin dokuya özel bir yapı ve işlev ile birleşmesiyle sonuçlanır (Birk ve Trelstad, 1986; Zhang ve ark., 2005). Tendon gelişimi sırasında, fibrilogenezi en az üç farklı adım vardır. İlk adımda, kolajen molekülleri, olgunlaşmamış fibril ara ürünlerini oluşturmak için fibroblast yüzeyi ile yakın ilişki içinde hücre dışı bir şekilde toplanır. Bu adım, aşağıdakileri içeren bir dizi noktadan etkilenebilir: salgılama için paketleme sırasında, hücre dışı uzaya vektörel sekresyon,

prokollajen işleme, heterotipik kollajen etkileşimleri ve diğer moleküler etkileşimler. Bütün bu faktörler fibril ara maddesinin çekirdeklenmesini ve büyümesini etkileyebilir. İkinci aşamada, lineer fibril büyümesi, önceden oluşturulmuş fibril ara ürünleri, olgun, mekanik olarak fonksiyonel fibrillerle tutarlı daha uzun fibriller oluşturmak için uçtan uca birleştirir. Ara bileşiklerden elde edilen bu doğrusal büyüme, spesifik gelişim aşamalarında fibril ara maddesinin uçlarında bölgesel bir değişiklik olduğunu göstermektedir. Üçüncü aşamada, lateral fibril büyümesi, fibriller geniş çaplı fibrilleri oluşturmak için lateral olarak birleşir. Bu lateral büyüme basamağı, lineer büyüme ile birleştiğinde, olgun tendonun uzun, geniş çaplı fibrilleri oluşturur. Dokuya özgü fibrillogenesis, her adımın bağımsız düzenlenmesini içerecektir. Tendon fibrilleri fibril ilişkili proteoglikanların yanı sıra fibril ilişkili kollajenler ile etkileşime giren iki veya daha fazla farklı fibril oluşturan kollajenlerden bir araya getirilen heteropolimerik yapılarıdır. Bu kombinasyonlar tarif edilmiştir ve fibrillogenesis ve matris montajının düzenlenmesinde rol oynar (Zhang ve ark., 2005). Tendon, kantitatif olarak küçük miktarlarda tip III ve V kollajenli tip I kollajen'den oluşur. D-periyodik fibrilleri, ağırlıklı olarak değişen miktarlarda kollajen tip V ve III olan tip I kollajenlerdir (Birk ve ark., 1990) Kollajen tipleri XII ve XIV, tendon gelişimi sırasında farklı ekspresyon modellerine sahiptir. Bu kollajenler, çizgili kollajen fibrillerinin yüzeyinde bulunur. Fibril ilişkili doğaları nedeniyle, bu makromoleküller hem fibril oluşumunun düzenlenmesinde hem de dokuya spesifik hücre dışı matrislerin montajı için gerekli fibriller arasındaki etkileşimin (modüller) modifiye edilmesinde rol oynayabilir (Young ve ark., 2000; Zhang ve ark., 2003).

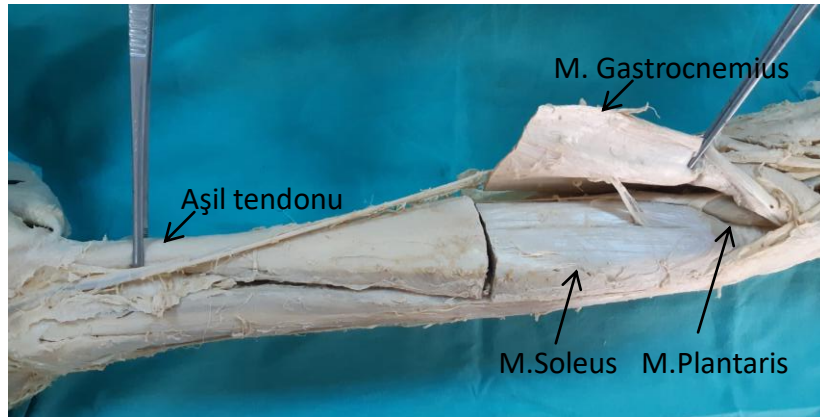
Ek olarak, lösin bakımından zengin tekrar eden proteoglikan / glikoprotein ailesi üyeleri, tendon fibrilleri ile ilişkilidir (Kastelic ve ark., 1978; Iozzo, 1999). Kollajen fibrilleri ile bu proteoglikan / glikoprotein ailesinin üyeleri arasındaki etkileşimler, fibrillogenesisin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Fibriller ve onların çevresindeki moleküller arasındaki etkileşimler de tendon mekaniğinde önemli bir rol oynar (Pogány ve Vogel, 1992; Rada ve ark., 1993; Iozzo, 1999).

### 2.1.2. Ekstraselüler Kompartmanlar

Tendondaki fibrillogenesis, fibroblastlar tarafından tanımlanan bir dizi ekstraselüler bölmede ortaya çıkar (Birk ve Trelstad, 1986; Birk ve Zycband, 1993, 1994). Bu bölmeler hücrenin etki alanını hücre dışı alana uzatır. Birinci bölümlendirme seviyesi, tek veya bazen küçük fibril grupları içeren bir dizi dar kanaldan oluşur. Dar kanallar sıklıkla sitoplazma içinde derinleşir ve Golgi bölgesi ile ilişkili bir perinükleer pozisyondadır. Bu ilk ekstraselüler bölme, kollajen içeren plazma boşlukları ile birlikte, tandemde bulunan salgı boşlukları şeklinde oluşur. Bu ilk bölmede, fibriller içine ilk montaj oluşur. Hücre dışı bölümlendirmenin ikinci seviyesi, hücre yüzeyi ile yakın ilişki içinde gruplandırılmış fibrillerden oluşur. Bu bölümler tek bir fibroblast veya bazen bitişik fibroblastlar tarafından tanımlanır. Tendon daha da olgunlaştıkça üçüncü bir bölümlendirme seviyesi vardır. Bu bölümler, iki ile üç bitişik fibroblastın yerleştirilmesiyle tanımlanır. Lif oluşturuçu bölmeler, doku olgunlaştıkça yanal olarak toplanır ve araya giren sitoplazma geri çekilir. Son bölmede, lifler ve lifler içinde olgunlaşan lifler tendon karakteristiğine sahip büyük lifler oluşturmak için birleşir. Bu hiyerarşik bölümlendirme fibroblastın adım adım fibril oluşumu ve matriks düzeneği üzerinde kontrol sağlar (Birk ve ark., 1990; Pins ve ark., 1997).

### 2.2. Aşil Tendonu'nun Anatomisi

Aşil tendonu vücuttaki en güçlü ve en büyük tendondur. Gastrocnemius ile soleus kaslarının yapışık tendonudur ve plantarisin de küçük bir katkısı olmaktadır (Şekil 2.2.) ( O'Brien, 2005).



Şekil 2.2. Kadavra Aşil tendon diseksiyonu

### **2.2.1. Musculus Gastroknemius**

Gastroknemius en yüzeysel kastır (Şekil 2.2.). Fusiform bir kas olup, popliteal fossanın alt sınırını oluşturur. Gastroknemius'un medial başı medial femoral kondilin üzerinden, medial suprakondiler hattın arkasındaki femurun popliteal yüzeyinden ve adduktor tüberkülden başlar. Lateral başından daha büyük ve daha uzundur. Lateral baş ise, femoral kondilin lateral yüzeyinin arka kısmından ve kondilin üzerindeki linea asperanın lateral dudağının belli bir kısmından başlar. Medial başın derinindeki bursa, diz eklemi ile iletişim kurar ve Baker'ın kistlerine karışabilir. Gastrokinemiusun soleus ile ilgili derin yüzeyi tendonludur. kas karınlarına buzağı ortasına uzanan ve gastroknemius iki karınları araya gelip, onlar anterior veya kas derin yönü üzerinde aponeurosis ile sürekli olan bir tendon rafe oluştururlar. Bu, Aşil tendonu oluşturmak için soleus tendonunu birleştirir (Standring, 2015).

### **2.2.2. Musculus Soleus**

Soleus kası gastroknemiustan daha geniştir ve kas lifleri gastroknemiusunkinden daha distale uzanır. Fibula ve tibia arasındaki fibröz arktan ve tibianın medial sınırının orta üçte birlik kısmından, fibula arka yüzünün üst yüz arka yüzeyinden başlar (Şekil 2.2.). Popliteal damarlar ve tibial sinir fibröz arkın altından geçer. Müsküler lifler gastroknemiusun aponevrosunun anteriorunda yer alan soleusun posterior aponevrozunda son bulur. Kasların aponörotik lifleri, birleşmeden önce değişken mesafelerde birbirine paralel uzanırlar (O'Brien, 2005). Soleus gastroknemius ile birleşerek Aşil tendonu en derin kısmını oluşturur. Soleusun tendon kısmı genellikle Aşil tendonuna katkıda bulunan tendonların en büyüğüdür ve temel plantar fleksörde görev alır (Kvist, 1994). Soleus postural bir kastır ve ayakta dururken vücudu dik tutar. Yerçekimi merkezi diz ekleminin hareket ekseninin önünden geçerken, soleus, vücudun ayak bileğinin öne eğilimine karşı koyar. Sadece ayak bileği ekleminde etki eder (Snow ve ark., 1995; Romanelli ve ark., 2000).

### **2.2.3. Musculus Plantaris**

Plantaris kası değişken bir boyuta sahiptir ve bireylerin % 6 ile % 8'inde yoktur. Femurun lateral femoral kondilin üzerindeki popliteal yüzeyinden başlar. Plantaris kası 5-10 cm uzunluğunda olup genellikle gastroknemius ve soleus arasında uzun bir tendon

ile distale uzanır. Tendonu, aşil tendonunun önünde medial sınırına yerleşir ve tendon grefti olarak kullanılabilir (Şekil 2.2.) ( O'Brien, 2005).

### **2.3.Aşil Tendonu**

Aşil tendonu yaklaşık olarak 15 cm uzunluğunda olup gastrocnemius ve soleusun musculotendinöz kavşağından başlar (Şekil 2.2.). Soleusun tendinöz kısmı 3-11 cm, gastrocnemiusun tendinöz kısmı 11-16 cm'ye kadar değişir (Cummins ve Anson, 1946). Aşil tendonu yuvarlak bir üst kısma sahiptir ve distal 4 cm'lik kısmı nispeten düzdür (Komi, 1990). Aşil tendonu liflerine ait düzenleme, tendon uzamasını artırır ve tendon içinde depolanan enerjinin hareket sırasında serbest kalmasına yardımcı olur ( Maffulli ve ark., 1987, 1998). Sinovyal kılıfı olan ayak bileği etrafındaki diğer tendonların aksine, Aşil tendonu iki katmandan oluşan paratenon ile sarılıdır, epitenon ile doğrudan temas halindedir ve üzerinde mezotenona ait olan yüzeysel bir tabaka bulunur. Tendonun arka yüzü fasya kruris ile sarılı durumdadır ( Kvist ve Kvist, 1980; Maffulli ve Benazzo, 2000).

#### **2.3.1. Aşil Tendonu'nun Beslenmesi**

Tendonların arteriyel beslenmesi değişkendir. Genellikle kas-tendon birleşimi, tendonun boyunca ve tendon-kemik birleşimi olmak üzere üç bölgeye ayrılır. Beslenmenin en yoğun olan kısmı tendonun uzunluğunu seyreden arterlerden sağlanır. Aşil tendonundaki en düşük damarlanma alanı, tendonun insersiyosundan yaklaşık 2 cm ile 6 cm yukarıdadır(Astroöm ve Westlin, 1994; Ahmed ve ark., 1998; Zantop ve ark., 2003). Kas-tendon birleşiminin arteriyel beslenmesi çevre dokulardaki yüzeysel damarlar tarafından sağlanır. Buradaki kapiller damarlar arasında anastomoz yoktur. Tendonun orta kısmının esas arteriyel beslenmesi paratenon yoluyla. Paratenondaki küçük kan damarları, tendonun uzun eksenine paralel şekilde ilerlemeden önce birkaç kez enine dallar vererek ilerler. Damarlar endotenon boyunca tendona girer ve burada yer alan arteriyoller iki venül tarafından kuşatılmış olarak longitudinal uzanır. Arteriyoller kollajen demetlerine nüfuz etmezler (Zantop ve ark., 2003). Tendonun proksimal kısmını arteria tibialis posterior'un bir dalı beslerken, distal kısım a. fibularis (peronealis), a. tibialis posterior ve rete arteriosum calcaneare tarafından tarafından beslenir. Tendonun insersiyosuna yakın yerde avasküler bir alan görülebilir. Aşil

tendonunda farklı damar yoğunluğuna sahip üç bölge bulunmaktadır. Aşil tendonunun distal kısım vasküler yoğunluğu 56.6 damar / cm<sup>2</sup> iken orta kısmında vasküler yoğunluk 28.2 damar / cm<sup>2</sup>'dir (Leadbetter ve ark., 1992). Tendonun proksimal kısım damar yoğunluğu ise 73.4 damar / cm<sup>2</sup> dir. Kemik-tendon birleşiminin beslenmesini sağlayan damarlar tendonun alt üçte birini besler. Tendon ve kemik arasındaki fibro-kıkırdaklı yapı nedeniyle damarlar arasında doğrudan iletişim yoktur, ancak damarlar arasında bazı dolaylı anastomozlar vardır. (Galloway ve ark., 1992; Astroöm ve Westlin, 1994; Ahmed ve ark., 1998; Langberg ve ark., 1998; Schepsis ve ark., 2002). Yaşın artması ile birlikte tendon besleyen kan miktarı azalır. Zayıf vaskülerliğin travmadan sonra yeterli doku onarımını önleyemediği ve tendonun daha da zayıflamasına yol açabileceği öne sürülmektedir (Langberg ve ark., 1998).

### **2.3.2. Aşil Tendonu'nun İnnervasyonu**

Tendonlar duysal innervasyonlarını, üst üste gelen yüzeyel sinirlerden veya yakınındaki derin yerleşimli sinirlerden sağlamaktadırlar (O'Brien, 1992). Aşil tendonu innervasyonunu, tutunduğu kasların sinirlerinden, bölgedeki kuten sinirlerinden, özellikle de tibial sinirden ve az miktarda sural sinirden sağlar (Stillwell, 1957; O'Brien, 1992). Sinir lifleri paratenonda zengin pleksuslar oluşturur ve dallar epitene nüfuz eder. Çoğu sinir lifi aslında tendonun ana gövdesine girmez, fakat yüzeyinde sinir uçları olarak son bulur. Miyelinli liflerin sinir uçları, basınç veya gerginlikteki değişlikleri saptamak için özel mekanik tutucu olarak işlev görür. Bu mekanoreseptörler yani Golgi tendon organları, en fazla tendonların kas içine yerleşim yerinde bulunur (Lephart ve ark., 1997). Golgi tendon organları esasen, büyük miyelinli sinir liflerinin bir grup dalını saran ince ve bağlayıcı bir doku kapsülüdür. Bu lifler, tendonun kollajen liflerinin demetleri arasındaki bir lif ucu ile sonlanmaktadır (Sharma ve Maffulli, 2005). Miyelinsiz sinir uçları, nosiseptörler gibi davranır ve ağrıyı algılayıp iletir. Tendonda hem sempatik hem de parasempatik lifler bulunur (Ackermann ve ark., 2001). Afferent reseptörler büyük ölçüde osteotendinöz bileşkeye yakın yerleşir ve dört tip reseptörün tümünü içerir : tip I Ruffini korpuskülü - basınç reseptörleri, tip II Vater-Paccinian korpuskülü - harekete duyarlı, tip III Golgi tendon mekanoreseptörleri ve tip IV serbest ağrı reseptörü olarak işlev gören sinir uçları yer alır (O'Brien, 1992, 2005).



### **2.3.3. Aşil Tendonu'nun Histolojisi**

Tenositler ve tenoblastlar, tendonun hücre elemanlarının %90-95'ini oluşturur. Kondrositler, vasküler hücreler, sinoviyal hücreler ve düz kas hücreleri, kalan hücresel elemanları oluşturur. Ekstrasellüler tendon matrisi kolajen ve elastin liflerinden, proteoglikanlardan ve kalsiyum gibi organik bileşenlerden oluşur (Józsa, 1997; Maffulli, 1999). Kollajen fibrilleri, kan, lenfatik damarlar, sınırlar içeren fasiküller halinde demetlenir. Endotenon tarafından çevrelenen fasiküller, tendonun brüt yapısını oluşturmak için bir araya toplanırlar. Tendon, iyi tanımlanmış bir bağ dokusu tabakası olan epitenon ile sarılır. Bu yapı da, tendon hareketi sırasında sürtünmeyi azaltmak için aralarında ince bir sıvı tabakası bulunan paratenon ile çevrilidir. Epitenonun en iç tabakası endotenonla doğrudan temas halindedir (Arndt ve ark., 1997).

### **2.3.4. Aşil Tendonu'nun Biyomekaniği**

Aktin ve miyosin tenositlerde bulunur ve tendonlar kuvvetin kastan kemiğe iletimi için neredeyse ideal mekanik özelliklere sahiptir (Ippolito ve ark., 1980). Tendonlar sert ve esnektir, yüksek gerilme mukavemeti ile: zarar vermeden önce % 4'e kadar uzayabilirler (Ker, 1981; Józsa, 1997). Erkeklerde aşil tendonları maksimum kesim kopma kuvveti ve sertliği kadınlardakinden daha geniş bir kesit alanına sahipken, genç bireylere ait tendonlarda çekme kopma gerilimi yüksek ve sertliği düşüktür (Thermann ve ark., 1995). Bir tendon,% 2'den daha fazla gerildiğinde dalgalı konfigürasyonunu kaybeder. Kolajen lifleri deforme olduğunda, artan tendon yüklerine doğrusal olarak tepki verirler (Aspden ve ark., 1987; Józsa, 1997). % 8'den büyük gerilme seviyelerinde, makroskopik rupture gerçekleşmektedir.(Ker, 1981; Whittaker ve Canham, 1991; O'Brien, 1992). Tendonların oksijen tüketimi iskelet kaslarına göre 7,5 kat daha düşüktür ve tendonlar vücut ağırlığının 17 katına kadar yük taşıyabilmektedir (Thermann ve ark., 1999).

## **2.4. Etiyoloji**

Aşil tendonu aşırı kullanım yaralanmaları, koşma ve zıplama gibi yorucu fiziksel aktivitelerle ilişkilendirilir (Kvist, 1994; Kannus, 1997; Alfredson ve Lorentzon, 2000). Aşil tendonu bozukluklarının etiyolojisi ve patogenezi hala büyük ölçüde bilinmemektedir. Birçok egzersizin neden olduğu vakalarda, tendonun koşma ve atlama gibi aktiviteler sırasında art arda fizyolojik uzama kabiliyetinin ötesinde gerilediğine

inanılmaktadır. Aşil tendon bozukluklarının temel etiyolojisinin çok faktörlü olduğu bilinmektedir. Bu problemler için bir dizi ekstrinsik ve intrinsik risk faktörler tanımlanmıştır. İntrinsik risk faktörleri arasında alt ekstremite yetersizlikleri, bacak uzunluğu uyumsuzluğu, kas zayıflığı ve dengesizliği, azalmış esneklik ve fazla kilo örnek verilebilir. Ekstrinsik risk faktörleri arasında Aşil tendonu aşırı kullanım yaralanmaları bulunan hastaların% 60-80'inde vücudun aşırı yüklenmesi ve egzersiz hataları bulunabilir (Kannus, 1997). Florokinolonlar ve kortikosteroidlerin kullanımı gibi ekstrinsik faktörlerin, ilişkili tendinit ve artmış yırtılma riski ile birlikte Aşil tendonunun zayıflamasına yol açtığı gösterilmiştir (Corrao ve ark., 2006; Sode ve ark., 2007). Artan yaş, erkek cinsiyeti ve obezite gibi bireysel hasta özelliklerinin Aşil tendon patolojisi ile pozitif korelasyon gösterdiği gösterilmiştir (Holmes ve Lin, 2006).

## **2.5. Tendonun İyileşme Aşamaları**

Tendon iyileşmesi çalışmaları ağırlıklı olarak hayvan tendonları veya yırtılmış insan tendonları üzerinde gerçekleştirilmiştir ve tendonopatik insan tendonlarının iyileşmesi ile ilgileri belirsizliğini korumaktadır. Tendon iyileşmesi üç örtüşen fazda meydana gelir.

### **2.5.1. Enflamatuar Faz**

İlk olarak, enflamatuar fazda eritrositler ve enflamatuar hücreler, özellikle nötrofiller yaralanma bölgesine girer. İlk yirmi dört saatte monositler ve makrofajlar baskındır ve nekrotik malzemelerin fagositozu oluşur. Vazoaktif ve kemotaktik faktörler, artan damar geçirgenliği, anjiyogenezin başlatılması, tenosit proliferasyonunun uyarılması ve daha fazla enflamatuar hücrelerin alımı ile serbest bırakılır. Tenositler yavaş yavaş yaraya göç eder ve tip III kollajen sentezi başlatılır. Birkaç gün sonra, proliferatif faz başlar (Murphy ve ark., 1994).

### **2.5.2. Proliferatif Faz**

Bu aşamada tip III kollajen piklerinin sentezi ve birkaç hafta sürer. Bu aşamada su içeriği ve glikozaminoglikan konsantrasyonları yüksek kalır (Oakes, 2003). Yaklaşık altı hafta sonra, yeniden yapılanma aşaması, düşük selülerlik ve azalmış kollajen ve glikosaminoglikan senteziyle başlar. Tadilat aşaması yeniden yapılanma ve olgunlaşma aşamasına bölünebilir (Tillan ve Hertling, 1996).

### **2.5.3. Yeniden Yapılanma Fazı**

Yeniden yapılanma aşaması yaklaşık altı haftada başlar ve on hafta kadar devam eder. Bu dönemde onarım dokusu selüler hücreden fibröze değişir. Tenosit metabolizması bu süre boyunca yüksek kalır, tenositler ve kollajen lifleri stres yönünde hizalanır (Hooley ve Cohen, 1979). Bu aşamada daha yüksek oranda bir tip I kollajen sentezlenir (Abrahamsson, 1991). On hafta sonra, olgunlaşma aşaması, bir yıl boyunca fibröz dokunun skar benzeri tendon dokusuna kademeli olarak değişmesiyle oluşur (Farkas ve ark., 1973; Hooley ve Cohen, 1979). Bu evrenin son yarısında, tenosit metabolizması ve tendon vaskülaritesi azalır (Amiel ve ark., 1983). Tendon iyileşmesi içten, epitenon ve endotenon tenositlerin çoğalmasıyla ya da dışarıdan, çevreleyen kılıf ve sinoviyumdan hücrelerin istilası ile ortaya çıkabilir (Gelberman ve ark., 1984; Manske ve Lesker, 1984). Kesikli tendonların iyileşmesi, yalnızca epitenondaki hücreler tarafından, vaskülarite veya hücresel destek için yapışmalara dayanmadan elde edilebilir (Gelberman ve ark., 1986). İç tenositler içeriden onarım işlemine katkıda bulunur ve epitenon hücrelere kıyasla daha büyük ve daha olgun kollajen lifleri salgılar (Fujita ve ark., 1992). Buna rağmen, epitenon ve tenositlerdeki fibroblastlar onarım sırasında kollajeni sentezler ve farklı hücreler muhtemelen farklı zaman noktalarında farklı kollajen tipleri üretir. İlk olarak, kollajen, daha sonra kollajeni sentezleyen endotenon hücreleri ile, epitenon hücreleri tarafından üretilir (Russell ve Manske, 1990; Ingraham ve ark., 2003). Her hücre tipinin katkısı, devam eden travma tipinden, anatomik lokasyondan, sinovyal bir kılıfın varlığından ve onarımdan sonra hareketle indüklenen stresin miktarından etkilenebilir (Koob, 2002).

### **2.6. Ultrason**

Ultrason, bir dizi klinik durum için yaygın bir terapi haline gelmiştir: burkulan bağlar, iltihaplı tendonlar ve tendon kılıfları, laserasyonlar ve diğer yumuşak doku hasarı, skar dokusu duyarlılığı ve gerginliği, varis ülseri, amputasyonlar, nöroma, gerilmiş ve yırtılmış kaslar, iltihaplı ve hasarlı eklem kapsülleri ve gecikmiş başlangıçlı kas ağrılarında uygulanmaktadır (Dyson, 1987; Kitchen, 1990). Son kullanımlar arasında hızlandırılmış kırık iyileşmesi, kas yaralanması ve tromboliz sayılabilir (Harpaz ve ark., 1993; Hadjiargyrou ve ark., 1998; Rantanen ve ark., 1999). Ultrason dalgalarının çift etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. İlk olarak, sonik enerji diatermiye benzer şekilde iç ısı

üretir. İkincisi, ses dalgalarının enerjisi dokulara yüksek frekanslı masaj gibi davranır (Ter Haar, 1999). Ultrasonun etkinliğinin derinliği frekansa bağlıdır. Frekans ne kadar düşük olursa, ultrason o kadar derin erişebilir. 1 MHz frekanslı ultrason tedavisi 3–5 cm derinliğe ulaşırken 3 MHz ultrason sadece 1-2 cm derinliğe ulaşabilir. Dokuda yararlı terapötik etkiler elde etmek için spesifik sıcaklık artışları gerekir (Larsen ve ark., 2005). Ultrason, hedef doku üzerinde artan lokal metabolizma, dolaşım, bağ dokusu genişletilebilirliği ve doku rejenerasyonu ile sonuçlanan termal ve mekanik etkiye sahiptir (Maxwell, 1992). Ultrason dalgaları sürekli veya darbeleri olarak iletilebilir. Doku sıcaklığındaki ölçülebilir artış, sürekli ultrason kullanılarak belgelenmiştir. Kesikli düşük yoğunluklu ayarlar kavitasyon ve mikro akış gibi termal olmayan etkiler üretme eğilimindedir (Knight ve ark., 2001).

### **2.6.1. Ultrasonun Termal Etkileri**

Ultrason, termal terapötik etkiler üretme yeteneğine sahiptir. 1987'de Dyson, dokunun doğada tedavi edilebilmesi için dokunun en az 5 dakika boyunca 40° C ile 45° C sıcaklığa ulaşması gerektiğini belirtmiştir (Dyson, 1987) .Canlı dokularda sıcaklık arttıkça, bölgedeki kan akışı ısıyı yayar. Ultrason tedavisi sırasında doku sıcaklığının doğrudan in vivo ölçümü, doku ısınma sorununu çözmüştür. İnfüze edilmemiş doku ile yapılan deneyler, ultrasonun doku sıcaklığını 0.86°C / dak (1 W / cm<sup>2</sup>, 1 MHz) oranında arttırabileceğini göstermiştir (Draper ve ark., 1995; Chan ve ark., 1998).

### **2.6.2. Ultrasonun Termal Olmayan Etkileri**

Termal olmayan etkiler, Ter Haar tarafından kavitasyona ve diğer mekanik etkilere bölünmüştür. Ultrasonun faydalı etkilerinin, ısıtmadan ziyade “nonhermal etkileşim mekanizmaları” ndan kaynaklandığını iddia etti ( Ter Haar, 1988). “Kavitasyon” terimi ilk olarak 20. yüzyılın başlarında Sir John Thornycroft tarafından kullanılmış ve sıvıların kabarcıkların oluşumu ve ömrü olarak tanımlanmıştır (Suslick, 1988). Genel olarak “kavitasyon” terimi, herhangi bir kabarcık fenomenini tanımlamak için kullanılabilir, ancak burada akustik kavitasyonu belirtmek için kullanılacaktır: akustik alandaki kabarcıkların davranışı. Bu nedenle kavitasyon, “ultrason titreşiminin bir sonucu olarak dokularda küçük gaz kabarcıklarının oluşması” olarak tanımlanabilir (Robertson ve ark., 2006).

## **2.7. Terapötik Ultrason**

Yaralı tendonların optimal işlevini yerine getirmek için, iyileşme sürecini kolaylaştıracak terapötik müdahaleleri belirlemek hayati önem taşır. Terapötik ultrason, yumuşak doku yaralanmalarını tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Ter Haar ve ark., 1987; Ter Haar, 1999). Histolojik ve biyokimyasal çalışmalar, yırtılmış tendonların kollajen ve fibril yoğunluğunun konsantrasyonunun ve boyutunun terapötik ultrason tedavisi ile arttığını ve böylece tendonların biyomekanik özelliklerinde iyileşmeler olarak ortaya çıktığını göstermiştir. Terapötik ultrason ile tedavi edilen tendonlarının güç ve enerji emme kapasitelerinde önemli bir gelişme olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir. (Frieder ve ark., 1988; Jackson ve ark., 1991). Terapötik ultrason, akut inflamatuvar fazdaki şişliği azaltır ve deneysel olarak tendon iyileşmesini arttırmaktadır. Ultrason ayrıca tendon fibroblastlarında kollajen sentezini uyarır ve hızlı hücre çoğalması dönemlerinde hücre bölünmesini uyarır (Kellett, 1986; Enwemeka, 1989; Jackson ve ark., 1991). Terapötik ultrason ödemi azaltarak, mast hücre degranülasyonunu ve neoanjiyogenezi tetikleyerek iyileşmenin erken aşamalarında çalışarak; bölgeye monositler dahil olmak üzere kanla taşınan metabolitlerin ve hücrelerin verilmesinin arttırılmasını sağlamaktadır (Dyson, 1987; Young ve Dyson, 1990).

## **2.8. Kitosan**

### **2.8.1. Kitosan Yapısı**

Selülozdan sonra doğada en bol bulunan biyopolimer olan Chitin, kabuklular ve böceklerin dış iskeletlerinin yanı sıra bazı bakteri ve mantarların hücre duvarlarının temel bileşeni olarak doğada yaygın olarak dağıtılan bir polisakarittir. Selüloz gibi, glikoz bazlı dallanmamış bir polisakarittir. Bir hidroksil grubu yerine bir asetamido kalıntısına sahip olarak C-2 karbonundaki selülozdan farklıdır. Kitosan, kitinin alkalın deasetilasyonundan sonra elde edilen kısmen deasetillenmiş bir asetil glukozamin polimeridir. Glukozamin ve N-asetil glukosamin kopolimerlerini içerir ve kitosan terimi, moleküler ağırlıkta değişen yaklaşık bir dizi polimeri kapsar (yaklaşık 10.000 ile 2 milyon Dalton) (Sanford, 1989). Kitosan, yarı kristalindir ve kristallik derecesi, deasetilasyon derecesinin bir fonksiyonudur. Kristallilik, hem kitin (% 0 deasetile edilmiş) hem de tamamen deasetile (% 100) kitosan için maksimumdur. Orta derecede

deasetilasyon derecesinde minimal kristallilik elde edilir. Şu anda, chitin ve chitosan ticari olarak karides, ıstakoz ve yengeçlerin dış kabuğundan büyük ölçekte üretilmektedir (Şenel ve McClure, 2004).

## **2.8.2. Kitosanın Etkileri**

### **Yara İyileşmesi**

Kitosanın, hyaluronik asitinkine benzeyen kimyasal yapısı, yara iyileştirici bir ajan gibi davranmaktadır (Prudden ve ark., 1970). Yara iyileşmesini hızlandırma mekanizmaları, birkaç grup tarafından in vitro ve in vivo olarak araştırılmıştır. Polimerleri ve ürünleri yara iyileşmesini hızlandırmak, tedavi sıklığını azaltmak ve rahat ve ağrısız yara yüzeyi korumasını sağlamak için çalışmalar yapılmıştır. Yara iyileşmesini hızlandırmaya ek olarak, kitosan ayrıca enfeksiyonu önlemek için konak savunmasını aktive edebilir, böylece antibiyotik kullanımına bir alternatif sunmaktadır ( Muzzarelli ve ark., 1999; Suzuki ve ark., 2000; Nakamura, ve ark., 2001). Kitosan, polimorfonükleer lökositler (PMN) (fagositoz, osteopontin ve lökotrien B4), makrofajlar (fagositoz üretimi, (IL-1), transformasyon faktörü h1 ve trombosit büyümesi) gibi enflamatuvar hücrelerin fonksiyonlarını artırır (Mori ve ark., 2001). Kitin ve kitosanın yara iyileşmesi üzerindeki en ilginç etkilerinden biri, anjiyojenezli granülasyon dokusu oluşumudur. Chitin ve kitosan, fibroblastların ve vasküler endotel hücrelerinin göç ve proliferasyonunda rol oynayan interlökin-8'i serbest bırakmak için fibroblastları indükler (Şenel ve McClure, 2004).

### **Antimikrobiyal Etkinlik**

Yara iyileşmesi gerekliliklerine ek olarak, pansuman altında yaranın herhangi bir enfeksiyonunu kontrol etmek önemlidir. Enfeksiyöz organizmalar tercihen pansuman malzemelerinin altındaki yaraları hedef alır ve sıklıkla yara pansumanının çıkarılmasını gerektiren ciddi enfeksiyonlara neden olur. Bu nedenlerden dolayı, yaraların tedavisi bakteri üremesinin baskılanmasını gerektirir. Kitosanın, enfekte olmuş yaraların tedavisinde bakteriyel proliferasyonun inhibisyonunu sağladığı gösterilmiştir (Mi ve ark., 2003). Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi, çeşitli bakteri ve mantarlara karşı tanınmıştır ve kitosanın tipi, polimerizasyon derecesi ve diğer kimyasal ve fiziksel özelliklerinden bazılarını içeren bir dizi faktörden etkilenmiştir (Choi ve ark., 2001; No

ve ark., 2002). Kitosan bakterilerin büyümesini, kitosan oligomerlerine göre daha etkili bir şekilde inhibe eder, fakat inhibe edici etkiler, kitosanın moleküler ağırlığı ve bakteri tipine göre farklılık gösterir. Kitosan genellikle gram negatif bakterilere kıyasla gram pozitiflere karşı daha güçlü bakterisidal etkiler gösterir. Kitosanın antibakteriyel aktivitesi pH'dan (pH 4.5-5.9 aralık test edilmiştir) etkilenir, daha düşük aktivite pH değerlerinde bulunur. Seyreltik asit çözeltilerinde, kitosanın pozitif yükleri, muhtemelen boyutsal stabilite vermeden zardaki elektronegatif bölgeler için Ca + ile rekabet ederek, zarın sızmasını sağlayarak bakteriyel hücre yüzeyindeki negatif yüklü makromolekül tortularını engeller (Begin ve Van Calsteren, 1999)

### **Doku rejenerasyonu**

Kitosanın memeli dokularla hücresel etkileşimleri, doku onarımı ve yenilenmesi açısından olumlu olmuştur. Kitosanın en ümit verici özelliklerinden biri, hücre nakli ve doku rejenerasyonunda kullanılmak üzere gözenekli yapılar halinde işlenebilme kabiliyetidir (Özmeriç ve ark., 2000; Khor ve Lim, 2003). Gözenekli kitosan yapıları uygun kalıplarda kitosan çözeltilerinin dondurulması ve liyofilize edilmesiyle oluşturulabilir. Kitosan yapı iskelelerinin mekanik özellikleri büyük ölçüde gözenek boyutlarına ve gözenek yönelimlerine bağlıdır. Bu tür iskeleler, osteoblastik hücrelerin çoğalmasının yanı sıra farklılaşmalarını destekleyerek kemik onarımını artırabilir. Kitosan ve türevlerinin, osteojenik aktiviteye sahip olduğu ve hayvan modellerinde yapay olarak yapılan kemik defektlerinde kemik mineralizasyonunu desteklediği bildirilmiştir ( Muzzarelli ve ark., 1993; Muzzarelli ve ark., 1998; Wang ve ark., 2002). Son zamanlarda, diz-eklem sıçan boşluğuna enjekte edilen kitosan çözeltilisinin, eklem kıkırdak kondrosit yoğunluğunda önemli bir artışa neden olduğu, kitosanın epifiz kıkırdak büyümesi ve eklem kıkırdağının yara iyileşmesi üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Lu ve ark., 1999). Bu biyokimyasal ve morfolojik sonuçlar, kitosanın olumlu biyolojik özellikleri ile birleştiğinde, kitosanın kıkırdak dokusu mühendisliği için ümit verici bir iskele olduğunu göstermektedir. Kitosan iskelesinin, tohumlanmış kondrositlere uygun bir biyomekanik ortam sağlamak için gerekli mekanik özelliklere sahip olması da çok önemlidir. Kondrojenizi destekleyebilecek bir kitosan bazlı malzemenin geliştirilmesi, sadece üretilen neokartilajın kalitesi açısından değil, aynı zamanda bu dokunun konakçı matris ile entegrasyon kabiliyeti açısından da önemli

olabilir. Kitosan bazlı kıkırdak yapı iskelelerinin gen tedavisi ile birlikte kullanılması ve büyüme faktörlerinin kullanılması, klinik ortamlarda kıkırdak onarımının uzun vadeli sonuçlarını iyileştirebilir (Suh ve Matthew, 2000). Biyolojik duyarlılığı ve güvenliği nedeniyle, kitosan antimikrobiyal ve antitümör tedavisi, immün modifikasyonunda uygulanmıştır ve doku mühendisliğinde cilt veya kemik hücresi büyümesine izin vermek için bir biyo-iskele olarak uygulanmıştır. Önceki çalışmalar kitosan'ın tendon onarımı üzerindeki terapötik etkisini, fibroblast büyümesinin inhibisyonunu, geliştirilmiş yapışkan kapasitesini ve hücre çoğalmasını ve kollajen üretimini göstermiştir ( Zhang ve ark., 1999) .

### **Analjezi**

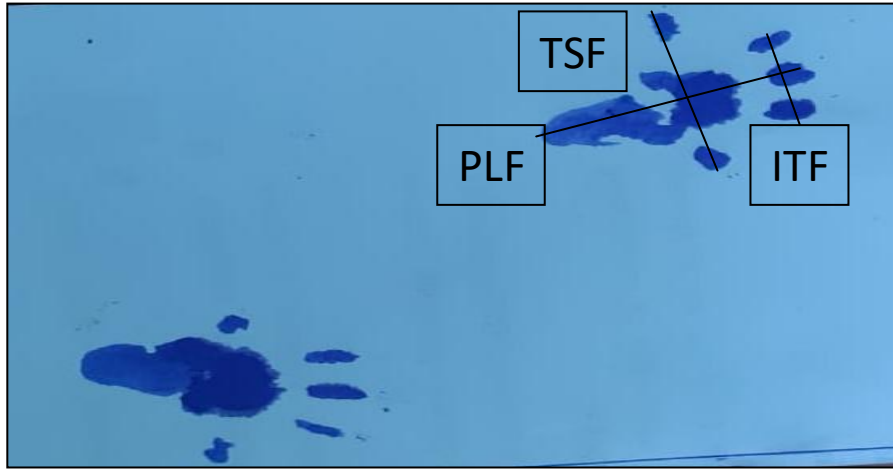
Kitin ve kitosanın enflamatuvar ağrı üzerindeki analjezik etkileri farelerde asetik aside bağlı yanma testi kullanılarak değerlendirilmiştir (Okamoto ve ark., 2002). Asetik asit çözeltisinde hazırlanan kitin ve kitosan çözeltilerinin intraperitoneal uygulamasının ardından, arka bacakların uzaması, karın sertliği ve karın burulması dahil olmak üzere ağrı nedeniyle anormal davranışların (kıvrılma) sayısında belirgin bir azalma gözlenmiştir. Bu etki, kitosan uygulanan hayvanlarda, kitin verilenlerden daha fazla olmuştur. Doğrudan analjezik etkisi için kullanılmamasına rağmen, bir jel matrisi olarak kitosanın, geleneksel morfin sülfat çözeltilerinden daha uzun süreli emilim, düşük maksimum serum konsantrasyonları ve daha uzun süreli serum morfin konsantrasyonları sağladığı gösterilmiştir (Tasker ve ark., 1997).

### **2.9. Aşıl Fonksiyonel Testi**

Aşıl fonksiyonel (AFI) testi ilk olarak 1992 yılında Murrel ve arkadaşları tarafından tanımlanmış ve aşıl tendon iyileşmesinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Aşıl fonksiyonel testi yöntemi; siyatik sinir fonksiyon bozuklukları için tanımlanmış olan fonksiyonel siyatik indeksin modifiye edilmiş şeklidir (Michna, 1986; Murrell ve ark., 1992). Bu testin noninvaziv, güvenilir, objektif, tekrar edilebilir, uygulanması kolay, ucuz, iyileşme zamanına sensitivitesi yüksek ve yüklenmeye karşı başarısızlığı gösteren özellikleri ile biyomekanik testlerle mükemmel derecede korele olduğu gösterilmiştir (Best ve ark., 1993). Aşıl tendon fonksiyonunu göstermede kullanılan PLF (Print length foot), TSF (Toe spreading factor) ve ITF (intermediary toe-spread factor)'nin güvenilir



ve sensitif olduğu araştırmacılar tarafından literatürde belirtilmiştir (şekil 2.3). PLF değeri sağlıklı ratlarda kısadır. Hasarlı aşıl tendonu olan ratlardaki PLF değeri ise tüm ayak tabanı ile yere basarak daha büyük ve uzun ayak izi bırakmaktadır (Murrell ve ark., 1992). Tam taban temasının olduğu ayağın dinlenmeye alınmasını, ITF ve TSF değerlerindeki azalmanın ise o ekstremitenin daha az yük alabildiğini belirtmektedir (Messner ve ark., 1999). ITF/TSF oranı yürümenin itme fazında etkilenmiş ekstremitenin kısıtlı hareketini ve vücut ağırlığını taşıyamayan hayvanı gösterir (Murrell ve ark., 1992).



**şekil 2.3:** Fonksiyonel rat yürüme testi ölçüm parametreleri

AFI (Aşıl fonksiyonel indeks) = 74 (PLF) + 161 (TSF) + 48 (ITF) – 5

PLF (Print length foot): Topuk ucu ile üçüncü parmak ucu arası en uzun ayak uzunluğu

TSF (Toe spreading factor): Birinci ve besinci parmaklar arası mesafe

ITF (İntermediary toe-spread factor): İkinci ve dördüncü parmaklar arası mesafe

### 3.GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Deney Grupları

Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra deneylere başlanmıştır (Protokol no: 2016.09.07 Karar no: 31.08.2016 Sayı: B.30.2.AKD.0.05.07.00/81). Çalışmamızda Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde bulunan ağırlıkları 250- 300 gr. arasında değişen normal aktiviteye sahip, 8 haftalık 156 adet *Rattus norvegicus* Wistar albino erkek rat kullanılmıştır. Deney hayvanları, çalışmaya başlamadan önce, bir hafta boyunca standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz - 12 saat gece olacak şekilde ışıklandırma, 20–22 derece oda ısısı, % 50–60 nem) tutularak ortama alışmaları sağlanmış, ihtiyaçları kadar su ve yem verilmiştir. Çalışmada ratlar rastgele 5 gruba ayrılmıştır (Tablo 3.1).

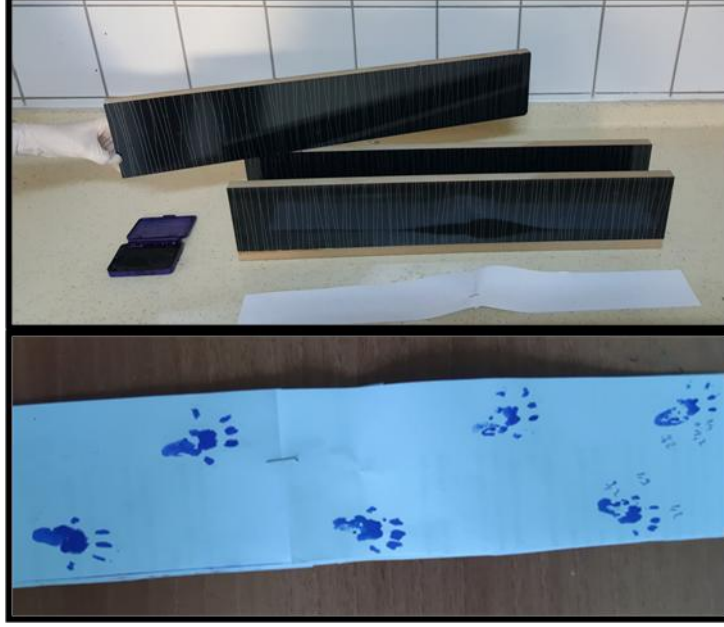
**Tablo 3.1.** Deney grupları ve gruplara ait denek sayıları

Deney Grupları	Sayı
Grup 1 - Kontrol	12
Grup 2 - Hasar	36
Grup 3 - Kitosan	36
Grup 4 - Ultrason	36
Grup 5 - Ultrason + Kitosan	36
<b>Toplam</b>	<b>156</b>

#### 3.2. Fonksiyonel Yürüme Testi

Ratlar 10 cm X 60 cm ebatlarında yürüme parkuru zemininde arka ayakları mürekkebe batırılarak zemine serilmiş beyaz kağıdın üzerinde yürütülmüşlerdir (Şekil 3.1). Yürüme esnasında meydana gelen ayak izleri bulunan kağıtlar rat tendon numaraları ile kodlanmıştır. Değerlendirmeye birbirini takip eden (sol ve sağ ayak), kağıt orta bölümünde bulunan ayak izleri alınmış ve ölçümler milimetrenin yüzde biri hassaslığına sahip kumpas cihazı ile yapılarak kaydedilmiştir. Sonuçlar Murrel ve ark. tarafından oluşturulan formülde yerine yerleştirilerek ve her ayak için tek bir değere (Aşıl

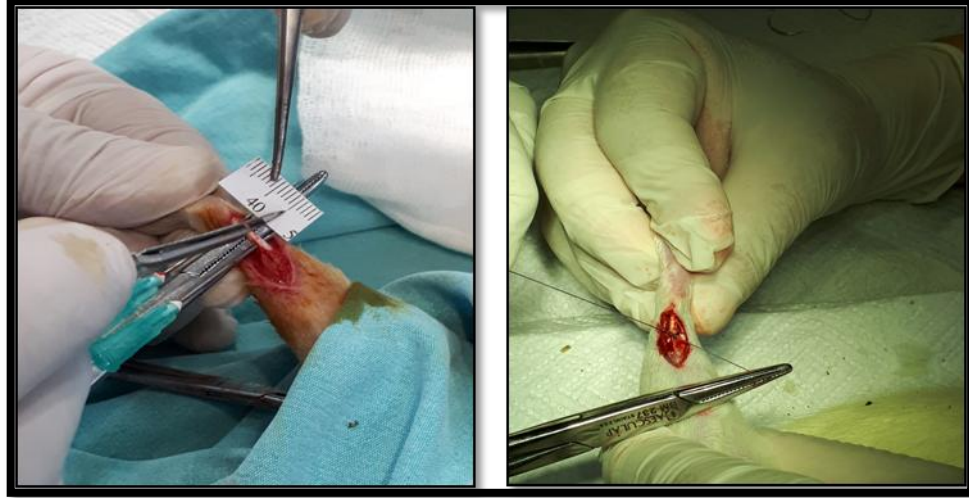
Fonksiyonel İndeks) ulaşılmıştır. Tedavinin başında tüm hayvanlara yapılan fonksiyonel rat yürüme testi tedavi sonunda da tekrarlanmıştır.



Şekil 3.1. Fonksiyonel yürüme testi

### 3.3. Cerrahi İşlemler

Tüm gruplara ait deney hayvanları, Ketamin (100 mg/kg) ve Xylazine HCl (5 mg/kg)'ün intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi edilmiştir. Sağ alt ekstremiteye ait aşil tendonu seyrine uyan bölgede, orta hatta kalacak şekilde, uzunlamasına 3 cm'lik kesi ile cilt ve ciltaltı geçilmiştir. Aşil tendonu ve plantaris tendonları çevre fasyadan sıyrılmıştır.. Tüm gruplarda, aşil tendonu yapışma yerinin 0.5 cm proksimalinden tam kat transvers kesi oluşturulmuştur. Plantaris tendonu kesilerek “internal splint” oluşturması engellenmiş ve kesi oluşturulan tendonlara, modifiye Kessler yöntemiyle primer tamir uygulanmıştır (Şekil 3.2.). Ciltaltı ve cilt 3-0 Ethilon monoflaman naylon dikiş materyaliyle devamlı dikiş tekniğiyle kapatılmıştır.



Şekil 3.2. Aşil tendon cerrahisi

### 3.4. Deneysel Grupları ve Uygulamalar

**Grup 1- Kontrol (K, n=12):** Kontrol grubunda yer alan hayvanlara hiçbir işlem uygulanmamıştır.

**Grup 2- Hasar (H, n=36):** Deneysel başladığı gün 36 deneysel hayvanının sağ aşil tendonları cerrahi olarak orta hattan kesilerek hasar oluşumu sağlanmıştır. Cerrahi kesi, Kessler yöntemi ile dikildikten sonra cilt kapatılmıştır.

**Grup 3- Kitosan (Ki, n=36):** Deneysel başladığı gün 36 deneysel hayvanının sağ aşil tendonları cerrahi olarak orta hattan kesilerek hasar oluşumu sağlanmıştır. Cerrahi kesi, Kessler yöntemi ile dikildikten sonra, dikilen tendonun üzerine >70% de-acetylated kitosan solüsyonu uygulanmış ve sonrasında ise cilt kapatılmıştır.

**Grup 4- Ultrason (U, n=36):** Deneysel başladığı gün 36 deneysel hayvanının sağ aşil tendonları orta hattan kesilerek hasar oluşumu sağlanmıştır. Kessler yöntemi ile dikildikten sonra, cilt kapatılmıştır. Operasyondan 1 gün sonra başlamak üzere deneklere, haftanın 5 günü 5 dakika süre ile 1 Mhz frekanslı 1 watt/cm<sup>2</sup> terapötik ultrason uygulanmıştır (Şekil 3.3.).

**Grup 5- Ultrason + Kitosan (U+Ki, n=36):** Deneysel başladığı gün 36 deneysel hayvanının sağ aşil tendonları orta hattan kesilerek hasar oluşumu sağlanmıştır. Kessler yöntemi ile dikildikten sonra, dikilen tendonun üzerine >70% de-acetylated kitosan

solüsyonu uygulanmış ve cilt kapatılmıştır. Operasyondan 1 gün sonra başlamak üzere deneklere, haftanın 5 günü 5 dakika süre ile 1 Mhz frekanslı 1 watt/cm<sup>2</sup> terapötik ultrason uygulanmıştır.



**Şekil 3.3.** Deneklere terapötik ultrason uygulaması

Oluşturulan hayvan gruplarının tedavi süresinde 2.,4. ve 6. haftada hayvanlar 12'şerli gruplar halinde sakrifiye edilecektir. 6. haftanın sonunda deneye son verilecektir. Her grupta bulunan 12 hayvanın 6'sı elektron mikroskobu çalışması için 6 'sı ise immünohistokimyasal/ ışık mikroskobu çalışmasında kullanılmıştır (Tablo 3.2).

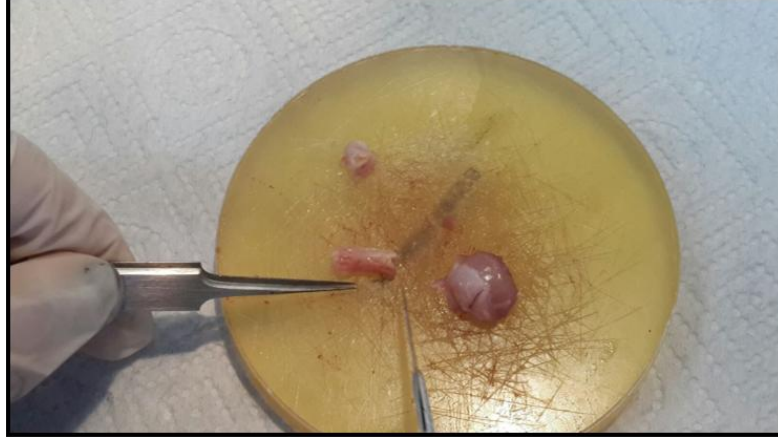
**Tablo 3.2.** 2.,4. ve 6. Haftalar sonunda çalışılacak gruplara ait denek sayıları

Gruplar	Elektron mikroskobu	IHC/ ışık mikroskobu
Grup 1: Kontrol (K, n=4)	n=2	n=2
Grup 2: Hasar (H, n=12)	n=6	n=6
Grup 3: Kitosan (Ki, n=12)	n=6	n=6
Grup 4: Ultrason (U, n=12)	n=6	n=6
Grup 5: Ultrason + Kitosan (U+Ki, n=12)	n=6	n=6

### 3.5. Aşil Tendon Eksizyonu ve Sakrifikasyon

Fonksiyonel yürüme testi uygulanması sonrası ratlara dietil eter ile anestezi uygulanacak sağ aşil tendonun insersiyosunun hizasından 2 cm proksimaline kadar cilt altına geçilerek ve paratenon açılarak tendon açığa çıkarılmıştır. Aşil tendonunun bütünüyle çıkarılacağından emin olmak için calcaneustan kesilen 3 mm. kemik parçası ile birlikte triceps surae kasından da bir miktar kas parçası ile birlikte tüm aşil tendonu eksize

edilmiştir. En son olarak ratlar yüksek doz anestetik madde verilerek sakrifiye edilmiştir.



Şekil 3.4. Aşil tendon eksizyonu

### **3.6. Histolojik Değerlendirme**

#### **3.6.1. Doku Takibi**

Deney gruplarına ait tendon dokuları elde edildi ve %10'luk formaline alınarak 24 saat boyunca fikse olması sağlandı. Daha sonra 6-7 saat musluk suyunda yıkandı ve dokular artan etanol serilerinde (%70, %80 ve %90) 24'er saat ve %100'lük etanolde 3 saat bekletilerek dehidrasyon gerçekleştirildi. Ksilol içerisinde sırayla 4, 4 ve 2 dakika bekletilerek şeffaflaştırılma işlemi yapıldı. 58°C'ye ayarlı etüvde dokular 3 defa 1'er saatlik parafin içerisinde bekletildikten sonra etüv dışında erimiş temiz parafine transverse yönde gömüldü ve bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere hematoksilin eozin ve masson trikrom boyamaları ile kollajen 3 ve tenascin C immünohistokimyası uygulandı.

#### **3.6.2. Hematoksilin Eozin Boyaması**

Deney gruplarına ait tendon dokularından alınan kesitler iki defa 10'ar dakika boyunca ksilol içerisinde bekletildi. Daha sonra sırasıyla %100, 90, 80 ve 70'lik etanol serilerinde 5 dakika boyunca bekletildi. Hematoksilin boyasında yaklaşık 2 dakika bekletildikten sonra akarsuda yıkandı ve eozin boyasında yaklaşık 30 saniye bekletildikten sonra sırasıyla %70, 80, 90'lık etanol serilerinden hızlıca geçirildi ve %100'lük etanolde 3 dakika tutuldu. Ksilolde 10 dakika bekletildikten sonra entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı. Zeiss Axioplan ışık mikroskopunda incelenerek fotoğraflandırıldı.

Kesitler kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Kromojenik reaksiyon Axioplan (Zeiss, Almanya) ışık mikroskopunda incelendi. Tüm örneklerde pozitif immünoreaktif hücrelerin immünoboyanma yoğunlukları semikantitatif olarak [-: negatif; (+): zayıf pozitif; ++: pozitif; +++: şiddetli pozitif; ++++: çok şiddetli pozitif, X: bölge yok] değerlendirilip fotoğrafları çekildi.

### **3.6.3. Masson Trikrom Boyaması**

Tendon dokularındaki kollajeni boyamak ve ışık mikroskopisi ile incelemek için masson trikrom boyaması kit (#5022, Gül Biyoloji Laboratuvarı) yardımıyla yapıldı.

#### **Kit Bileşenleri**

- A- Weigert demirli hematoksilin-A çözeltisi :1x30 ml
- B- Weigert demirli hematoksilin-B çözeltisi :1x30 ml
- C- Pikrik asit alkolik çözeltisi :1x50 ml
- D- Gelincik kızılı fuksin çözeltisi :1x50 ml
- E- Fosfomolibdik asit çözeltisi :1x50 ml
- F- Masson anilin mavisi çözeltisi :1x50 ml

#### **Boyama Metodunun Uygulanması:**

Tüm gruplardaki tendon doku kesitlerinin üzerine tamamen kaplayacak şekilde 1:1 oranında A- Weigert demirli hematoksilin ve B- Weigert demirli hematoksilin karışımı damlatıldı ve 10 dakika boyunca inkübe edildi. Sonra boya karışımı uzaklaştırıldı. Preparatlar oda sıcaklığında 45 dakika boyunca kurutuldu. Preparatlara yıkama yapılmadı ve 55 °C'ye ayarlanmış ısıtıcı tablada 5 dakika kurutuldu. Doku kesitlerine üzerine kaplayacak şekilde C- Pikrik asit alkolik çözeltisi damlatıldı ve 4 dakika boyunca inkübe edildi. Bu uygulamadan sonra distile suyla 3-4 saniye yıkandı. Daha sonra doku kesitleri D- Gelincik kızılı fuksin çözeltisi ile 4 dakika inkübe edildi ve distile suyla 3-4 saniye yıkandı. Sonrasında preparatlar E- Fosfomolibdik asit çözeltisi ile 10 dakika inkübe edildi ve ısıtıcı tablada 5 dakika kurutuldu. Son olarak doku kesitleri F- Masson anilin mavisi çözeltisi ile 5 dakika inkübe edildi ve distile suyla yıkandı. Doku kesitleri artan alkol serilerinden geçirildi ve ksilolde 10 dakika bekletildikten sonra entellan

kullanılarak lamel ile kapatıldı. Zeiss Axioplan ışık mikroskopunda incelenerek fotoğraflandırdı.

### 3.6.4. İmmünohistokimya

#### Kullanılan solüsyonlar ve kimyasallar

• 1X PBS (Phosphate Buffer Saline/Fosfat tamponlu tuz solüsyonu):

2 litre distile su içinde aşağıdaki kimyasallar çözüldü.

- 2,85 gr Disodyum Hidrojen Fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) (#567547; Merck)

- 0,8 gr Potasyum Hidrojen Fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (# M1048771000; Merck)

- 16 gr Sodyum Klorür ( $\text{NaCl}$ ) (#1.06400.1000; Merck)

pH=7,2 ile 7,4

• Borik Asit Tamponu:

100 ml distile su içerisinde 2,1 gr Borik asit ( $\text{H}_3\text{BC}_3$ ) (#1.00160.1000; Merck) çözüldü

pH=7,2

• %3'lük Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) Solüsyonu:

Şale içerisinde 63 ml metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (#1.06009.2500; Merck) ve 7 ml %30'luk  $\text{H}_2\text{O}_2$  (#18312; Sigma Aldrich) karıştırıldı.

• Bloklama Solüsyonu:

Ultra V Block (#TA-125-UB; Thermo Scientific/LabVision)

• Primer Antikorlar:

Tenascin C (fare monoklonal) (#sc25328, 1/200)

Kollajen 3 (tavşan poliklonal) (#ab7778, 1/750)

• Sekonder Antikorlar:

Biyotinli Anti-tavşan IgG (keçide üretilmiş) (#BA-1000; Vector Laboratories)

Biyotinli Anti-fare IgG (keçide üretilmiş) (#BA-9200; Vector Laboratories)

• Streptavidin Peroksidaz Kompleksi:

Thermo Scientific™ Lab Vision™ Streptavidin Peroxidase (# TS-125-HR)

• Kromojen:

(SIGMAFAST™ 3,3'-Diaminobenzidine #D4168-50SET)

• Mayer Hematoksileni:

Mayer Hematoksilen (#1.09249.0500; Merck)

• Entellan (#1.07961.0100; Merck)



İmmünohistokimya uygulamadan bir gece önce dokular 56 °C'lik etüvde bekletildi. Deparafinizasyon için kesitler 10 dakika boyunca iki farklı ksilol içerisinde tutuldu. Rehidratasyon için 5'er dakika %100, %90, %80, %70 şeklinde azalan etanol serilerinden geçirildi ve sonra 5 dakika distile suda bekletildi. Kesitlerdeki antijenik maskelenmenin giderilmesi amacıyla borik asit tamponuna (pH:7.2) konularak geceboyu 56 °C'lik etüvde inkübe edildi ve kesitler PBS'te 3 kere 5 dakika yıkandı. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini yok etmek için metanolle hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 15 dakika bekletildi. PBS ile 2 kez 5 dakika yıkandı. Yıkama aşamasındayken kesitlerin üzerindeki dokuların etrafı hidrofobik kalemle (Super PAP Pen, IM 3580; Beckman Coulter) çizildi. Dokular oda ısısında ve nemli ortamda spesifik olmayan Immunoglobulin (Ig) bağlanmalarını önlemek amacıyla bloklama serumu ile 7 dakika muamele edildi. Serumun fazlası uzaklaştırılarak dokulara 1:200 dilüsyonda Tenascin C ve 1:750 dilüsyonda Kollajen 3 primer antikoları damlatıldı ve gece boyu +4 °C'de inkübe edildi. İzotip (negatif) kontrol kesitlerine primer antikor yerine tenascin C için fare IgG, kollajen 3 için tavşan serumu primer antikoları ile aynı konsantrasyonda olacak şekilde uygulandı. Ertesi gün kesitlerden primer antikolar ve izotip kontroller uzaklaştırıldı ve PBS ile 2 kez 5 dakika yıkandı. Sonra Tenascin C ve izotip kontrolü için biyotinli Anti-fare IgG; Kollajen 3 ve ve izotip kontrolü için biyotinli Anti-tavşan IgG 1:400 dilüsyonda hazırlanarak oda ısısında nemli ortamda 45 dakika boyunca inkübe edildi. PBS ile 2 kez 5 dakika yıkandı ve 30 dakika oda ısısında nemli ortamda streptavidin peroksidaz kompleksi ile inkübe edildi. PBS ile 2 kez 5 dakika yıkandı. Kesitler 3,3'-Di Amino Benzidin (DAB) kromojeni ile inkübe edilerek reaksiyon bölgelerinin kahverengi olması beklendi ve kesitler distile suya alınarak reaksiyon durduruldu. Kesitlere Mayer's Hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. Dehidratasyon için artan etanol serilerinden geçirilerek %100 etanolde 3 dakika bekletildi ve 10 dakika boyunca 2 farklı ksilolde tutulduktan sonra entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı. Zeiss Axioplan ışık mikroskobunda incelenerek fotoğraflandırıldı.

### **3.6.5. Elektron Mikroskobik İncelemeler**

Elektron mikroskobik incelemeler için deney gruplarına ait tendon dokuları transverse ve longitudinal oryantasyonda olacak şekilde glutaraldehit fiksatifine alındı. Tendon dokuları 0.1 M Sörensen fosfat tamponunda hazırlanan %4'lük glutaraldehit içinde +4

°C'de 1 saat boyunca fikse edildi. 1 saat sonra daha küçük parçalara trimlendi ve 1 saat daha fiksatifte tutuldu. 0.1 M Sörensen fosfat tamponunda 3 defa 10 dakika boyunca bekletildi. Sonrasında %1'lik ozmiyum tetroksit (OsO<sub>4</sub>) fiksatifi ile 2 saat muamele edildi. 0.1 M Sörensen fosfat tamponu ile 3 defa 10 dakika oda ısısında yıkandı. +4°C'de bulunan %30, %50 ve %70'lik alkol serilerinden 3 kere 10 dakika geçirilerek dehidrate edildi. %75'lik etanol ile hazırlanmış %1'lik uranil-asetat solüsyonunda +4°C'de 1 saat tutuldu. Daha sonra sırasıyla %80, %90, %96 ve %100'lük etanol serilerinden geçirilerek dehidratasyon işlemi tamamlandı. Dehidratasyondan sonra, önce propilen oksitte 2 kere 10 dakika, ardından Araldit-Propilen Oksit karışımında (1:1) oda ısısında 1 gece bırakıldı. Ertesi gün 4 saat boyunca I. Araldit içerisinde rotatorda döndürülen dokular I. Araldit içine transeverse ve longitudinal olacak şekilde gömüldü. Gömmenin yapıldığı kapsüller rezinin polimerizasyonu için 60°C'de 48 saat bırakıldı. 48 saat sonunda elde edilen bloklardan ultramikrotomda kalın kesitler alındı. Kalın kesitler toluidin mavisi ile boyandı. Uygun bölge belirlendikten sonra ince kesit alındı ve ince kesitlere kontrastlama yapıldıktan sonra Zeiss Leo-906E transmisyon elektron mikroskopunda değerlendirildi ve fotoğraflandırıldı.

### **3.7. İstatistiksel Analiz**

Deneyle sonuçunda alınan verilerin istatistiksel analizi One Way ve Post-Hoc analizler yapılarak değerlendirilmiştir.  $p < 0.05$  altında bulunan değerler anlamlı olarak kabul edilmiştir. Alınan tüm değerler ortalama  $\pm$  standart hata (SEM) şeklinde belirtildi. Bu değerlendirmeler için SigmaStat 3.5-Systat Software programı kullanıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Fonksiyonel Yürüme Testi Sonuçları

Deneklere uygulanan cerrahi öncesinde ve sonrasında AFI sonuçları değerlendirilmiştir. Sağ ayaklarının kontrolü olarak sol ayakları değerlendirilmeye alınmamıştır. Deneğin cerrahi sonrasında diğer ekstremiteye daha fazla yüklenmesi ve tedavi sonrası zaman içinde ratların kilo alması nedeni ile ayaklarında meydana gelen olası büyüme göz önüne alındığından sol ayakları değerlendirilmeye alınmamıştır. AFI değerleri karşılaştırıldığında dejenerasyon oluşturulan sağ tarafa ait AFI değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı büyüme elde edilmiştir ( $p < 0,05$ ).

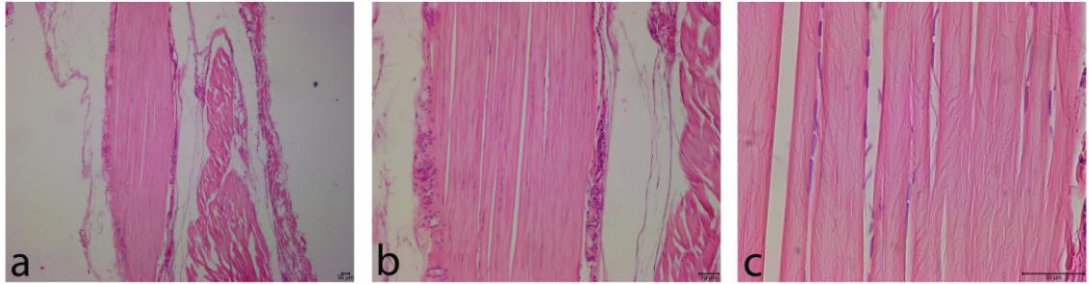
### 4. 2. İmmünohistokimyasal Değerlendirmeler

#### 4.2.1. Hematoksilen-Eozin Boyanması Bulguları

Kontrol, hasar, ultrason, kitosan ve ultrason ve kitosanın beraber uygulandığı gruplara ait kesitlerde hematoksilen-eozin boyanması yaptık ve ışık mikroskopu ile inceleyerek grupları karşılaştırdık.

#### Kontrol Grubuna Ait Hematoksilen ve Eozin Sonuçları

Kontrol grubuna ait kesitlerde kollajen lif demetleri düzenli ve sıkıca paketlenmişti. Kollajen lif demetleri arasında inaktif haldeki yassı nükleuslu fibrositler görülmekteydi (Şekil 4.1.a-c).



Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları.

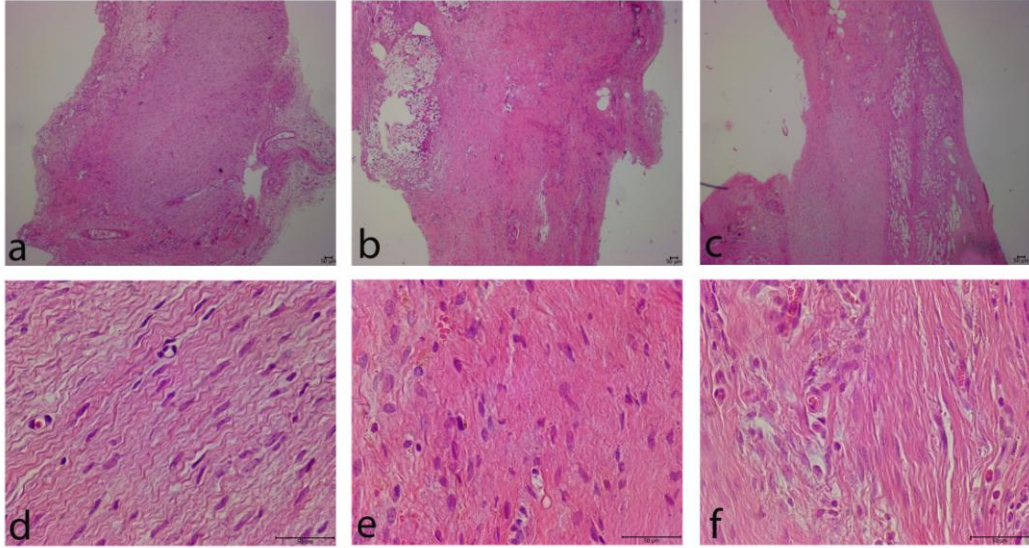
#### Hasar Grubuna Ait Hematoksilen ve Eozin Sonuçları

Hasar oluşturulduktan 2 hafta sonra kurban edilen ratlara ait kesitlerde kollajen lifler kontrol grubundaki gibi düzenli ve sıkıca paketlenmiş değildi. Lifler arasındaki boşluklar net bir şekilde gözlenmekteydi. Kontrol grubundaki yassı nükleuslu inaktif durumdaki

fibrositlerin yerine daha aktif şişkin nükleuslu fibroblastlar gözledik. Vaskülarizasyon artmıştı (Şekil 4.2a,d).

Hasar oluşturulduktan 4 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait kesitlerde kollajen lifler kontrol grubunda olduğu gibi düzenli değildi ancak 2 haftalık hasar grubundaki kadar düzensiz değildi. Bu grupta da 2 haftalık hasar grubunda olduğu gibi aktif şişkin nükleuslu fibroblastları gözledik ve vaskülarizasyon artmıştı (Şekil 4.2b,e).

Hasar oluşturulduktan 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait kesitlerde kollajen lifler kontrol grubunda olduğu gibi düzenli değildi ancak 2 ve 4 haftalık hasar gruplarına oranla daha düzenli ve demetler oluşturmuştu. Bu grupta da 2 ve 4 haftalık hasar gruplarında olduğu gibi aktif şişkin nükleuslu fibroblastları gözledik ve vaskülarizasyonun arttığını gösteren içi eritrosit dolu kan damarları gözledik (Şekil 4.2c,f).



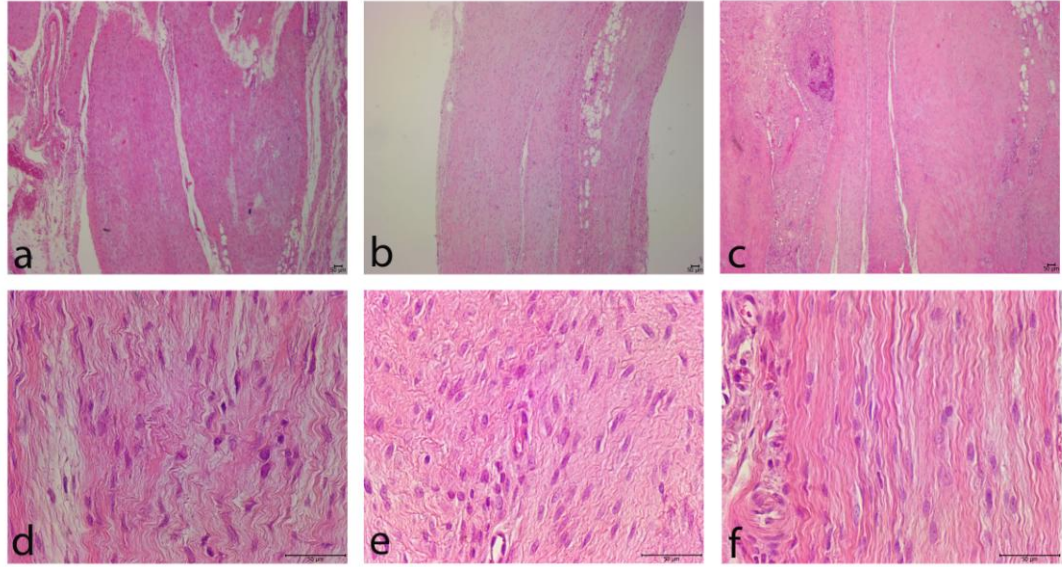
**Şekil 4.2.** Hasar oluşturulduktan 2,4 ve 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait Hematoksilin ve Eozin (H & E) boyama sonuçları.

### **Ultrason Grubuna Ait Hematoksilin ve Eozin Sonuçları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde aktif şişkin nükleuslu fibroblastlar gözledik. Kollajen lif sentezinde artış gözledik ancak lifler düzenli değildi ve lifler arasında boşluklar mevcuttu (Şekil 4.3a,d).

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde proliferatif aktif fibroblastlar gözlemlendi. Vasküler yapılarda artış söz konusuydu. Kollajen lif miktarı 2 hafta boyunca ultrason uygulanan gruptakine oranla artmış ve lifler arasındaki boşluk azalmıştı (Şekil 4.3b,e).

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde sayıları artmış aktif fibroblastları gözlemlemeye devam ettik. Kollajen lifler 2 ve 4 hafta boyunca ultrason uygulanan gruptakilere oranla daha fazla ve lifler arası boşluklar daha az ve lifler daha düzenli yerleşmişti (Şekil 4.3c,f).



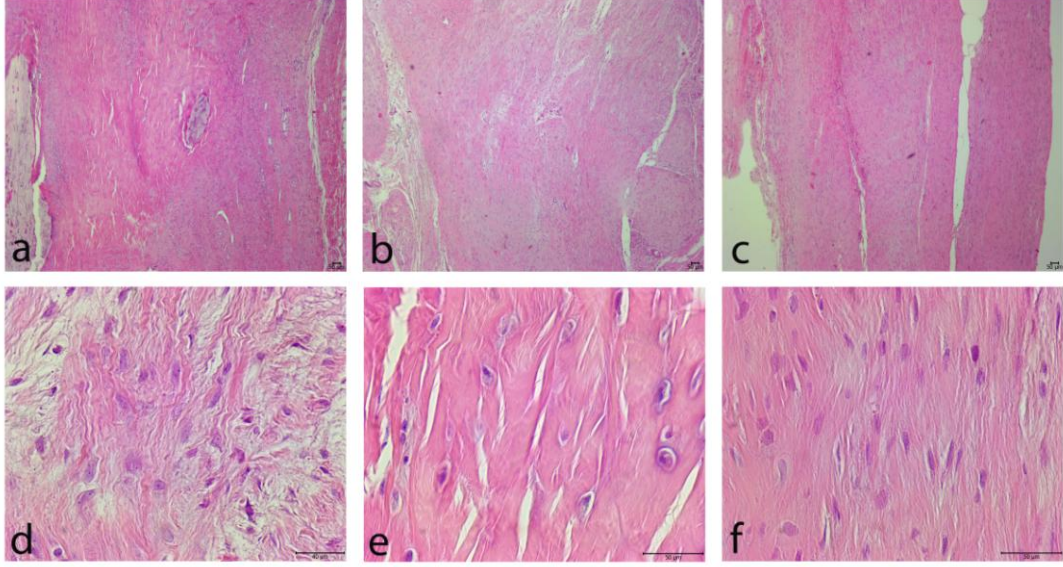
**Şekil 4.3.** Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları.

### **Kitosan Grubuna Ait Hematoksilen ve Eozin Sonuçları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde sayısı artan fibroblastları gözlemledik. Kollajen lifler düzensizdi ve lifler arasında bol miktarda boşluk bulunmaktaydı (Şekil 4.4a,d).

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde bol miktarda aktif fibroblast gözlemledik. Vaskülarizasyon artmıştı. Bu grupta ayrıca kollajen lifler arasında kondrosit benzeri hücreler gözlemledik. Kollajen lifler hasar grubundakilere oranla daha düzenliydi ancak lifler arasında boşluklar mevcuttu (Şekil 4.4b,e).

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde sayıca bol aktif fibroblastları gözlemlemeye devam ettik. Kollajen lifler 2 ve 4 hafta boyunca kitosan uygulanan gruplardaki liflere oranla daha düzenliydi (Şekil 4.4c,f).



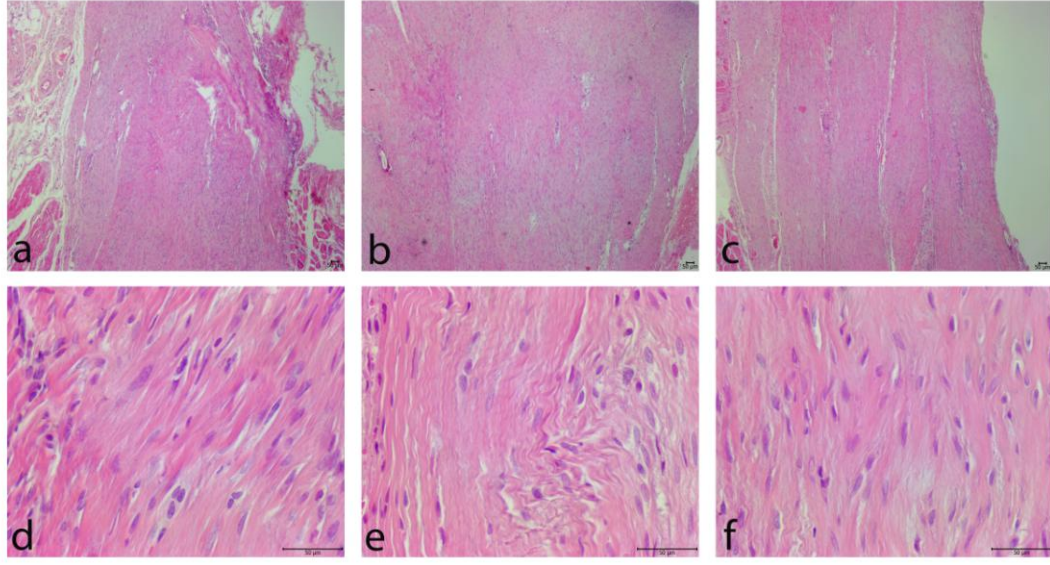
**Şekil 4.4.** Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait Hematoksilin ve Eozin (H & E) boyama sonuçları.

#### **Ultrason+Kitosan Grubuna Ait Hematoksilin ve Eozin Sonuçları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde prolifer olmuş aktif fibroblastlar bulunmaktaydı. 2,4 ve 6 haftalık hasar gruplarına kıyasla düzenli yerleşim gösteren kollajen lifler gözlemledik (Şekil 4.5a,d).

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde sayıca artmış aktif fibroblastları gözlemlemeye devam ettik. Kollajen lifler 2 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan gruptakilere oranla daha düzenli yerleşim göstermekteydi (Şekil 4.5b,e).

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde çok sayıda aktif fibroblastlar bulunmaktaydı. Kollajen lifler 2 ve 4 hafta boyunca ultrason + kitosan uygulanan gruptakilere oranla daha düzenli yerleşim göstermekteydi (Şekil 4.5c,f).



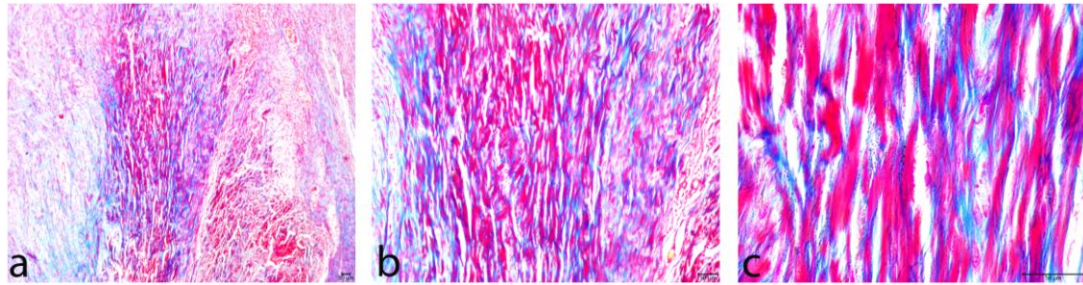
**Şekil 4.5.** Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason + kitosan uygulanan ratlara ait Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları.

#### **4.2.2. Masson Trikrom Boyanması Bulguları**

Kontrol, hasar, ultrason, kitosan ve ultrason ve kitosanın beraber uygulandığı gruplara ait kesitlerde masson trikrom boyanması yaptık ve ışık mikroskopu ile inceleyerek grupları karşılaştırdık.

#### **Kontrol Grubu Masson Trikrom Sonuçları**

Kontrol grubuna ait kesitlerde düzenli yerleşimli maviye boyanmış kollajen lifleri gözlemledik (Şekil 4.6a-c).



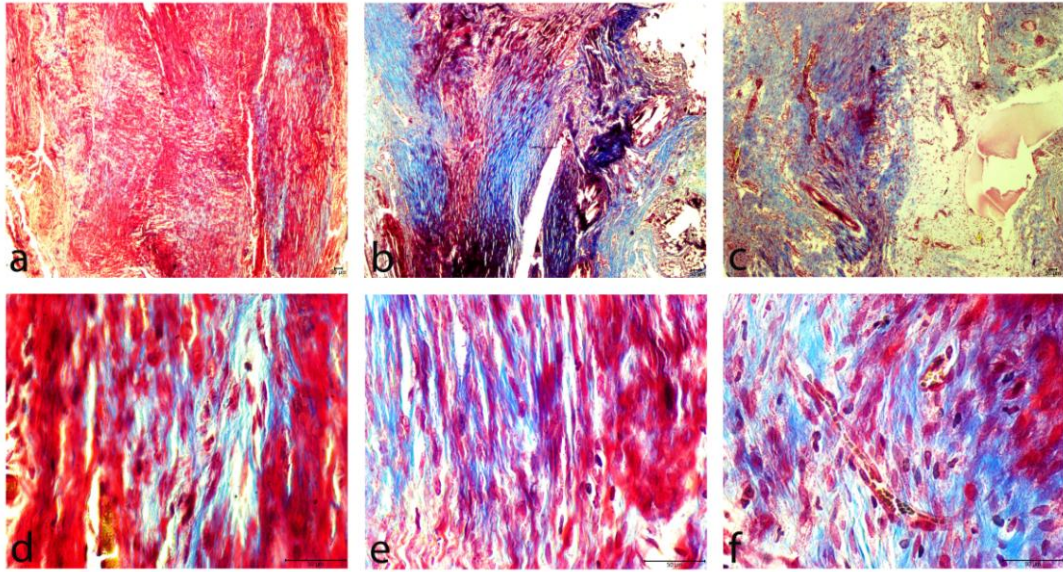
**Şekil 4.6.** Kontrol grubuna ait masson trikrom boyama sonuçları.

### Hasar Grubu Masson Trikrom Sonuçları

Hasar oluşturulduktan 2 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait kesitlerde kollajen lifler kontrol grubundaki gibi düzenli ve sıkı paketlenmiş değildi. Kollajen lif sentezi artmıştı. Vaskülarizasyon artışı kırmızı ile boyanmış kan damarları ile net bir şekilde gözlemlendi (Şekil 4.7a,d).

Hasar oluşturulduktan 4 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait kesitlerde kollajen lifler kontrol grubundaki gibi düzenli ve sıkı paketlenmiş değildi. Kollajen lif sentezi kontrol grubuna göre artmıştı ancak hasar 2 hafta grubundaki kadar fazla değildi. Aktif fibroblastları şişkin nükleusları ile gözlemledik (Şekil 4.7b,e).

Hasar oluşturulduktan 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait kesitlerde kollajen lifler kontrol grubunda olduğu gibi düzenli değildi ancak 2 ve 4 haftalık hasar gruplarına oranla daha düzenli ve demetler oluşturmuştu. Kollajen lifler hasar 4 hafta grubuna oranla daha az miktardaydı (Şekil 4.7c,f).



**Şekil 4.7.** Hasar oluşturulduktan 2,4 ve 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait masson trikrom boyama sonuçları.

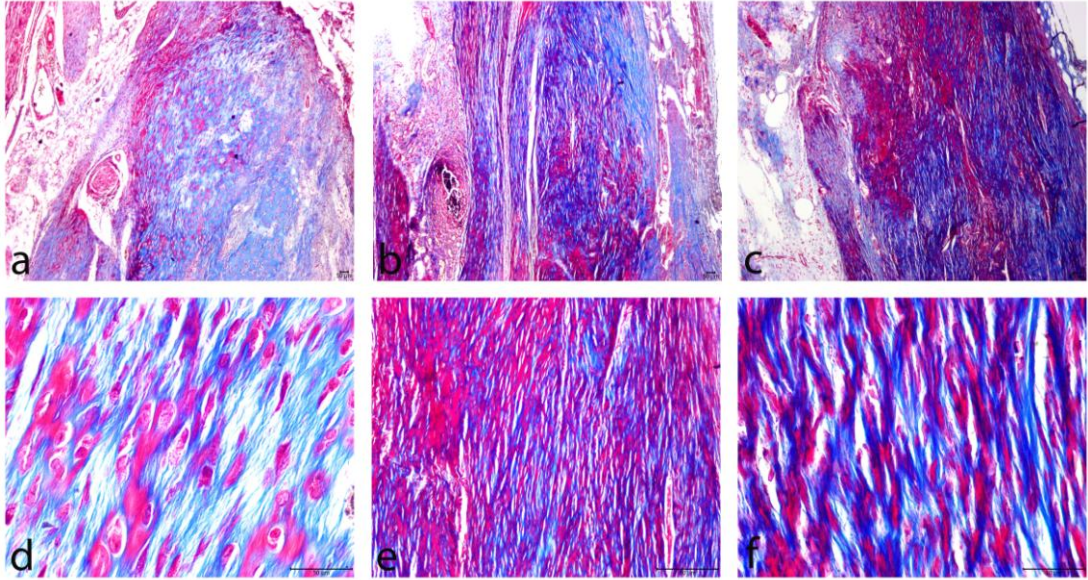


### Ultrason Grubu Masson Trikrom Sonuçları

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde aktif şişkin nükleuslu fibroblastlar gözledik. Vaskülarizasyonda artış gördük. Kollajen lif sentezindeki artışı bu haftadan itibaren gözledik (Şekil 4.8a,d).

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde vasküler yapılarda artış söz konusuydu. Kollajen lif miktarı 2 hafta boyunca ultrason uygulanan gruptakine oranla artmış ve lifler arasındaki boşluk azalmıştı (Şekil 4.8b,e).

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde vasküler yapılarda artış söz konusuydu. Kollajen lif miktarı 2 ve 4 hafta boyunca ultrason uygulanan gruptakilere oranla artmış ve lifler daha düzenli demetler oluşturmuştu (Şekil 4.8c,f).



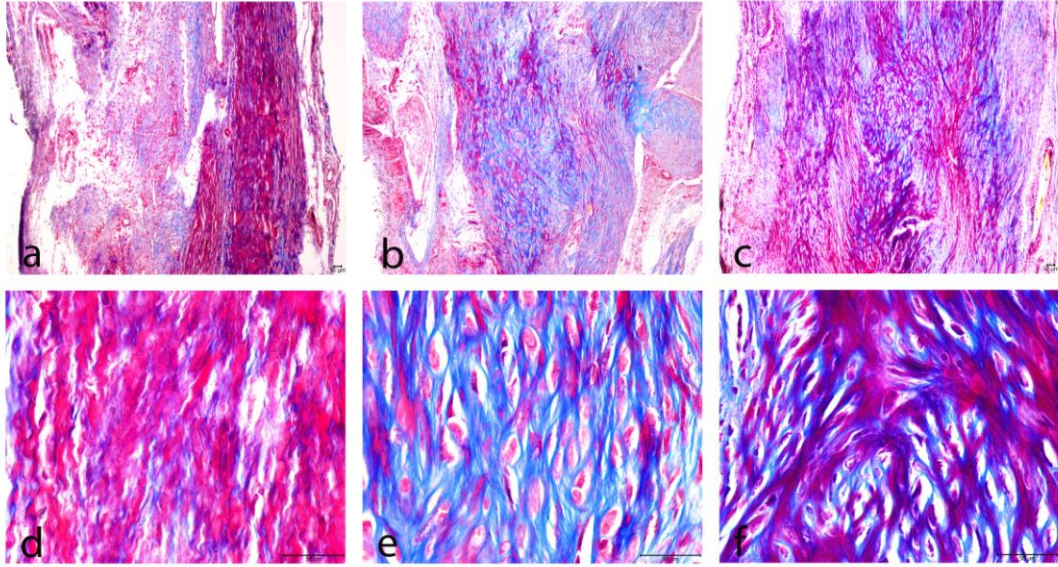
Şekil 4.8. Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait masson trikrom boyama sonuçları.

### Kitosan Grubu Masson Trikrom Sonuçları

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde düzensiz kollajen lifleri ve lifler arasındaki bol miktardaki boşlukları gözlemledik. Liflerin arasında ve çevresinde çok sayıda kan damarı bulunaktaydı (Şekil 4.9a,d).

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde bol miktarda aktif fibroblast gözlemledik. Vaskülarizasyon artmıştı. Kollajen lifler hasar grubundakilere oranla daha düzenliydi, kollajen lif sentezi 2 hafta boyunca kitosan uygulanan gruba oranla artmıştı (Şekil 4.9b,e).

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde sayıca bol aktif fibroblastları gözlemledik. Kollajen lif sentezi 2 ve 4 hafta boyunca kitosan uygulanan gruplardakine oranla artış göstermişti ve kollajen lifler daha düzenliydi (Şekil 4.9c,f).



Şekil 4.9. Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait masson trikrom boyama sonuçları.

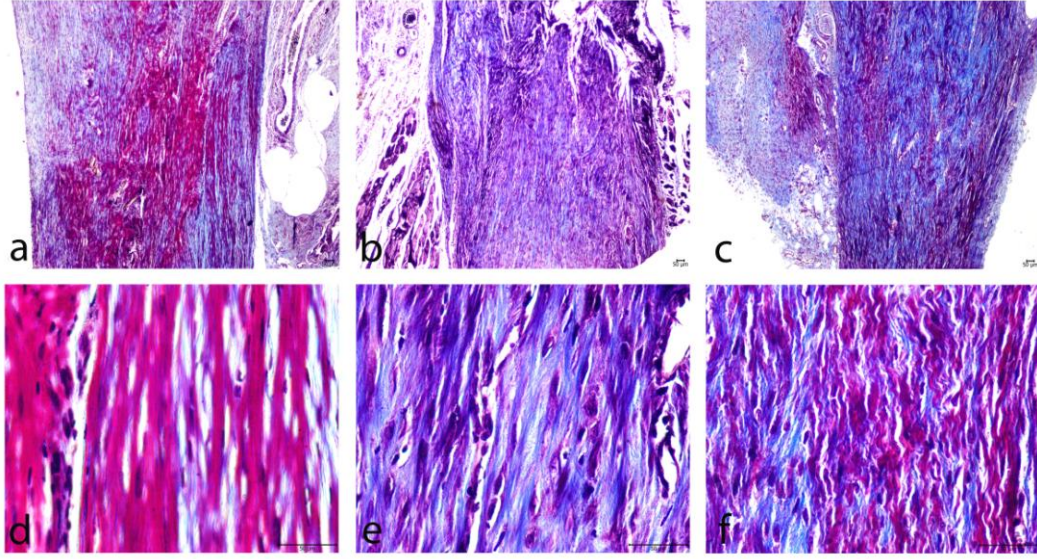
### **Ultrason+Kitosan Grubu Masson Trikrom Sonuçları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde prolifer olmuş aktif fibroblastlar ve vasküler yapıları gözlemledik. 2,4 ve 6 haftalık hasar gruplarına kıyasla kollajen lifler daha düzenli yerleşim göstermekteydi (Şekil 4.10a,d).

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde sayıca artmış aktif fibroblastları gözlemlemeye devam ettik.

Kollajen lif miktarı 2 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan gruptakilere oranla artış göstermişti ve daha düzenli yerleşim göstermekteydi (Şekil 4.10b,e).

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde çok sayıda aktif fibroblastlar bulunmaktaydı. Kollajen lifler 2 ve 4 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan gruptakilere oranla daha düzenli yerleşim göstermekteydi (Şekil 4.10c,f).



Şekil 4.10. Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason + kitosan uygulanan ratlara ait Hematoksilen ve Eozin (H & E) boyama sonuçları.

#### 4.2.3. Tip 3 Kollajen İmmünohistokimyası Bulguları

Kontrol, hasar, ultrason, kitosan ve ultrason ve kitosanın beraber uygulandığı gruplara ait kesitlerde tip 3 kollajenimmünohistokimyası yaptık ve ışık mikroskopu ile inceleyerek grupları karşılaştırdık.

##### Kontrol Grubu Kollajen 3 Bulguları

Kontrol grubuna ait kesitlerde kollajen 3 immünoaktivitesi diğer deney gruplarına kıyasla minimal düzeydeydi. Tip 3 kollajen immünoaktivitesi epitenon ve paratenon kılıflarda gözlendi. Paratenon kılıfta yer alan adipositleri çevreleyen retiküler liflerde kollajen 3 immünoaktivitesi net bir şekilde gözlendi (Şekil 4.11a-c). Kollajen 3 antikoru yerine tavşan serumunun damlatılmadığı ve reaksiyon gözlenmeyen izotip kontrol kesitleri deneyin doğru yapıldığını gösterdi (Şekil 4.16a-c).



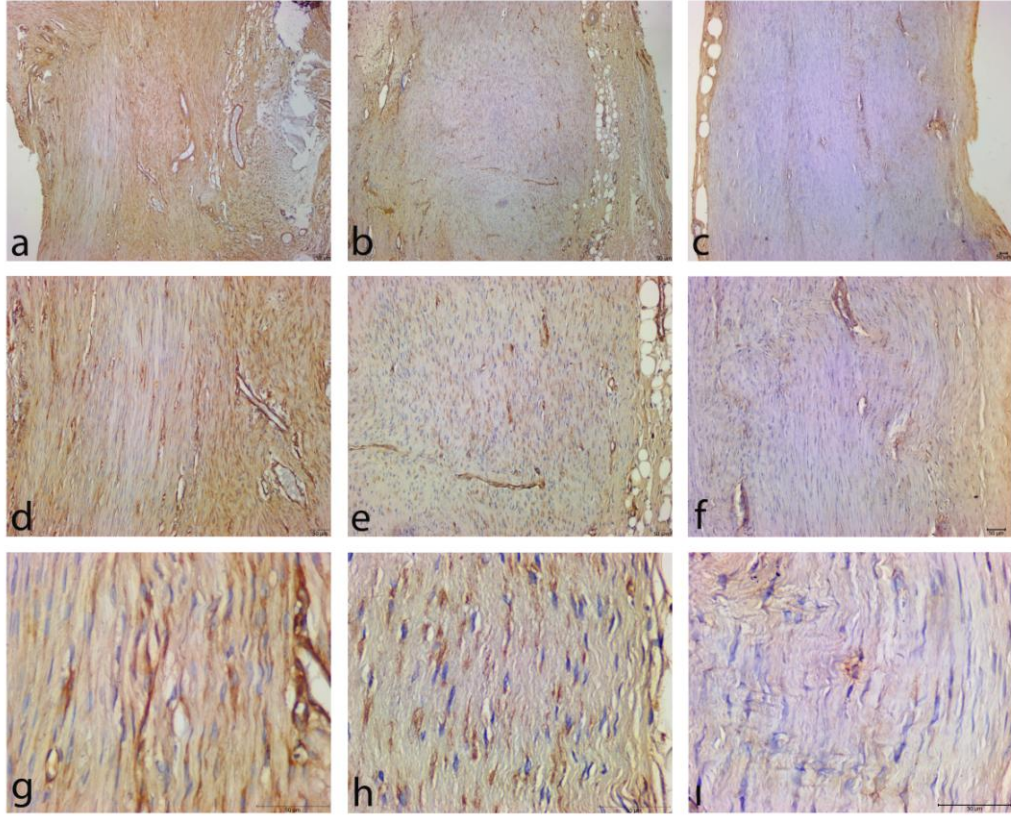
**Şekil 4.11.** Kontrol grubuna ait tip 3 kollajen immünohistokimya boyama sonuçları.

### **Hasar Grubu Kollajen 3 Bulguları**

Hasar oluşturulup 2 hafta sonra sakrifiye edilen grupta kollajen 3 ekspresyonu kontrol grubuna göre yoğun bir şekilde artış göstermişti. Ekspresyon tip1 kollajen yapısındaki liflerin arasında ve damarların etrafında gözlemlendi (Şekil 4.12a-d-g). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16d).

Hasar oluşturulup 4 hafta sonra sakrifiye edilen grupta kollajen 3 ekspresyonu kontrol grubundakinden fazlaydı ancak hasar oluşturulduktan 2 hafta sonra sakrifiye edilen gruba kıyasla kollajen 3 ekspresyonu azdı. Ekspresyon tip1 kollajen yapısındaki liflerin arasında ve damarların etrafında gözlenmeye devam etti (Şekil 4.12b-e-h). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16e).

Hasar oluşturulup 6 hafta sonra sakrifiye edilen grupta kollajen 3 ekspresyonu kontrol grubundakine benzemektedir. Tip1 kollajen yapısındaki liflerin arasında kollajen 3 ekspresyonu çok azdı, ekspresyon paratenon kılıf ve damar çevresinde gözlemlendi (Şekil 4.12c-f-i). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16f).



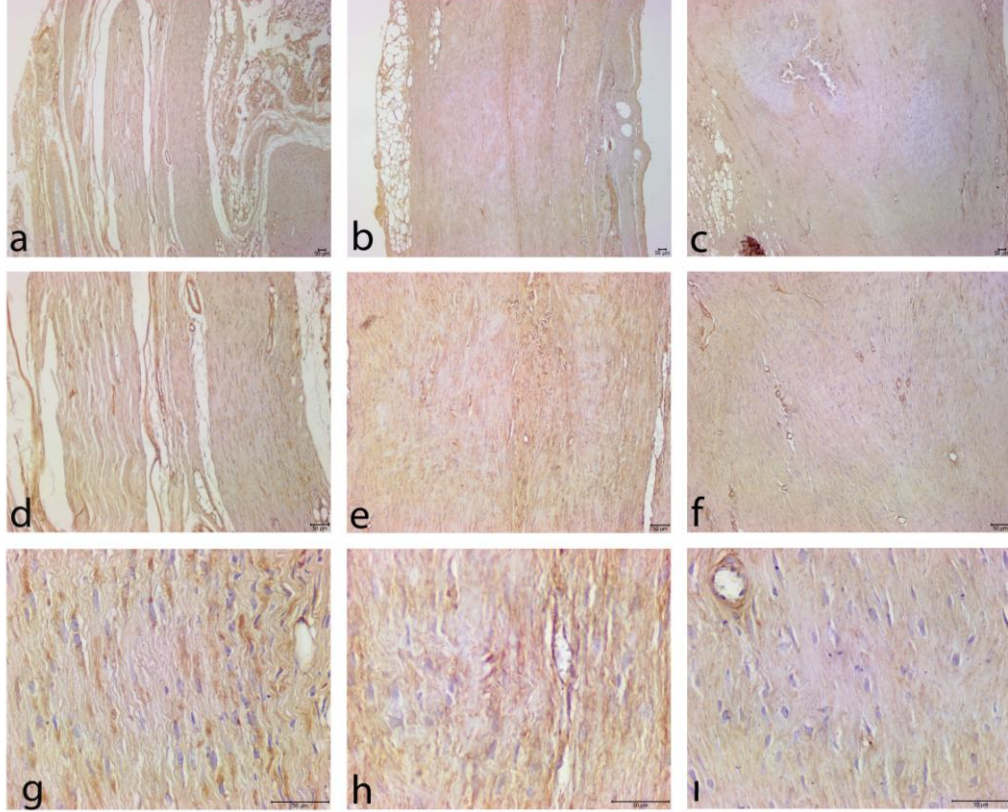
**Şekil 4.12.** Hasar oluşturulduktan 2,4 ve 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait tip 3 kollajen immünohistokimya boyama sonuçları.

### **Ultrason Grubu Kollajen 3 Bulguları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde kollajen 3 ekspresyonu kontrol grubuna oranla daha fazla ama hasar oluşturulduktan 2 ve 4 hafta sonra sakrifiye edilen ratların kesitlerine oranla daha azdı. Ekspresyon tip1 kollajen liflerin arasında ve damarların etrafındaydı (Şekil 4.13a-d-g). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16g).

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde kollajen 3 ekspresyonu hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlardakine benzemekteydi (Şekil 4.13b-e-h). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16h).

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde kollajen 3 ekspresyonu 2 ve 4 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara oranla oldukça azalmıştı (Şekil 4.13c-f-i). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16i).



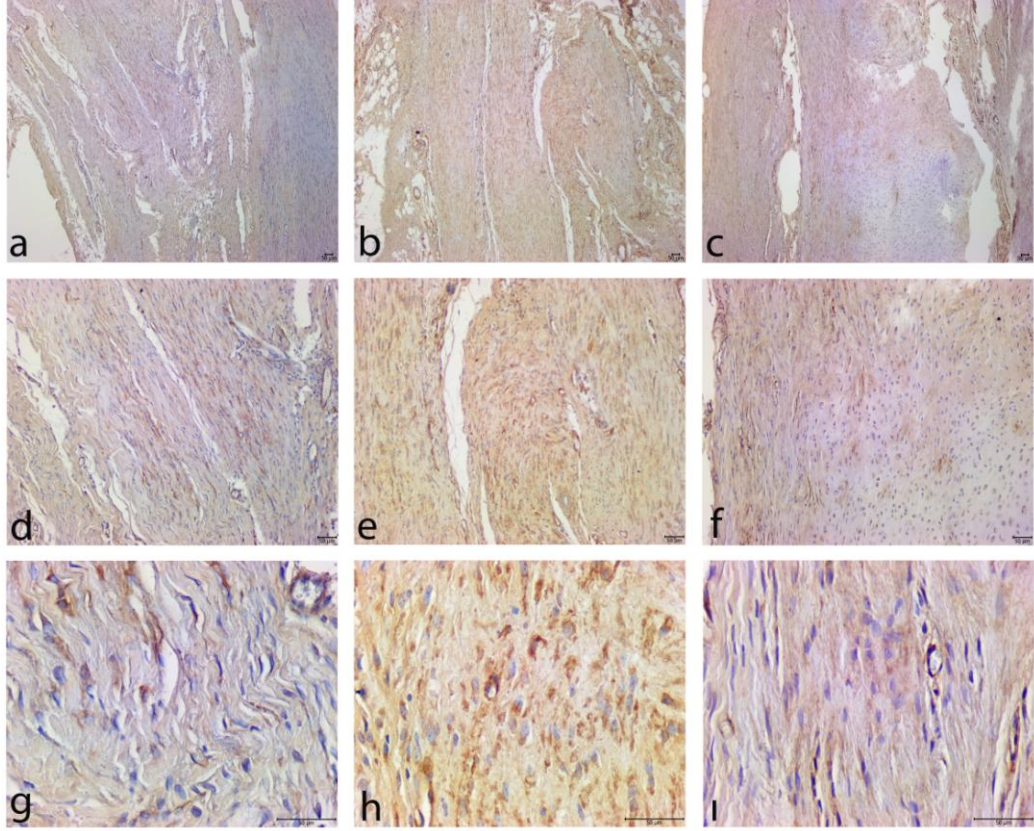
Şekil 4.13. Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait tip 3 kollajen immünohistokimya boyama sonuçları.

### **Kitosan Grubu Kollajen 3 Bulguları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde kollajen 3 ekspresyonu kontrol grubuna oranla artış göstermişti. Hem tip1 kollajen liflerin arasında hem de damarların etrafında ekspresyon gözlendi (Şekil 4.14a-d-g). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16i).

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde kollajen 3 ekspresyonu 2 hafta boyunca kitosan uygulanan gruba oranla azalmıştı ancak kontrol grubuna oranla ekspresyon daha fazlaydı (Şekil 4.14b-e-h). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16j).

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde kollajen 3 ekspresyonu 4 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlardakine benzemektedir ve kontrol grubuna oranla fazlaydı (Şekil 4.14c-f-ı). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16k).



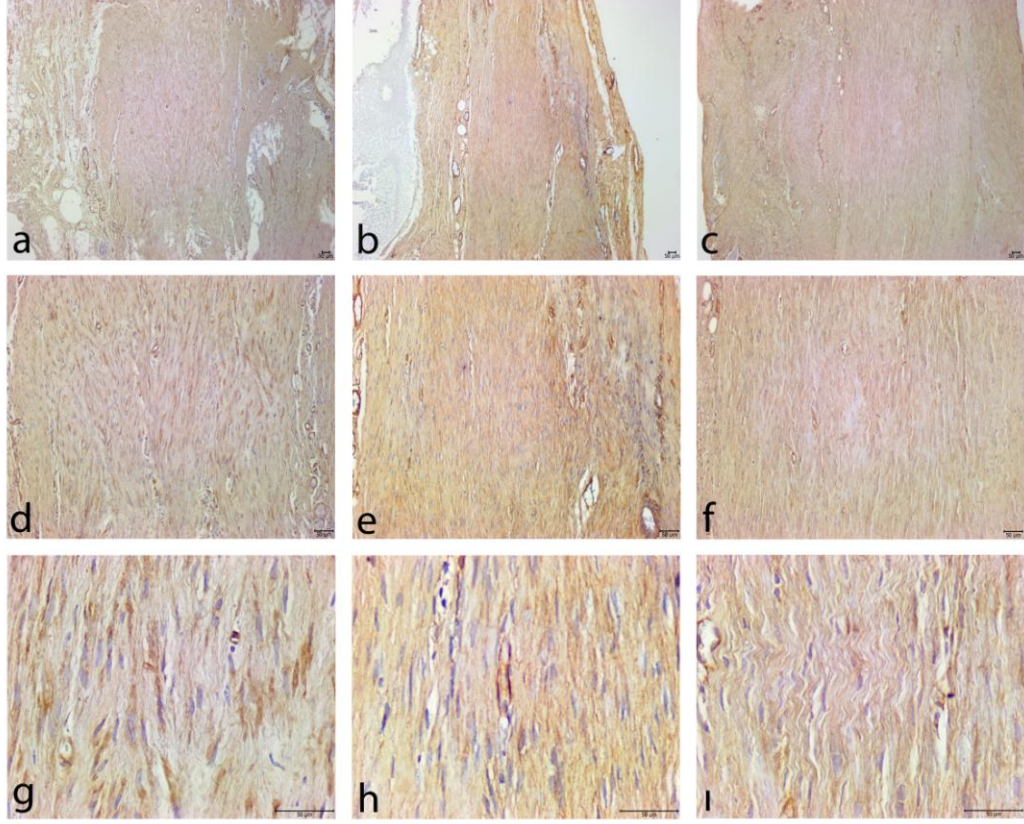
**Şekil 4.14.** Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait tip 3 kollajen immünohistokimya boyama sonuçları.

### **Ultrason+Kitosan Grubu Kollajen 3 Bulguları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde kollajen 3 ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla daha fazlaydı (Şekil 4.15a-d-g). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16l).

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde kollajen 3 ekspresyonu oldukça azalmıştı ve kontrol grubundakine benzemektedir (Şekil 4.15b-e-h). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.16m).

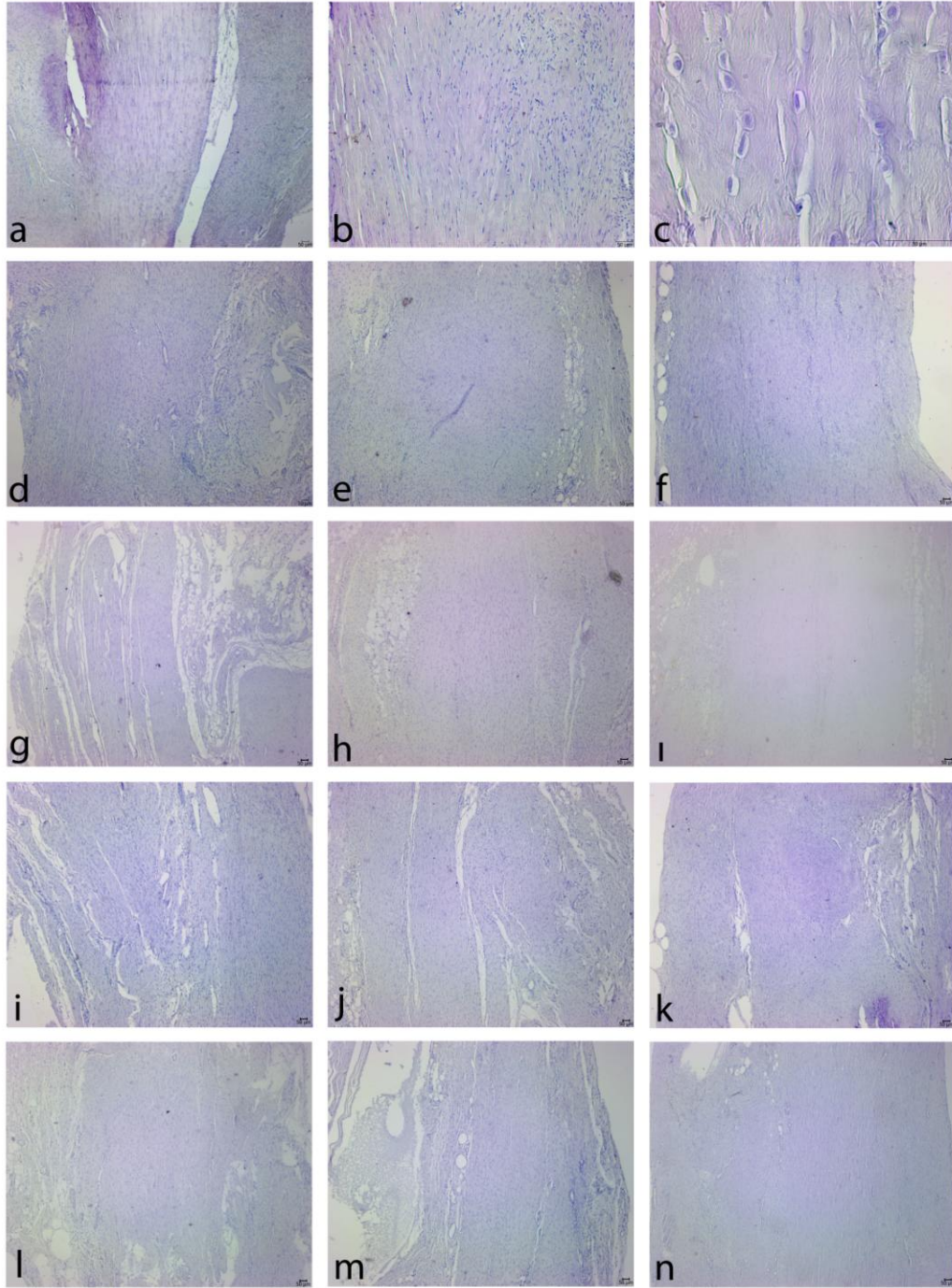
Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde kollajen 3 ekspresyonu 4 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlardakine benzemektedir. Diğer bir ifadeyle kollajen 3 ekspresyonu oldukça azalmış ve kontrol grubundaki gibiydi (şekil 4.15c-f-ı). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (şekil 4.16n).



**şekil 4.15.** Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason + kitosan uygulanan ratlara ait kollajen 3 immünohistokimya boyama sonuçları.



Tüm gruplara ait İzotip kontrol kesiti şekil 4.16’te gösterilmektedir



Şekil 4.16. Tüm gruplara ait İzotip kontrol kesit sonuçları.

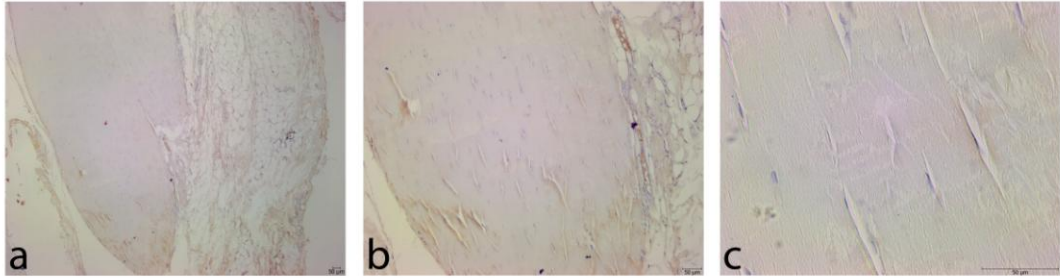
Kollajen 3 ekspresyonu açısından değerlendirdiğimizde 6 hafta boyunca ultrason ve kitosanın beraber uygulandığı grupların en iyi sonucu verdiği yorumunu yapabiliriz.

#### 4.2.4. Tenascin C İmmünohistokimyası Bulguları

Kontrol, hasar, ultrason, kitosan ve ultrason ve kitosanın beraber uygulandığı gruplara ait kesitlerde tenascin C immünohistokimyası yaptık ve ışık mikroskopu ile inceleyerek grupları karşılaştırdık.

##### Kontrol Grubu Bulguları

Kontrol grubuna ait kesitlerde tenascin C immünoaktivitesi yok denecek kadar azdı (Şekil 4.17a-c). İzotip kontrol kesitlerinde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.22a-c).



Şekil 4.17. Kontrol grubuna ait tenascin C immünohistokimya boyama sonuçları.

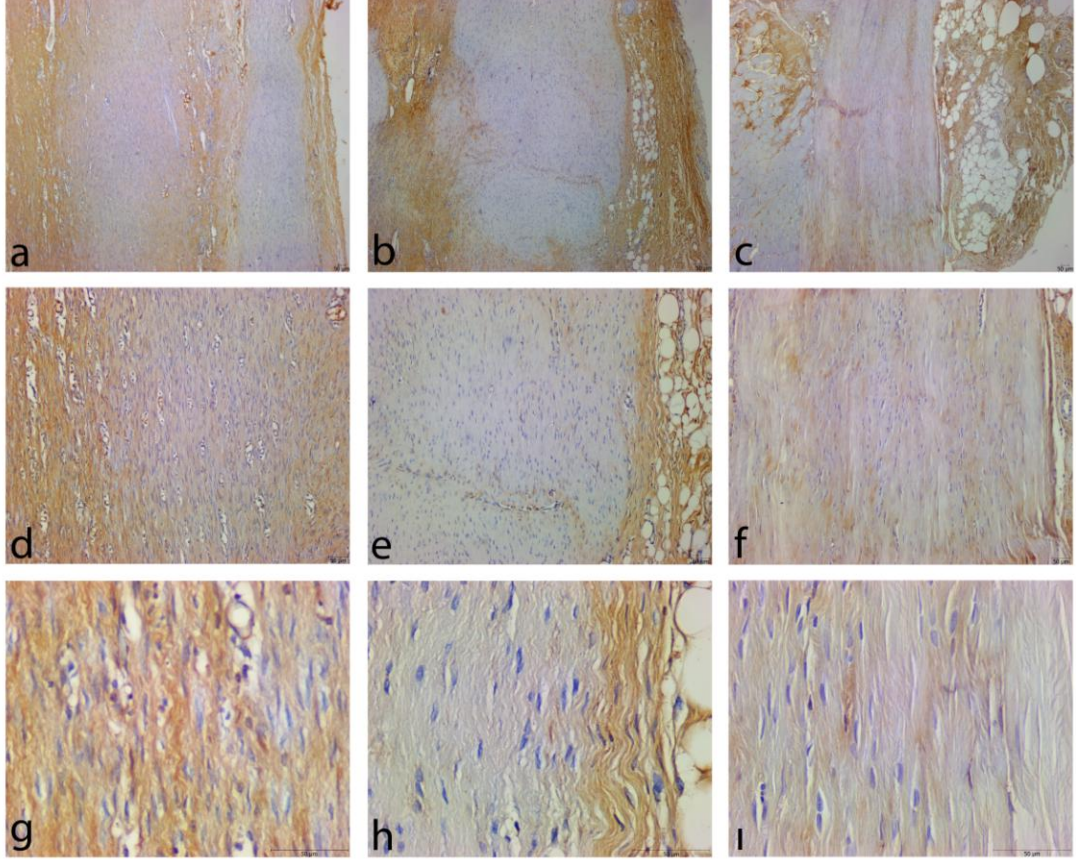
##### Hasar Grubu Bulguları

Hasar oluşturulup 2 hafta sonra sakrifiye edilen grupta tenascin C ekspresyonu kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde artış göstermişti. Ekspresyon tip1 kollajen yapısındaki liflerin arasında, damarların etrafında ve tendonu çevreleyen kılıflarda gözlendi (Şekil 4.18a-d-g). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22d'de görülmektedir.

Hasar oluşturulup 4 hafta sonra sakrifiye edilen grupta tenascin C ekspresyonu kontrol grubundakinden fazlaydı. Hasar oluşturulduktan 2 hafta sonra sakrifiye edilen gruba kıyasla tenascin C ekspresyonu özellikle tendonu saran kılıflarda çok artış göstermişti (Şekil 4.18b-e-h). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22e'de görülmektedir.

Hasar oluşturulup 6 hafta sonra sakrifiye edilen gruptaki tenascin C ekspresyonu hasar oluşturulduktan 2 ve 4 hafta sonra sakrifiye edilen gruplara kıyasla daha azdı ancak hala

ekspresyon gözlenmekteydi (Şekil 4.18c-f-ı). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22f'de görülmektedir.



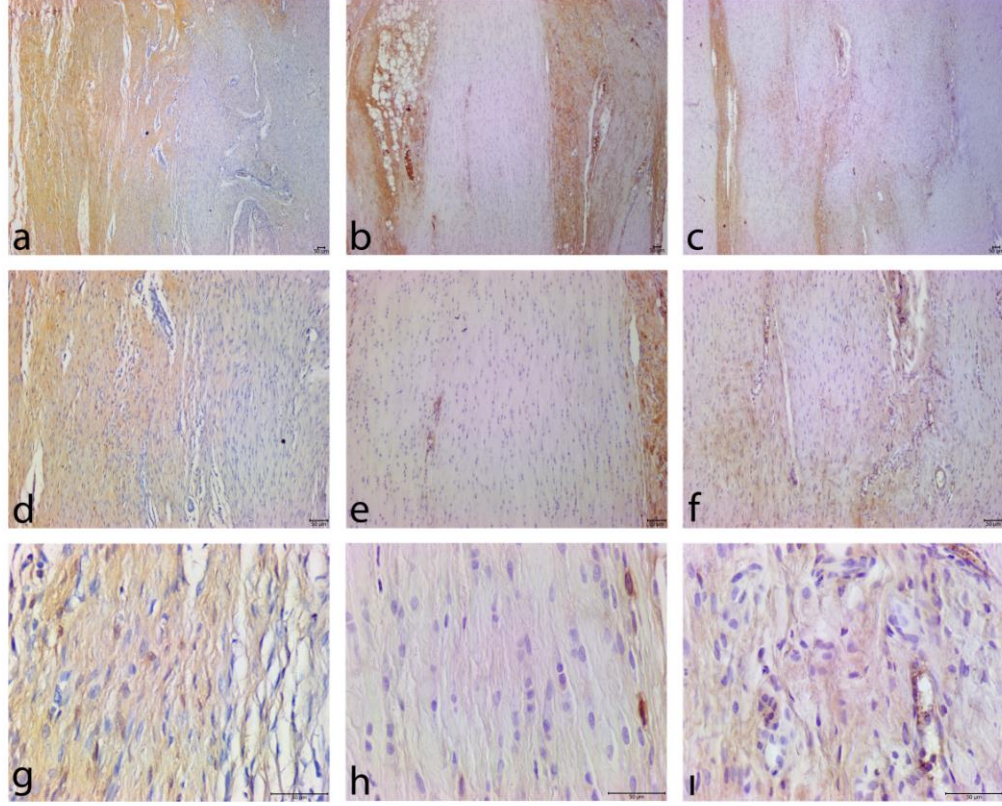
**Şekil 4.18.** Hasar oluşturulduktan 2,4 ve 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait tenascin C immünohistokimya boyama sonuçları.

### **Ultrason Grubu Bulguları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde tenascin C ekspresyonu kontrol grubuna oranla daha fazlaydı. Hasar oluşturulduktan 2 ve 4 hafta sonra sakrifiye edilen ratların kesitlerine oranla tenascin C ekspresyonu daha azdı (Şekil 4.19a-d-g). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22g'de görülmektedir.

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde tenascin C ekspresyonu hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlardakine benzemekteydi (Şekil 4.19b-e-h). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22h'de görülmektedir.

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait kesitlerde tenascin C ekspresyonu 2 ve 4 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara oranla azalmıştı (Şekil 4.19c-f-ı). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22ı'da görülmektedir.



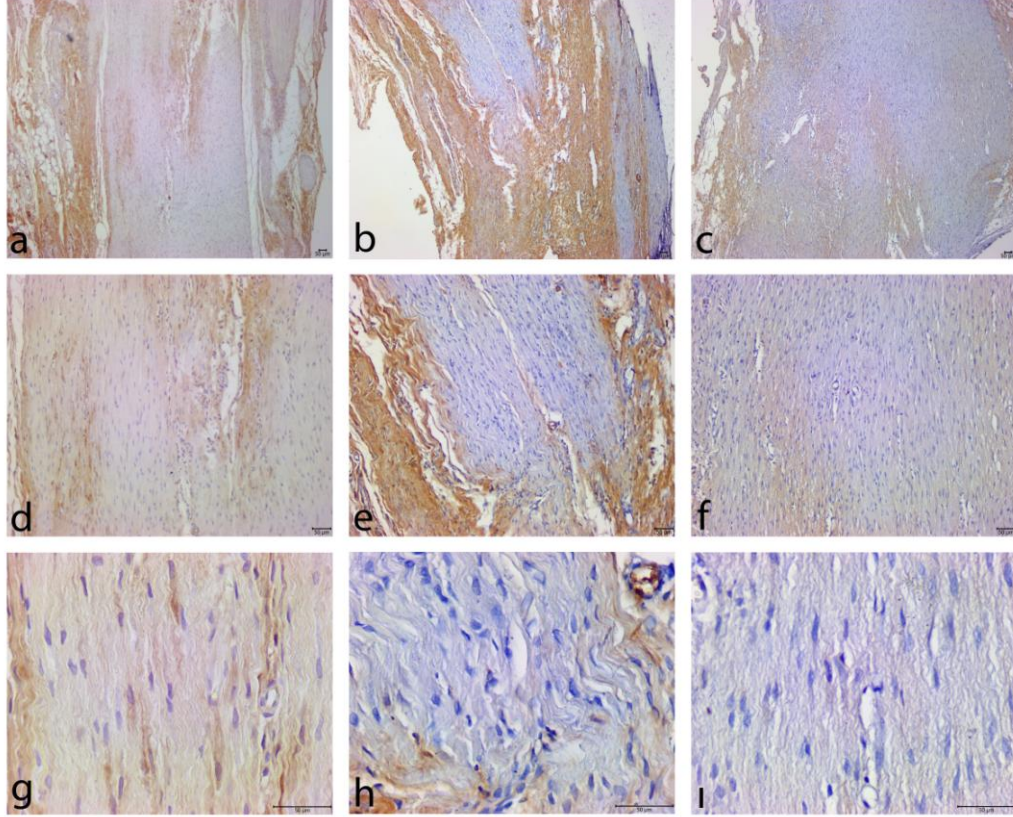
**Şekil 4.19.** Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca ultrason uygulanan ratlara ait tenascin C immünohistokimya boyama sonuçları.

### **Kitosan Grubu Bulguları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde tenascin C ekspresyonu kontrol grubuna oranla artış göstermişti. Ekspresyon yoğun olarak tendonu çevreleyen kılıflarda gözlemlendi. (Şekil 4.20a-d-g). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22i'de görülmektedir.

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde tenascin C ekspresyonu 2 hafta boyunca kitosan uygulanan gruba oranla azalmıştı ancak kontrol grubuna oranla ekspresyon daha fazlaydı (Şekil 4.20b-e-h). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22j'de görülmektedir.

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde tenascin C ekspresyonu 2 ve 4 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlardakine oranla azdı ancak kontrol grubuna oranla fazlaydı (Şekil 4.20c-f-ı). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22k'de görülmektedir.



Şekil 4.20. Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca kitosan uygulanan ratlara ait tenascin C immünohistokimya boyama sonuçları.

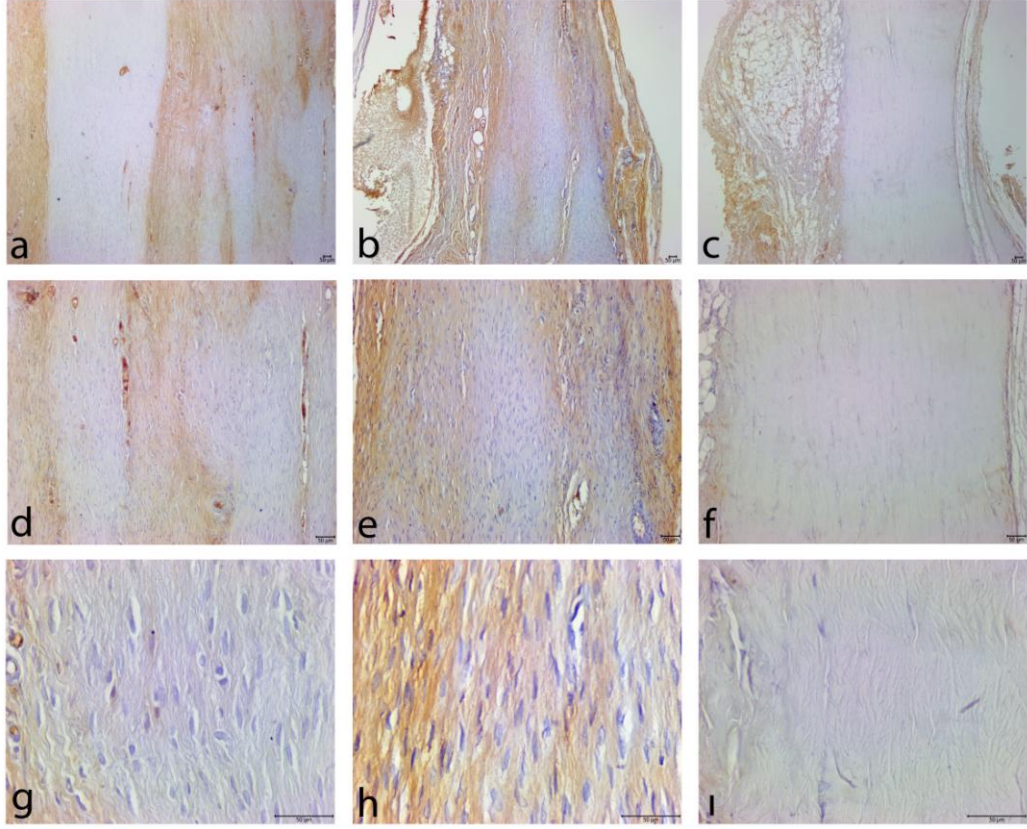
### **Ultrason+Kitosan Bulguları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde tenascin C ekspresyonu kontrol grubuna kıyasla daha fazlaydı (Şekil 4.21a-d-g). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22l'de görülmektedir.

Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde tenascin C ekspresyonu 2 hafta boyunca ultrason ve kitosan

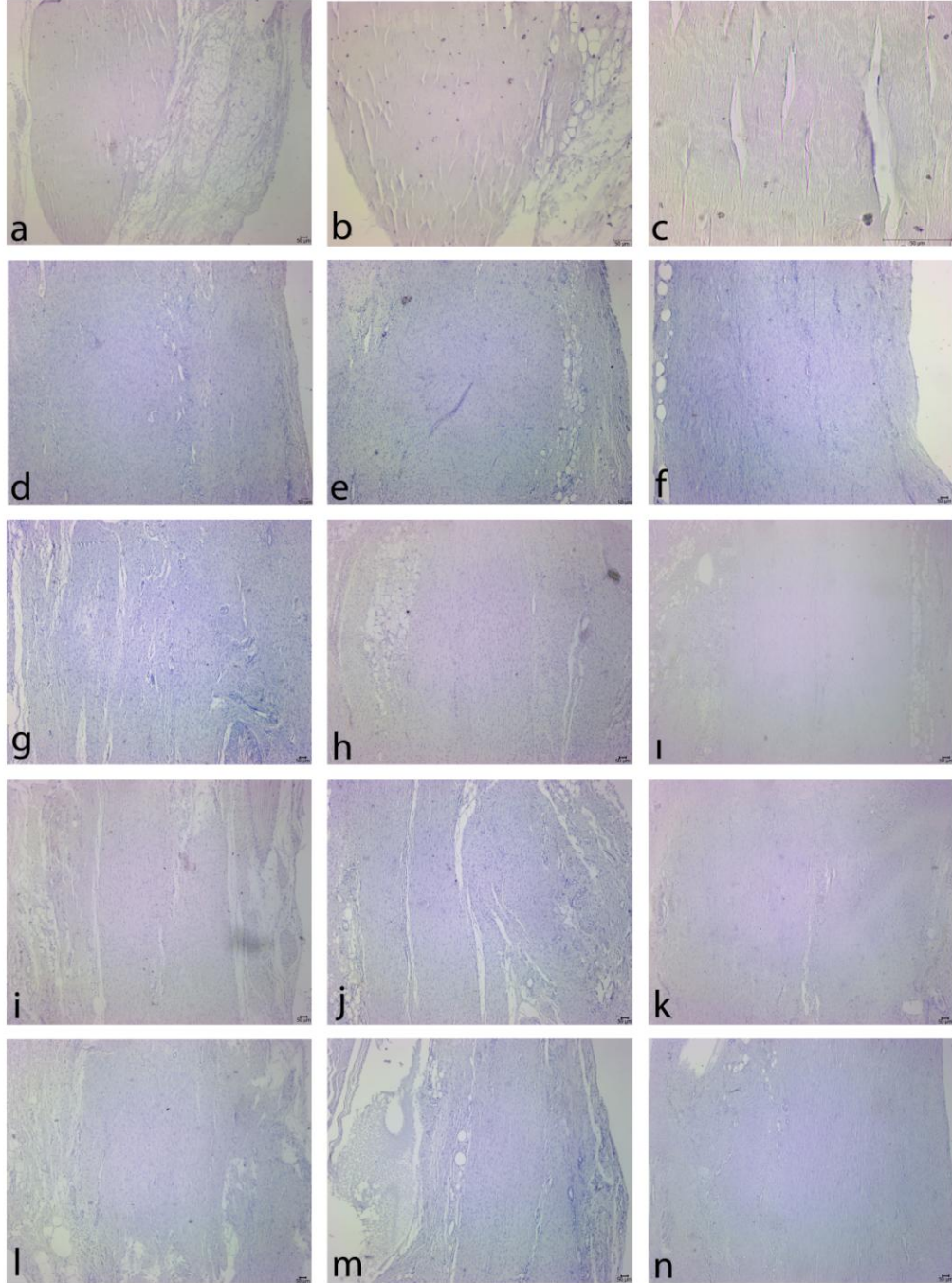
uygulanan gruba kıyasla azalmıştı, kontrol grubuna oranla ekspresyon fazlaydı (Şekil 4.21b-e-h). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22m'de görülmektedir.

Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait kesitlerde tenascin C ekspresyonu 2 ve 4 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlardakine oranla azalmıştı. Ekspresyon zayıf olarak tendonu saran kılıflarda gözlemlendi (Şekil 4.21c-f-ı). İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22n'de görülmektedir.



**Şekil 4.21.** Hasar oluşturulduktan sonra 2,4 ve 6 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan ratlara ait tenascin C immünohistokimya boyama sonuçları.

Tüm gruplara ait İzotip kontrol kesiti Şekil 4.22’de gösterilmektedir



Şekil 4.22. Tüm gruplara ait İzotip kontrol kesit sonuçları.

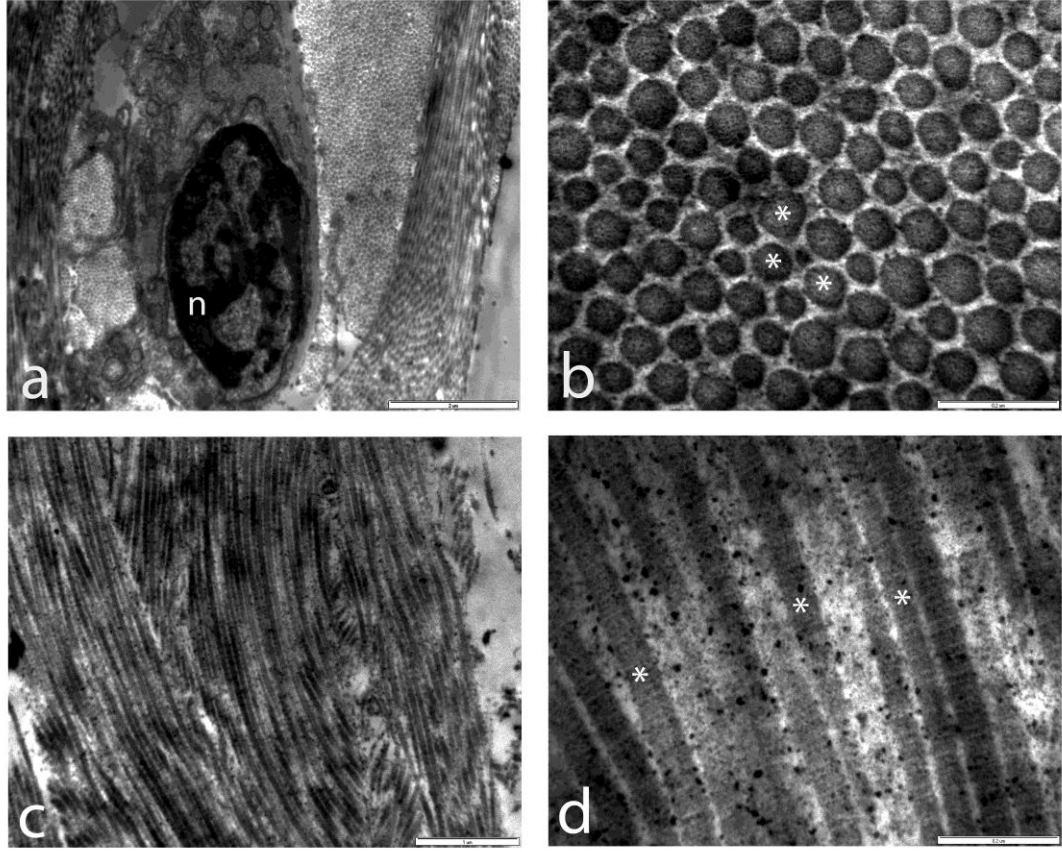
Tenascin C ekspresyonu açısından değerlendirdiğimizde 6 hafta boyunca ultrason ve kitosanın beraber uygulandığı grupların en iyi sonucu verdiği yorumunu yapabiliriz.

#### **4.2.5. TEM Bulguları**

##### **Kontrol Grubu TEM Sonuçları**

Kontrol grubuna ait transverse ve longitudinal yerleşimli tendon ince kesitlerinde fibroblastlar (tenositler), fibroblastlarda yer alan organeller, ekstraselüler matriks, transverse ve longitudinal yerleşimli kollajen lifler yer almaktaydı. Fibroblastların nükleusları heterokromatik yapıdaydı. Bu da sentez aktivitesinin az olduğunu göstermekteydi. Fibroblastlar içinde mitokondri, Golgi aygıtı ve granüllü endoplazmik retikulum (GER) organellerini gözlemledik. Mitokondride krista, Golgi aygıtı ve GER’de sisterna yapılarını sağlıklı bir şekilde gözlemledik (Şekil 4.23a). Ekstraselüler matriks içerisinde yer alan transverse yerleşimli kollajen lifler düzenli yerleşim göstermekteydi, kenarları düzgün ve çapları birbirine yakın boyuttaydı (Şekil 4.23b). Longitudinal yerleşimli kollajen lifler de düzenli ve yakın yerleşim göstermekteydi (Şekil 4.23c,d).



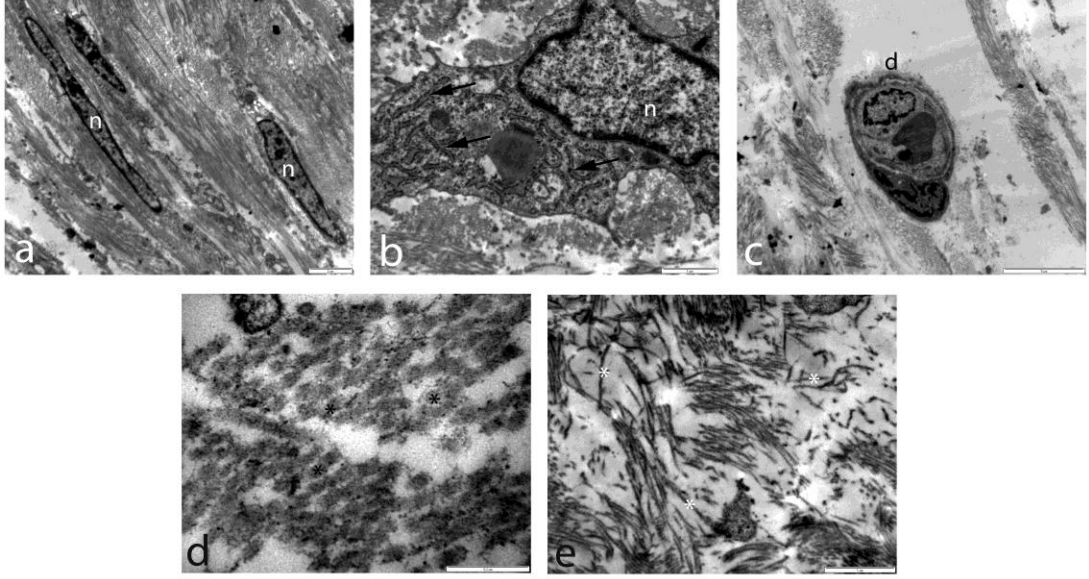


**Şekil 4.23.** Kontrol grubuna ait TEM görüntüleri a)7750 büyütmede transvers kesit görüntüsü n= nükleus, , b)77500 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif, c) 12930 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, d) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

### **Hasar Grubu TEM Sonuçları**

Hasar oluşturulduktan 2 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait transverse ve longitudinal kesitlerde kontrol grubuna oranla fibroblast nükleus sayısı artış gösterdi. Bu da fibroblast sayısının arttığını göstermekteydi. Fibroblastların nükleusları kontrol grubundan farklı olarak ökromatik yapıdaydı (Şekil 4.24a). Bu da sentez aktivitesinin fazla olduğunu göstermekteydi. Granüllü endoplazmik retikulum miktarı artmıştı. Bunlar bize tendonun hasar sonrası rejenerasyon amacıyla bir takım değişiklikler geçirdiğini gösterdi (Şekil 4.24b). Tenositler kollajen sentezini artırmak amacıyla proliferere olmuştu, protein sentezinde rol alan granüllü endoplazmik retikulum daha yaygın bir dağılım göstermekteydi. Bu grupta kontrol grubuna oranla vaskülarizasyonun arttığını gözlemledik (Şekil 4.24c). Bu grupta kollajen liflerde meydana gelen hasar çok

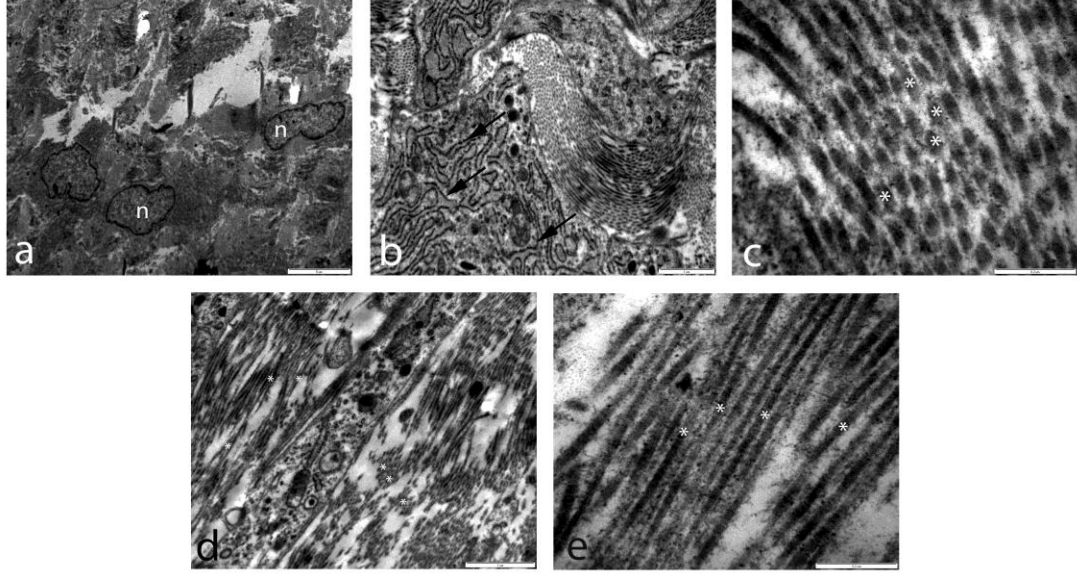
belirgindi. Kollajen lifler arasındaki boşluklar artmıştı. Kollajen liflerin çapı azalmıştı. Liflerin kenarı kontrol grubundaki liflere oranla pürüzlüydü. Bu grupta ayrıca biraraya gelerek lif meydana getirememiş kollajen lifçikleri gözlemledik (Şekil 4.24d). Longitudinal yerleşimli kollajen liflerde de hasar belirtilerini gözlemledik. Lifler düzensiz ve birbirlerinden ayrılmışlardı, lifçikler gözlenmekteydi (Şekil 4.24e).



**Şekil 4.24.** 2 haftalık hasar grubuna ait TEM görüntüleri a) 3597 büyütmede longitudinal kesit görüntüsü n= nükleus, b)10000 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), n= nükleus c) 2704 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, d= damar kesiti d) 77500 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif, e) 12930 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

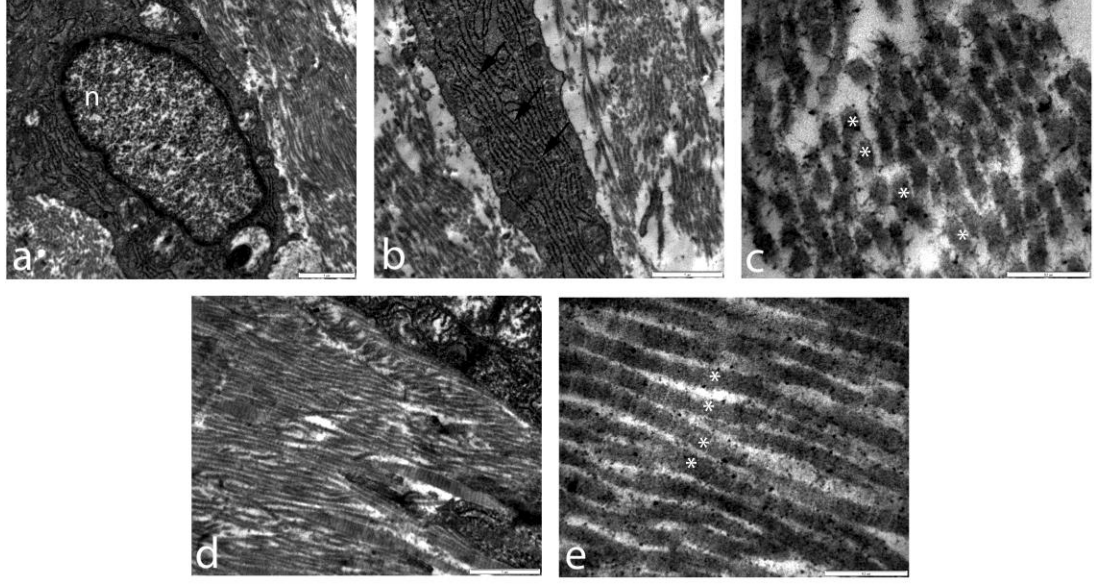
\*Hasar oluşturulduktan 4 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait transverse ve longitudinal kesitlerde 2 haftalık hasar grubunda olduğu gibi fibroblast sayısı artış göstermişti ve nükleusları ökromatik yapıdaydı (Şekil 4.25a). Granüllü endoplazmik retikulum miktarı artmıştı (Şekil 4.25b). Diğer bir ifadeyle kollajen lif sentezinin artışına yönelik değişiklikler bu grupta da gözlendi. Kollajen lif sayısı ve organizasyonuna transverse ve longitudinal kesitlere baktığımızda hasarın 2. haftadakine oranla iyileşme gösterdiğini gözlemledik. Kollajen lifler arasında hala boşluklar bulunmaktaydı. Kollajen liflerin çapı 2 haftalık hasar grubunda bulunan liflerin çapına oranla artış göstermişti (Şekil 4.25c). Liflerin kenarı kontrol grubundaki liflere oranla

pürüzlüydü ancak 2 haftalık hasar grubundaki liflere oranla daha düzgündü (Şekil 4.25d,e).



**Şekil 4.25.** 4 haftalık hasar grubuna ait TEM görüntüleri a) 2156 büyütmede transvers kesit görüntüsü n= nükleus, b)10000 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 12930 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

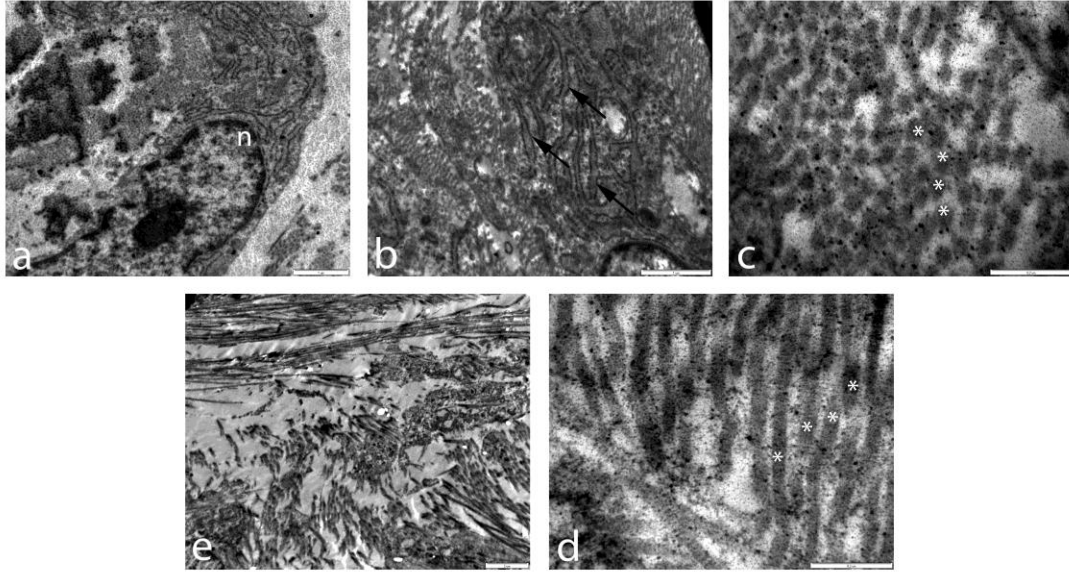
\*Hasar oluşturulduktan 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait transverse ve longitudinal kesitlerde ökromatik yapıda nükleuslara sahip fibroblastların sayısı diğer hasar gruplarında olduğu gibi kontrol grubuna oranla artış göstermişti (Şekil 4.26a). Granüllü endoplazmik retikulum miktarı kontrol grubundakinden daha fazla ve geniş dağılım göstermekteydi (Şekil 4.26b). Kollajen lif sentezini artırmaya yönelik adaptasyonları bu grupta da gözlemledik. Kollajen liflerin çapı 4 haftalık hasar grubundaki liflerin çapına oranla artış göstermişti (Şekil 4.26c). Liflerin kenarı kontrol grubundaki liflere oranla pürüzlüydü ancak 2 ve 4 haftalık hasar grubundakilere oranla daha düzgündü (Şekil 4.26d,e).



**Şekil 4.26.** 6 haftalık hasar grubuna ait TEM görüntüleri a) 10000 büyütmede transvers kesit görüntüsü n= nükleus, b)12930 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 12930 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

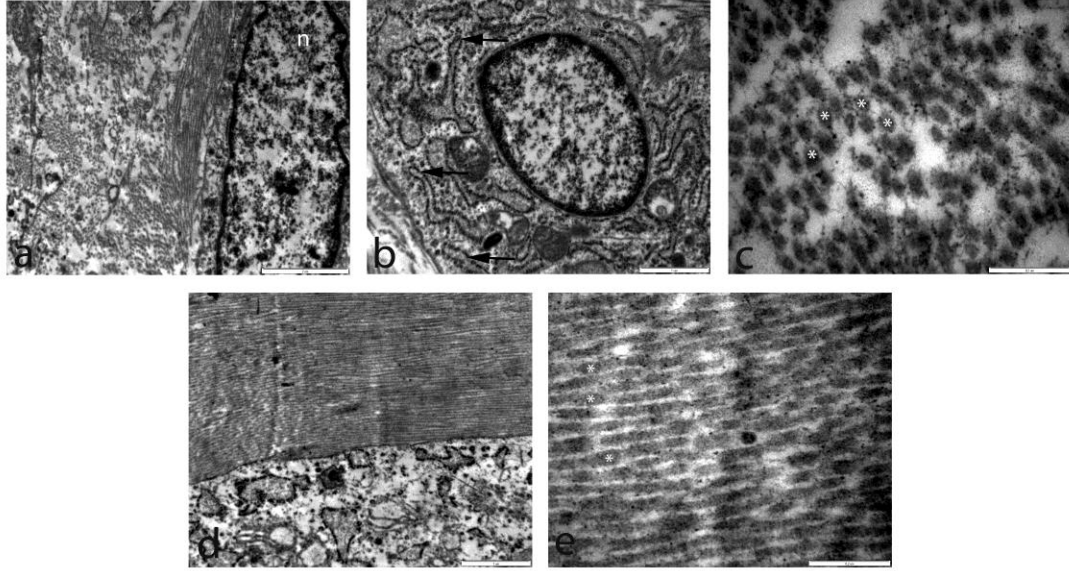
### Ultrason Grubu TEM Sonuçları

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca ultrason uygulanan gruba ait transverse ve longitudinal kesitlerde kontrol grubuna oranla nükleus sayısında artış yani tenosit sayısında artış gözlemlendi. Tenositlerin nükleuslarında heterokromatin miktarı azalmış, önkromatin miktarı artmıştı (Şekil 4.27a). Ayrıca granüllü endoplazmik retikulum geniş yayılım göstermekteydi (Şekil 4.27b). Bu da ultrason uygulanan grupta kollajen sentezinin arttığını gösteren bulgulardı. Bu gruptaki kollajen lifler kontrol grubuna oranla daha düzensiz ve çapları daha ince ve etrafı pürüzlüydü. Kollajen lif kalınlıkları hasar oluşturulduktan 2 ve 4 hafta sonra sakrifiye edilen ratlarınkine benzemekteydi (Şekil 4.27c,d,e).



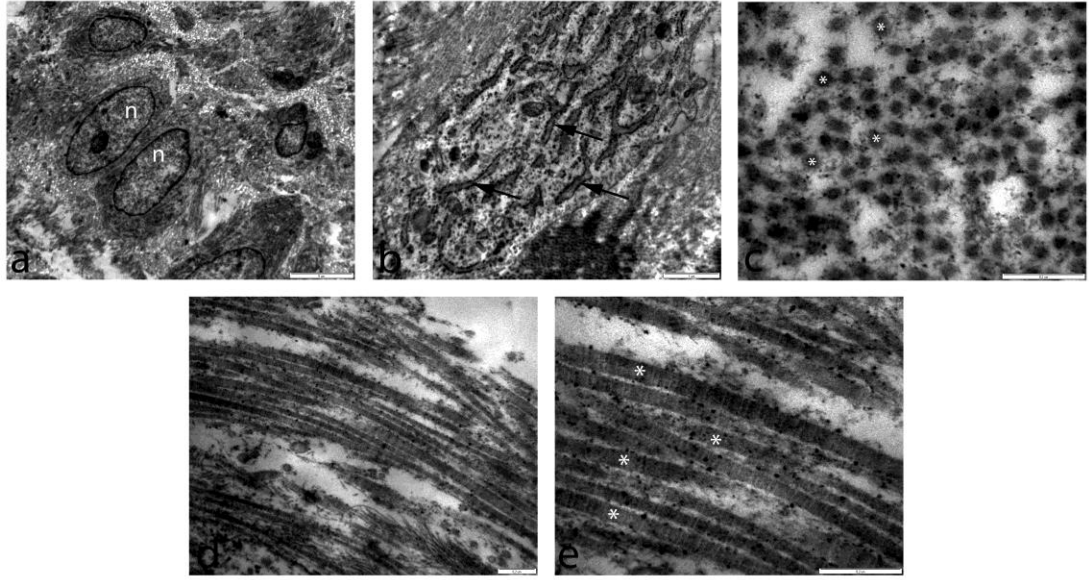
**Şekil 4.27.** 2 haftalık ultrason grubuna ait TEM görüntüleri a) 10000 büyütmede transvers kesit görüntüsü n= nükleus, b)12930 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 3597 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

\*Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca ultrason uygulanan gruba ait transverse ve longitudinal kesitlerde 2 hafta boyunca ultrason uygulanan grupta olduğu gibi tenosit sayısında artış, tenositlerin nükleuslarında ökromatin yapı gözlemledik (Şekil 4.28a). Ayrıca granüllü endoplazmik retikulum geniş yayılım göstermekteydi (Şekil 4.28b). Kollajen lifler 2 hafta boyunca ultrason uygulanan gruba kıyasla daha düzgündü ve çapları daha kalındı. Hasar grubuna ait kollajen lifleri ile karşılaştırdığımızda hasar 2 ve 4 haftalara oranla daha iyi görünmekteydi (Şekil 4.28c,d,e).



**Şekil 4.28.** 4 haftalık ultrason grubuna ait TEM görüntüleri a) 7750 büyütmede transvers kesit görüntüsü n= nükleus, b)12930 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 12930 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

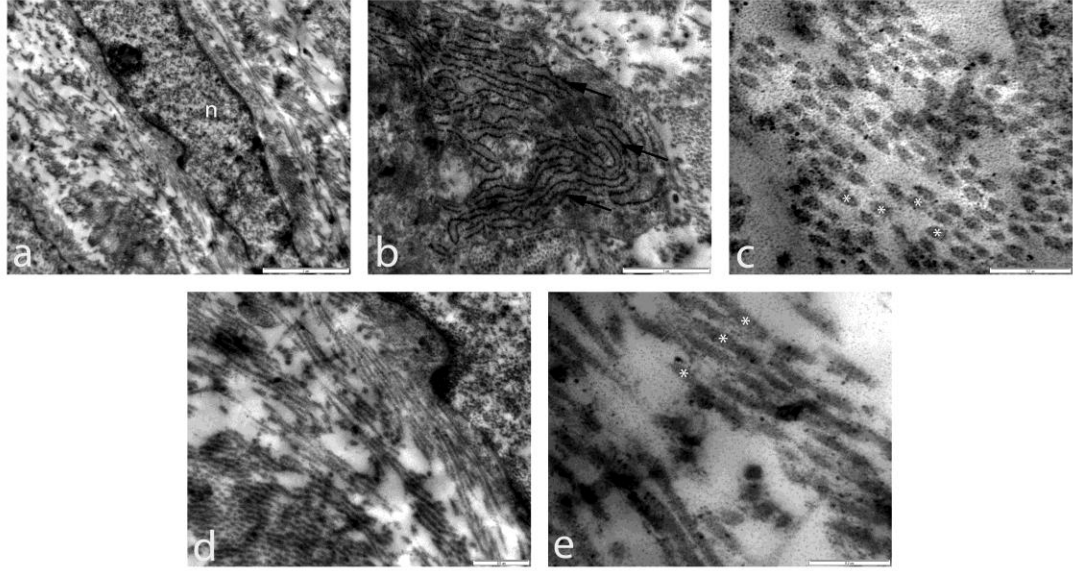
\*Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca ultrason uygulanan gruba ait transverse ve longitudinal kesitlerde ultrason uygulanan diğer gruplarda olduğu gibi tenosit sayısında artış, tenositlerin nükleuslarında ökromatin yapı gözlemledik (Şekil 4.29a). Ayrıca granüllü endoplazmik retikulum geniş yayılım göstermekteydi (Şekil 4.29b). Kollajen lifler 2 ve 4 hafta boyunca ultrason uygulanan gruplara kıyasla daha düzgündü, çapları daha kalındı (Şekil 4.29c,d,e).



**Şekil 4.29.** 6 haftalık ultrason grubuna ait TEM görüntüleri a) 2156 büyütmede transvers kesit görüntüsü n= nükleus, b)10000 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 35970 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

### **Kitosan Grubu TEM Sonuçları**

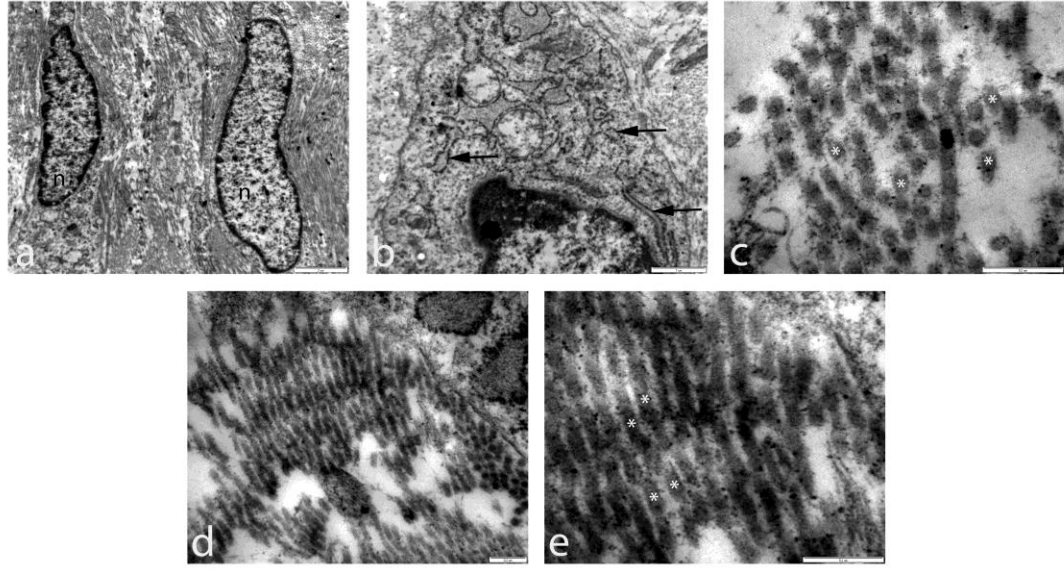
Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca kitosan uygulanan gruba ait transverse ve longitudinal kesitlerde kontrol grubuna oranla nükleus sayısında artış yani tenosit sayısında artış gözlemlendi. Tenositlerin nükleusları ökromatik yapıdaydı (Şekil 4.30a). Ayrıca granüllü endoplazmik retikulum geniş yayılım göstermekteydi (Şekil 4.30b). Diğer bir ifadeyle kitosan uyguladığımız grupta kollajen sentezi artmıştı. Bu gruptaki kollajen lifler kontrol grubuna oranla daha düzensiz ve çapları daha ince ve etrafi pürüzlüydü (Şekil 4.30c,d,e).Kollajen lif kalınlıkları hasar oluşturulduktan 2 ve 4 hafta sonra sakrifiye edilen ratlarınkine benzemektedir.



**Şekil 4.30.** 2 haftalık kitosan grubuna ait TEM görüntüleri a) 7750 büyütmede longitudinal kesit görüntüsü n= nükleus, b)16700 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 21560 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

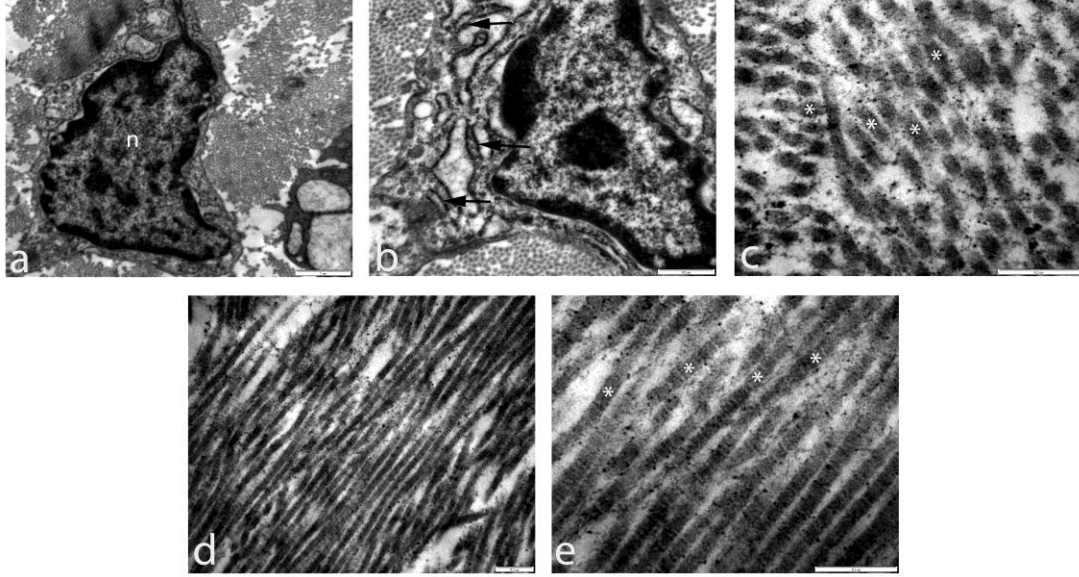
\*Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca kitosan uygulanan gruba ait transverse ve longitudinal kesitlerde 2 hafta boyunca ultrason uygulanan grupta olduğu gibi tenosit sayısında artış, tenosit nükleuslarında ökromatik yapı (Şekil 4.31a). ve granüllü endoplazmik retikulum yayılımında artış gözledik (Şekil 4.31b). Kollajen lifler 2 hafta boyunca ultrason uygulanan gruba oranla daha iyi görünümlüydüler. Çapları kalınlaşmış, etrafları daha az pürüzlüydü ancak 2 hafta boyunca ultrason uygulanan gruba oranla çapları daha inceydi (Şekil 4.31c,d,e).





**Şekil 4.31.** 4 haftalık kitosan grubuna ait TEM görüntüleri a) 4646 büyütmede transvers kesit görüntüsü n= nükleus, b)10000 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 35970 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

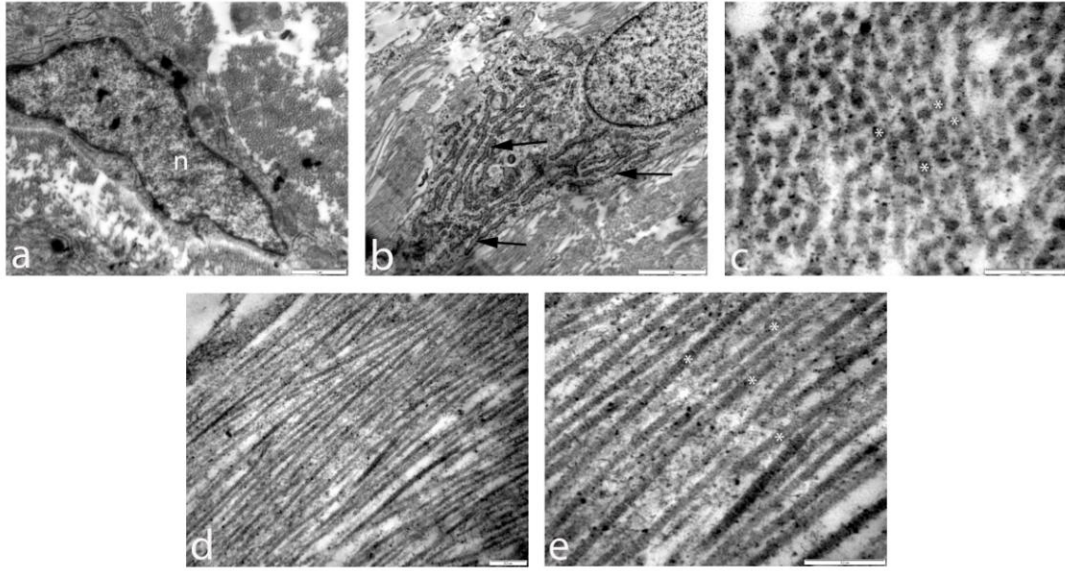
\*Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca kitosan uygulanan gruba ait transverse ve longitudinal kesitlerde de ökromatik yapıda nükleusa sahip tenosit sayısında artış (Şekil 4.32a). ve granüllü endoplazmik retikulum yayılımında artış gözledik (Şekil 4.32b). Kollajen lifleri yapısı 2 ve 4 hafta boyunca kitosan uyguladığımız gruptaki ratlarınkine oranla daha kalın ve pürüzsüzdü (Şekil 4.32c,d,e).



**Şekil 4.32.** 6 haftalık kitosan grubuna ait TEM görüntüleri a) 10000 büyütmede transvers kesit görüntüsü n= nükleus, b) 21560 büyütmede kollajen liflerin transvers kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 35970 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

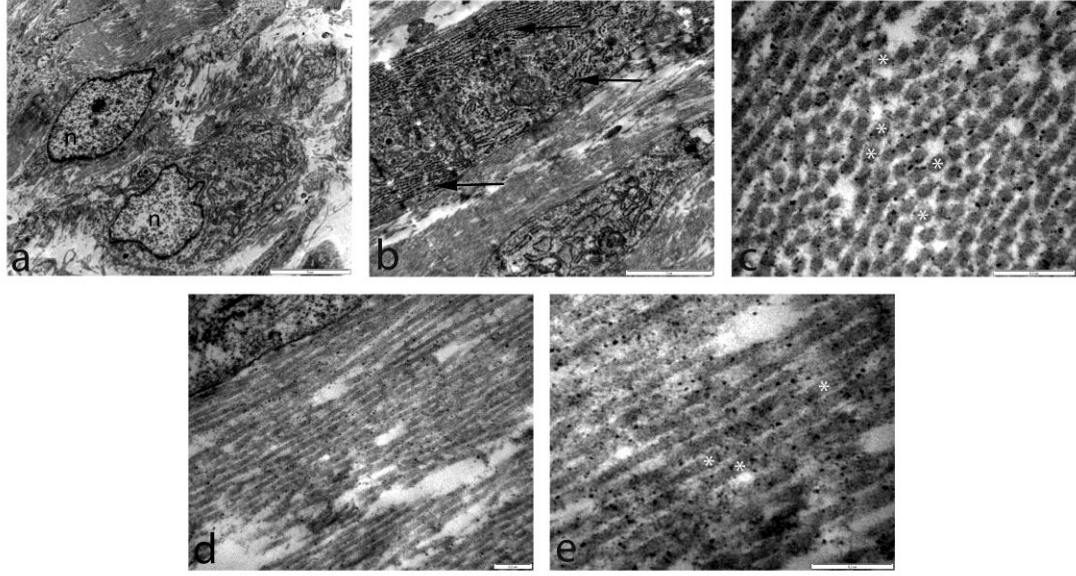
### **Ultrason+Kitosan Grubu TEM Sonuçları**

Hasar oluşturulduktan sonra 2 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan gruba ait transverse ve longitudinal kesitlerde ökromatik yapıda nükleusa sahip tenosit sayısında artış (Şekil 4.33a) ve granüllü endoplazmik retikulum yayılımında artış gözlemlendi (Şekil 4.33b). Kollajen lifler 2 hafta boyunca sadece ultrason ve sadece kitosan uygulanan ratlardakine oranla daha kalın çaplı ve daha az pürüzlüydü (Şekil 4.33c,d,e).



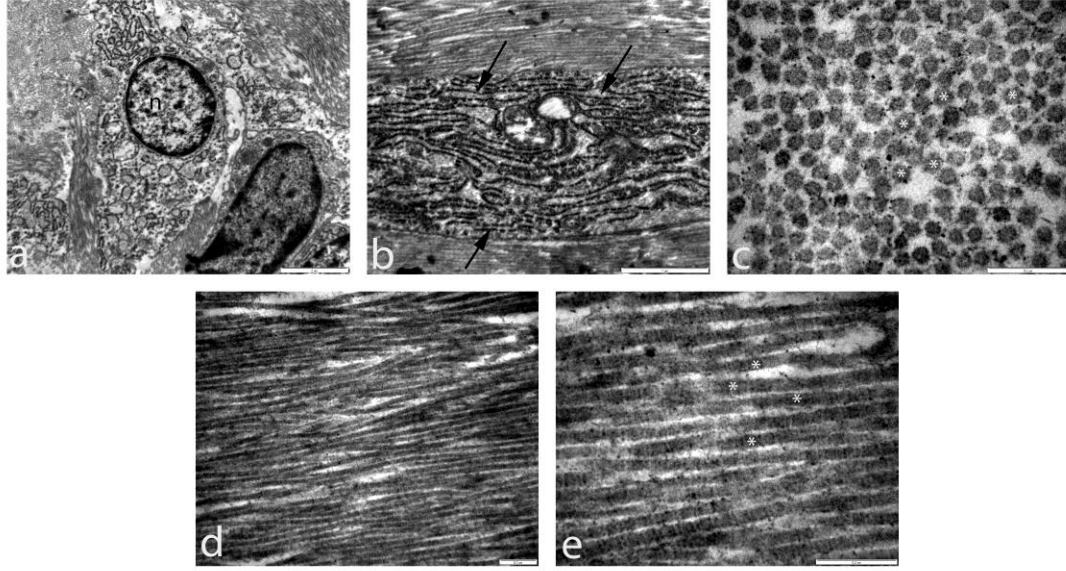
**Şekil 4.33.** 2 haftalık ultrason+kitosan grubuna ait TEM görüntüleri a) 10000 büyütmede transvers kesit görüntüsü n= nükleus, b) 6000 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 35970 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

\*Hasar oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan gruba ait transverse ve longitudinal kesitlerde ökromatik yapıda nükleusa sahip tenosit sayısında artış (Şekil 4.34a) ve granüllü endoplazmik retikulum yayılımında artış gözledik (Şekil 4.34b). 4 hafta boyunca ultrason ve kitosan uygulanan ratlara oranla bu gruptaki kollajen lifler daha kalın çaplı ve daha az pürüzlüydü (Şekil 4.34c,d,e).



**Şekil 4.34.** 4 haftalık ultrason+kitosan grubuna ait TEM görüntüleri a) 2704 büyütmede longitudinal kesit görüntüsü n= nükleus, b) 6000 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 35970 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

\*Hasar oluşturulduktan sonra 6 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan gruba ait transverse ve longitudinal kesitlerde 2 ve 4 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan gruplarda olduğu gibi ökromatik yapıda nükleusa sahip tenosit sayısında artış (Şekil 4.35a) ve granüllü endoplazmik retikulum yayılımında artış gözledik (Şekil 4.35b) Tedavi uygulanan tüm gruplar içerisinde kontrol grubuna en yakın morfolojideki kollajen lifleri bu grupta gözlemledik. Kollajen lifler arasındaki boşluklar azalmış, lif çapları azalmış ve liflerin etrafı pürüzsüz hale gelmişti (Şekil 4.35c,d,e).



**Şekil 4.35.** 6 haftalık ultrason+kitosan grubuna ait TEM görüntüleri a) 6000 büyütmede transvers kesit görüntüsü n= nükleus, b) 16700 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, ← = golgi endoplazmik retikulum (GER), c) 77500 büyütmede transvers kesit görüntüsü, \* = kollajen lif d) 35970 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, e) 77500 büyütmede kollajen liflerin longitudinal kesit görüntüsü, \* = kollajen lif

## 5. TARTIŞMA

Aşıl tendonu insan vücudunda en sık yaralanan tendonlardan biridir. Bu tendonun yaralanmaları zayıflatıcı komplikasyonlara neden olabilir ve uzun süreli rehabilitasyon gerektirebilir (Gum ve ark., 1997). Bir tendonun iyileşmesi, bölünebilecek hücresel, vasküler ve hücre dışı matriks değişikliklerini gerektiren bir işlemdir: 1. enflamatuar yanıt ve neoanjiyogenez 2. fibrillojen ve fibroplazi ve 3. matrisin yeniden şekillenmesi aşamalarından geçmektedir (Enwemeka, 1989). Aşıl tendon rüptürünün klinik rehabilitasyonu iyileşme evresine özgü olmalıdır. Terapötik ultrason dışında, lazer, elektrik stimülasyonu ve tendon egzersizi gibi fiziksel yöntemler de iyileşmeyi arttırmada önemlidir (Enwemeka ve ark., 1988; Enwemeka, 1992; Reddy ve ark., 1999). Bununla birlikte, farklı tedavilerin etkileri aynı anda uygulandığında birbirlerini dengeleyebileceği için dikkatli olunmalıdır (Gum ve ark., 1997). Uygun olmayan ultrason dozu da litik bir etkiye sahip olabilir ve doku onarımı sırasında endotel hücrelerinin bozulmasına neden olabilir (Roberts ve ark., 1982; De Deyne ve Kirsch-Volders, 1995).

Çalışmamızda denek olarak 8 haftalık *Rattus norvegicus* Wistar albino erkek rat kullanıldık. Bunun nedeni ise; iyileşme parametresinin yaşa bağlı olması nedeniyle ratların genç olması, kolay elde edilmesi ve tedavi yönteminin daha kolay uygulanmasıdır (Jackson ve ark., 1991).

Terapötik ultrason, tendonlara, bağlara, kaslara, eklem kapsülü iltihabına, bursit ve iskelet kası ağrısına bağlı çeşitli yaralanmaların tedavisinde 50 yıldan uzun bir süredir bir ajan olarak kullanılmaktadır (Kitchen, 1990). Histolojik ve biyokimyasal çalışmalar, terapötik ultrason uygulamasından sonra kollajen konsantrasyonunun, kollajen fibrillerinin ve yırtılmış tendonların fibril yoğunluğunun arttığını göstermiştir. Bu morfolojik değişiklikler, tendonların biyomekanik iyileşmeleri olarak kendini gösterir. (Frieder ve ark., 1988; Jackson ve ark., 1991). Terapötik ultrason tedavisinin doku iyileşmesi üzerindeki etkileriyle ilgili önceki çalışmalar çelişkilidir. Bazı çalışmalar yararlı bir etki göstermediğini belirtirken (Roberts ve ark., 1982; Turner ve ark., 1989) başka araştırmacılar ise çok daha iyi bir iyileşme oranı bildirmiştir (Stevenson ve ark.,

1986; Dyson, 1987; Enwemeka, 1989; Enwemeka ve ark., 1990; Gan ve ark., 1995). Horoz ve sıçandaki tendon yaralanması için ultrason tedavisi ile mekanik güçte veya enflamatuvar yanıtta iyileşme göstermeyen benzer bulgular da bildirilmiştir (Goddard ve ark., 1983; Turner ve ark., 1989). Harvey ve ark. sürekli ya da darbeleri tipte terapötik ultrason ile tedavi edilen kültürlenmiş fibroblastların, sahte sonik kontrollerden daha fazla protein sentezlediğini bildirilmiştir (Harvey ve ark., 1975). Bu çelişkili sonuçlar, hayvanların terapötik ultrasona farklı tepki verdiğini ve etkinin tedavi parametrelerine duyarlı olduğunu gösterebilir (Gelberman ve ark., 1984). Bunlar, yaralanma şekli ve eklemlerin immobilizasyon etkisi nedeniyle sonuçları etkilemiş olabilir. Terapötik müdahalenin zamanlamasının, tedavi sonucunun önemli bir belirleyicisi olabileceği ve ultrason müdahalesinin gecikmesinin önemli sonuçlara katkıda bulunabileceği belgelenmiştir (Enwemeka, 1989; Turner ve ark., 1989). Dyson ve ark. terapötik ultrasonun kollajenin polimerizasyonu ile bağlantılı kimyasal bağ oluşumuna müdahale edebileceğini ileri sürmüştür. Ayrıca, kollajen ve diğer matriks proteinlerinin sentezinden sorumlu olan, bağ dokusu onarımında temel öneme sahip hücreler olan fibroblastların aktivitesini uyardığını öne sürdüler (Dyson ve ark., 1968).

Ayrıca tendon yaralanmalarının tedavisinde terapötik ultrasonun kullanım dozu, süresi ve etkinliği ile ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Hem yüksek hem de düşük doz kullanılarak yapılan çalışmalar literatürde oldukça fazladır. Bu karşılaştırmayı yapan bazı çalışmalarda düşük doz ultrason ile yapılan tedavinin yüksek doz ultrasona göre daha etkin ve tedavi edici bulunmuştur (Fyfe ve Chahl, 1984; Enwemeka ve ark., 1990; Demir ve ark., 2004)

Ancak terapötik ultrasonun tedavi yoğunluğunun etkisi iyi karşılaştırılmamıştır. Şimdiye dek, ultrason tedavisi için parametre seçimi konusunda genel bir fikir birliği yoktur ve terapötik ultrasonun kısmi yırtılma tendonları üzerindeki klinik etkinliğine dair kanıtlar hala eksiktir Pozitif sonuç veren çalışmaların çoğu, 3 MHz frekansında sürekli ultrason dalgasını  $1 \text{ W/ cm}^2$  şiddeti modunda kullanmıştır. Biz de çalışmamızda denekelere terapötik ultrason kriteri olarak 3 MHz frekansında sürekli ultrason dalgası modu kullandık. Ayrıca terapötik ultrasonu haftanın 5 günü 5 dakika boyunca  $1 \text{ W/ cm}^2$  şiddetinde olmak üzere tedavi gruplarımıza uyguladık.

Draper ve arkadaşları, Ashton ve arkadaşları ve Chan ve arkadaşları, çeşitli derinliklere (5 cm veya daha az) termistörler yerleştirdi ve 1 MHz ve 3 MHz ultrasonla 10 dakikalık bir tedavi sırasında kas sıcaklığındaki artışı ölçtüler. Veriler, 1-MHz ve 3-MHz ultrason ile yapılan tedavinin, doku sıcaklığındaki zamana ve doza bağlı bir artışa yol açtığını göstermektedir (Draper ve ark., 1995; Ashton ve ark., 1998; Chan ve ark., 1998). Ter Haar, cildin ve altındaki dokunun ısıtılması için ultrason yoğunluğunun  $1.5 \text{ W / cm}^2$ 'den  $3.0 \text{ W / cm}^2$ 'ye (1 MHz frekansı) yükseltilmesi gerektiğini buldu (Ter Haar ve Hopewell, 1982).

Turner ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada yoğunluğu  $1 \text{ W/cm}^2$ , frekansı 3 MHz, günde 4 dk ve haftada 3 gün olmak üzere 5 hafta terapötik ultrason uygulamışlardır. Ancak tedaviye cerrahi sonrası 7. günde başlayıp alçıyı ise 3 hafta sonra çıkartmışlardır. Bunun sonucunda ise erken proliferatif dönemi kaçırarak olumlu sonuç alamadıklarını tespit etmişlerdir (Turner ve ark., 1989). Çalışmamızda yer alan deneklere alçı ya da benzeri bir immobilizasyon uygulamayıp operasyondan 1 gün sonra olmak üzere terapötik ultrason uyguladık.

Enwemeka, 3 MHz sürekli ultrasonun tavşanlarda yaralı Aşil tendonu üzerindeki etkilerini incelemiş ve 5 dakika boyunca  $1 \text{ W / cm}^2$ 'de tedavi seansı ile, tendonun hem gerilme kuvvetinde hem de enerji emme kapasitesinde belirgin bir şekilde geliştiğini keşfetmiştir (Enwemeka, 1989). Aynı çalışmacı, daha sonraki bir çalışmasında, tendon onarımı için  $0,5 \text{ W / cm}^2$ 'lik daha düşük bir dozaj kullanarak da benzer bulgular rapor etmiştir (Enwemeka ve ark., 1990). Enwemeka'nın (1989, 1990) yaptığı çalışmalarda, tendonlar tamamen kesilmiş ve dikilmiş ve ilgili eklemler ultrason tedavisi sırasında sabitlenmiştir. Yaralanmadan 9 gün sonra, tamamen kesilmiş ve cerrahi olarak tamir edilmiş sıçan Aşil tendonlarının gerilme kuvvetinin, terapötik ultrason ile tedavi edilen tendonlarda daha fazla olduğunu bildirmiştir (Enwemeka, 1989; Enwemeka ve ark., 1990). Demir ve ark. rüptüre edilmiş ratlara ait Aşil tendonlarında düşük doz ( $0,5 \text{ W/cm}^2$ ) ve günde 5 dk olmak üzere terapötik ultrason tedavisi uygulamışlardır. Biyokimyasal ve biyomekanik bulgular doğrultusunda düşük doz uygulanan terapötik ultrasonun control grubuna göre anlamlı bir şekilde hızlanan iyileşme parametresi elde etmişlerdir. Roberts ve ark.  $0,8 \text{ W / cm}^2$ 'lik bir dozda 6 haftalık kesikli ultrason



tedavisinin, tavşanlarda onarım tendonlarının gücünü arttıramadığını bildirmiştir (Roberts ve ark., 1982).

Literatürdeki başka bir çalışma, hem düşük dozun (1.0 W / cm<sup>2</sup>) hem de yüksek dozun (2.0 W / cm<sup>2</sup>) ultrason tedavisinin, kısmen transfekte edilmiş Aşil tendonunun kuvvetinin artmasıyla belirtildiği gibi Aşil tendonu onarım hızını artırabileceğini göstermiştir. Yüksek doz grubunun, düşük doz grubundan daha fazla ortalama güç elde ettiği görülmüştür (Ng ve ark., 2003). Jacson ve ark. sürekli terapi, tedavi seansı başına 4 dakika boyunca 1 W/ cm<sup>2</sup> şiddetinde tendona uygulamışlardır. Sonuçlar, ultrason tedavisinin, sıçanların yaralı Aşil tendonlarının tamir hızını arttırdığını göstermektedir. Sonuçlar ayrıca, artmış kolajen sentezi ve tendon onarımı sırasında daha fazla gerilme arasındaki ilişkiyle de tutarlıdır (Jackson ve ark., 1991). Yaptığımız deneysel çalışmalar sonucunda literatürde yer alan birçok sonuçla doğru orantılı bulgular elde ettik. Tendon onarımında terapötik ultrason uygulaması sonucunda kollajen liflerin zamanla düzenli hale geldiğini, sayıca önemli bir artış olduğunu ve bu bölgede vazkülerizasyonun artmış olması ile dokuda tamir mekanizmasının tedavi süresiyle doğru orantılı bir şekilde çalıştığını göstermiş bulunmaktayız.

Kitosanın yüzeysel yara onarımı üzerindeki etkilerin yanı sıra, dokuma olmayan polyester elyaf ile onarımdan sonra, kitinin koyun fleksör tendonlarının iyileşmesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Kitinin dokunmamış kumaş tendon implantları etrafındaki kolajen farklılaşması üzerinde yararlı bir etkisi olduğu bulunmuştur (Okamoto ve ark., 1997).

Su ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada kitosan matrisi kullanarak Aşil tendon hasarında tedavi grubu oluşturdular. Tüm tendonlar 12 hafta içinde iyileşmişti. Genel olarak, tamir bölgesinde oluşturulan doku, net bir yönelim olmadan, tenosit benzeri hücrelerin (fibrotik doku) ve granülasyon dokusunun bir karışımını sergilemiştir. Kitosan ile tedavi edilen tendonlar kontrol grubuna göre (ortalama,% 12.3) daha fazla fibrotik dokuya (genel ortalama,% 21.5) sahip olan ve anlamlı bir fark (P = .003) elde etmişlerdir. Kitosan ile tedavi edilen tendonların, tedavi edilmeyen kontrol tendonlarına göre 1 ile 2 hafta (P <.001) içerisinde belirgin şekilde daha yüksek hücre yoğunluğuna sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Kitosan ile tedavi edilen grupta fibröz doku

yüzdesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu gelişmiş fibroblastik tepkinin, kitosanın hücre göçünü artırma ve tamir için bir iskele görevi görmesine bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Diğer çalışmalar, kitosanın primer türev olduğu kitinin, hücre ve deri altı dokularının hücre göçünü artırarak iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir (Su ve ark., 1999).

Melamed ve ark. ise kitosanı rotator cuff yırtığı deneysel modelinde kullanmıştır. Hücresel bir matris olarak kitosanın kullanımı, iyileşen fibröz doku oluşumunu geliştirdiğini ve hücre sayısını arttırdığını göstermişlerdir. Çalışmalarında kitosan matrisinin ameliyattan 6 hafta sonra absorbe olma eğiliminde olduğunu belirtmişlerdir. Ek olarak, histolojik bulgular, fibröz tamir dokusunun, ameliyattan 8 hafta sonra zirveye ulaşana kadar kademeli olarak arttığını göstermiştir. Kitosan iskelesinin emilim hızının, tamir dokusunun tamamen geri kazanılmasında nemli bir gösterge olduğunu belirtmişlerdir. Onarım sahasındaki yapışması ve nihai absorpsiyon, artroskopik cerrahi ortamındaki subakromiyal boşluktan sulama sıvısının akışıyla zorlanabilir. Bununla birlikte, kitosan daha sağlam bir jel formunda kaldığından, tamir yerinden yıkanmaya karşı daha iyi dayanır. (Melamed ve ark., 2015).

H.Zhang ve ark. 55 erişkin leghornlu tavuğun uzun fleksör tendonu kesip kitosan membranı ile kapsüllenmiş hale getirerek dikmişlerdir. Işık mikroskobu ile tendon iyileşmesi ve yapışma gözlemişlerdir. Tendon iyileşmesinin 4 hafta içerisinde kitosan membrandan etkilendiğini ve 4 hafta sonra tendon gerginliği önleyici kuvvet arttırıldığını bildirmişlerdir. Kitosan membranın şu özelliklere sahip olduğunu bildirmişlerdir: hiçbir yan etkisinin olmadığı, iyi geçirgenlik, çözülebilirlik, emilebilir ve seçici inhibisyon, fibroblast büyümesini önlemek ( Zhang ve ark., 1999).

Chen ve ark. yaptıkları çalışmada en önemli bulgu olarak, kitosan ile yapılan tedavinin, hem sıçan onarımlı tendon dokusunda hem de ondan izole edilen fibroblastlarda miR-29b ekspresyonunu belirgin şekilde arttırdığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak, çalışmalarında kitosanın ameliyattan sonra Aşil tendonunun kayma hareketini arttırdığı ve tendon fibroblastlarının in vitro deneylerde büyümesini önlediği görüldü. Ayrıca, kitosanın tendon iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerinin miR-29b'nin yüksek ekspresyonuna ve bunun TGF-1 / Smad3'ün aşağı regülasyonuna ve G1 fazında

fibroblastların yukarı regülasyonuna katkıda bulunduğunu göstermektedir. Mevcut bulgular, kitosanın tendon iyileşmesine daha iyi uygulanması için teorik bir temel sunmakta olduğunu düşündürmektedir (Chen ve ark., 2014).

Hücrelerle ekilmiş biyobozunur üç boyutlu (3D) iskeleleri kullanan doku mühendisliği yaklaşımı, şiddetli bağ ve tendon hasarının tedavisi için daha fazla potansiyel alternatiflere sahiptir. 3D iskelelerin doku mühendisliğinde ana rolü, hücreler kendi üretene kadar doğal ekstraselüler matrix biyomekanik özelliklerine sahip geçici bir şablon sağlamaktır. Ek olarak, yapı iskelelerinin rolü, hücre yapışmasını, büyümesini, göçünü, farklılaşmasını, doku düzenini ve matrisin yeniden yapılanmasını düzenleyen biyolojik bir uyarıcının rolü olacaktır. Bir ligament ve tendon dokusundaki hücreler, karmaşık bir ekstraselüler matrixe gömülüdür (Hynes, 1999). Funakoshi ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada kitosan bazlı hibrid polimer elyaflarından yapılmış bir 3D iskelelerin tip I kollajen üretimini arttırdığını ve rotator manşetin yenilenen dokusuna in vivo olarak yeterli mekanik dayanım sağladığını doğrulamıştır. Birkaç sınırlama olmasına rağmen, bu sonuçlar, bu yeni 3D iskele ile mevcut doku mühendisliği teknikleri kullanılarak rotator manşet rejenerasyonunun fizibilitesini kuvvetle ortaya koymaktadır (Funakoshi ve ark., 2005).

Alg jel kaplı kitosan-kollajen jel hizalı poli nanofiber iskelelerin hizalanmış tendon rejenerasyonu için immobilize edilmiş koşullarda uygun bir yapı sağlayacağı sonucuna varmıştır (Deepthi ve ark., 2016).

İnsan kaynaklı pluripotent kök hücreler (hiPSC), Aşil tendonu onarım modelinde gösterildiği gibi yırtık tendonların yenilenmesi için hücreler bir kaynak görevi görebilmektedir. Kitosan bazlı iyi hizalanmış fiber yapı iskeleti, hiPSC'lerin in vitro ve in vivo olarak tenojenik farklılaşmasını sağladığı belirtilmiştir. Sıçan Aşil tendonu onarım modelinin makroskobik morfolojisi, histolojisi ve biyomekanik analizi, hizalanmış fiber iskelesinin hiPSC'lerin farklılaşmasını düzenlediğini ve böylece tendon onarımını desteklediğini gösterir ( Zhang ve ark., 2015).

Depress-Tremblay ve ark. çalışmalarında, otolog Plateletten Zengin Plazma (PRP) çözündürülmüş, dondurularak kurutulmuş kitosandan oluşan implantların bir tavşan

modelinde rotator manşet onarımını iyileştirip iyileştiremeyeceğini değerlendirmişlerdir. Çalışmalarının sınırlamalarına rağmen, ön çalışmalarında kitosan-PRP implantlarının enjeksiyon yerinde tutulduğunu ve eklemden zararlı etkiler yaratmadığını göstermişlerdir. Ek olarak, kitosan-PRP implantlarının, transosseöz dikiş ile birlikte kullanılması, supraspinatus tendonunun humeral başa tek başına dikişe kıyasla daha iyi yapışmasını sağlamıştır. Bu çalışma, kitosan-PRP implantlarının küçük bir hayvan modelinde rotator manşet yırtılması onarımının iyileştirilmesinde güvenli ve muhtemelen etkili olduğunu tespit etmişlerdir (Depres-Tremblay ve ark., 2019).

Literatürdeki başka bir çalışmanın amacı, tendon kök hücrelerinin (TSC) kitosan / b-gliserofosfat / kollajen (C / GP / Co) hidrojel ile lokal olarak uygulanmasının, sıçan modelinde akut Aşil tendon yaralanmasından sonra iyileşmeyi destekleyip desteklemediğini belirlemektir. Bu çalışma, C / GP / Co hidrojel ile birleştirilmiş TSC transplantasyonunun, implantasyondan 4 ve 6 hafta sonra rejenere dokunun histolojik, immünohistokimya ve biyomekanik sonuçlarını önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermektedir. C / GP / Co hidrojelli TSC'ler, tendon hasarı için potansiyel olarak etkili bir tedavi yöntemi olduğu savunulmaktadır. Yaralanma sonrası 2. haftada tendon fibroblastlarında ve matrikslerde hafif kollajen tip III ekspresyonu vardı. Yaralanma sonrası 4. haftada tendon fibroblastlarında ve matrikslerde kollajen tip III'ün yoğun ekspresyonu artmıştı. Yara içindeki kollajen tip III ekspresyonu 6. haftada önemli ölçüde azaldı (Yang ve ark., 2018) . Bu çalışmanın sonucuna paralel olarak bizde bulgularımızda kollajen 3 ekspresyonu bulgularını elde ettik.

Literatürde yer alan tendon hasarı sonrası kitosana bağlı birçok tedavi yöntemi bulunmaktadır. PRP, insan kaynaklı pluripotent kök hücreler, 3D iskelenin doku mühendisliği ve poli nanofiber yapı olarak kitosanın oldukça geniş kullanım sahası bulunmaktadır. Jel halinde kullanıldığı gibi son yıllarda gen üzerinden ve doku mühendisliği çalışma parametrelerinde de kullanılmaktadır. Deneysel çalışmalarımızda kullandığımız yöntem olan kitosan solüsyonuna uygun olarak literatürde çok fazla çalışma yoktur. Bu nedenle bulgularımızı karşılaştırabileceğimiz pek fazla kaynak elde edemedik.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

2.,4. ve 6. haftalarda ki deney gruplarında doku iyileşmeleri fonksiyonel ve histolojik olarak araştırılmıştır. Hematoksilen ve Eozin, Masson Trikom ve TEM bulgularından birbirini destekleyen sonuçlar alınmıştır.

Hasar oluşturulduktan 2,4 ve 6 hafta sonra sakrifiye edilen ratlara ait tendonlarda tedavi yapılmayan grup olduğu halde kollajen liflerde az da olsa iyileşme gözlenmiştir. Kollajen liflerin zamanla düzenli hale geldiğini ve bu bölgede vazkülerizasyonun artmış olması dokuda tamir mekanizmasının az da olsa çalıştığını göstermektedir.

Hasar sonrası 2,4 ve 6 hafta boyunca kitosan uygulanan gruptaki deneklere ait bulgularda hasar grubuna göre çok daha iyi tenascin c ve kollajen 3 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Ökromatik yapıda nükleusa sahip tenosit sayısında artış haftalar arasında doğru orantılı bir şekilde gözlemlenmiştir. Kollajen lifler kontrol grubuna oranla daha düzensiz, çapları daha ince, sayıca daha fazla ve etrafı pürüzlü haldeyken kitosan tedavisinin 6 hafta sonrasında sayıca daha fazla, daha düzenli, kalın ve pürüzsüzdü.

2,4 ve 6 hafta boyunca hasarlı tendona uygulanan ultrason tedavisi sonucunda elde edilen bulgular kitosan uygulanan deneklere göre az da olsa daha iyi sonuç göstermiştir. Kitosan grubunda da olduğu gibi iyileşme göstergesi olan kollajen lifler, tenascin c ve kollajen 3 ekspresyonu kitosan grubuna kıyasla biraz daha iyi sonuç göstermiştir.

Hasar sonrası 2,4 ve 6 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan gruptaki deneklere ait bulgular diğer tedavi edici gruplarla karşılaştırıldığında en iyi sonuç veren grup olmuştur. Sadece kitosan ve sadece ultrason uygulanan gruplardan elde ettiğimiz veriler kendi aralarında az da bir fark olmasına karşın tedavi açısından benzer sonuçlar elde edilmiştir. Tedavi uygulanan tüm gruplar içerisinde kontrol grubuna en yakın morfolojideki kollajen lifleri 6 hafta boyunca hem ultrason hem de kitosan uygulanan gruptaki deneklerde gözlemledik. Ökromatik yapıda nükleusa sahip tenosit sayısında artışın daha fazla, düzensiz yapıda olan kollajen liflerin daha düzenli, sayıca oldukça fazla ve etraflarının çok daha pürüzsüz olduğu elde edilen bulgularla desteklenmiştir.

Çalışmamızın sonucunda iyileştirici özelliği olan kitosan ve ultrasonun beraber kullanıldıkları zaman sahip oldukları etki mekanizmalarının birbirini tetikleyerek çok daha iyi sonuç verdiklerini düşünmekteyiz. Uzun yıllardır tedavi amaçlı kullanılan terapötik ultrasonunun cerrahi sırasında uygulanan kitosanla beraber çok daha iyi sonuçlar elde edilip bir tedavi yöntemi olarak olumlu etkilerinin olabileceği kanısındayız. Bulgularımızın kliniğe yansısıyla, hem ortopedi hem de fizik tedavi ve rehabilitasyon kliniklerindeki benzer hasta gruplarının tedavi süreçlerine olumlu katkı sağlayabileceğini ve hastanın yaşam kalitesini de arttıracığını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

Abrahamsson SO. Matrix metabolism and healing in the flexor tendon. Experimental studies on rabbit tendon. Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery. 1991; 23: 1-51.

Ackermann PW, Li J, Finn A, Ahmed M, Kreichbergs A. Autonomic innervation of tendons, ligaments and joint capsules. A morphologic and quantitative study in the rat. Journal of Orthopaedic Research. 2001; 19 (3): 372-378.

Ahmed I, Lagopoulos M, McConnell P, Soames R, Sefton G. Blood supply of the achilles tendon. Journal of orthopaedic research. 1998; 16 (5): 591-596.

Alfredson H, Lorentzon R. Chronic achilles tendinosis. Sports Medicine. 2000; 29 (2): 135-146.

Amiel D, Akeson WH, Harwood FL, Frank CB. Stress deprivation effect on metabolic turnover of the medial collateral ligament collagen. A comparison between nine-and 12-week immobilization. Clinical orthopaedics and related research. 1983; (172): 265-270.

Arndt A, Notermans H, Koebke J, Brüggemann G. Zur fasertextur der menschlichen achillessehne-eine analyse durch mazeration. Der Preparator. 1997; 43: 67-70.

Ashton DF, Draper DO, Myrer J. W. Temperature rise in human muscle during ultrasound treatments using flex-all as a coupling agent. Journal of athletic training. 1998; 33 (2): 136.

Aspden R, Bornstein N, Hukins D. Collagen organisation in the interspinous ligament and its relationship to tissue function. Journal of anatomy. 1987; 155: 141.

Astroöm M, Westlin N. Blood flow in the human achilles tendon assessed by laser doppler flowmetry. Journal of orthopaedic research. 1994; 12 (2): 246-252.

Begin, A, Van Calsteren MR. Antimicrobial films produced from chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 1999; 26 (1): 63-67.

Benjamin M. Functional and developmental anatomy of tendons and ligaments. *Repetitive Morton. Disorders of the Upper Extremity*. 1995: 185-203.

Best TM, Collins A, Lilly EG, Seaber AV, Goldner R, Murrell GA. Achilles tendon healing: A correlation between functional and mechanical performance in the rat. *Journal of orthopaedic research*. 1993; 11 (6): 897-906.

Birk DE, Mayne R. Localization of collagen types i, iii and v during tendon development. Changes in collagen types i and iii are correlated with changes in fibril diameter. *European journal of cell biology*. 1997; 72 (4): 352-361.

Birk DE, Trelstad RL. Extracellular compartments in tendon morphogenesis: Collagen fibril, bundle, and macroaggregate formation. *The Journal of cell biology*. 1986; 103 (1): 231-240.

Birk DE, Zycband E. Assembly of the collagenous extracellular matrix during tendon development in the chicken limb. *Progress in clinical and biological research*. 1993; 383b: 523-532.

Birk DE, Zycband E. Assembly of the tendon extracellular matrix during development. *J Anat*. 1994; 184 ( Pt 3): 457-463.

Birk DE, Zycband EI, Winkelmann DA, Trelstad RL. Collagen fibrillogenesis in situ. Discontinuous segmental assembly in extracellular compartments. *Ann N Y Acad Sci*. 1990; 580: 176-194.

Chan AK, Myre JW, Measom GJ, Draper DO. Temperature changes in human patellar tendon in response to therapeutic ultrasound. *Journal of athletic training*. 1998; 33 (2): 130.



Chen Q, Lu H, Yang H. Chitosan inhibits fibroblasts growth in achilles tendon via  $\text{tgf-}\beta 1/\text{smad3}$  pathway by mir-29b. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2014; 7 (12): 8462.

Choi BK, Kim KY, Yoo YJ, Choi JH, Kim CY. In vitro antimicrobial activity of a chitooligosaccharide mixture against *actinobacillusactinomycetemcomitans* and *streptococcus mutans*. *International journal of antimicrobial agents*. 2001; 18 (6): 553-557.

Corrao G, Zambon A, Bertu L, Mauri A, Paleari V, Rossi C, Venegoni M. Evidence of tendinitis provoked by fluoroquinolone treatment. *Drug safety*. 2006; 29 (10): 889-896.

Cummins E, Anson B. The structure of the calcaneal tendon (of achilles) in relation to orthopedic surgery, with additional observations on the plantaris muscle. *Surgery, gynecology & obstetrics*. 1946; 83: 107-116.

De Deyne PG, Kirsch-Volders M. In vitro effects of therapeutic ultrasound on the nucleus of human fibroblasts. *Physical Therapy*. 1995; 75 (7): 629-634.

Deepthi S, Sundaram MN, Kadavan JD, Jayakumar R. Layered chitosan-collagen hydrogel/aligned plla nanofiber construct for flexor tendon regeneration. *Carbohydrate polymers*. 2016; 153: 492-500.

Demir H, Menku P, Kirnap M, Calis M, Ikizceli I. Comparison of the effects of laser, ultrasound, and combined laser + ultrasound treatments in experimental tendon healing. *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*. 2004; 35 (1): 84-89.

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. *Journal of biomaterials applications*. 2019; 33 (6): 792-807.

Draper DO, Schulthies S, Sorvisto P, Hautala AM. Temperature changes in deep muscles of humans during ice and ultrasound therapies: An in vivo study. *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*. 1995; 21 (3): 153-157.

Dyson M. Mechanics involved in therapeutic ultrasound. *Physiotherapy*. 1987; 73: 116-120.

Dyson M, Pond J, Joseph J, Warwick R. The stimulation of tissue regeneration by means of ultrasound. *Clinical Science*. 1968; 35 (2): 273.

Enwemeka CS. The effects of therapeutic ultrasound on tendon healing. A biomechanical study. *American journal of physical medicine & rehabilitation*. 1989a; 68 (6): 283-287.

Enwemeka CS. Inflammation, cellularity, and fibrillogenesis in regenerating tendon: Implications for tendon rehabilitation. *Physical therapy*. 1989b; 69 (10): 816-825.

Enwemeka CS. Functional loading augments the initial tensile strength and energy absorption capacity of regenerating rabbit achilles tendons. *American journal of physical medicine & rehabilitation*. 1992; 71 (1): 31-38.

Enwemeka CS, Rodriguez O, Mendosa S. The biomechanical effects of low-intensity ultrasound on healing tendons. *Ultrasound in medicine & biology*. 1990; 16 (8): 801-807.

Enwemeka CS, Spielholz NI, Nelson AJ. The effect of early functional activities on experimentally tenotomized achilles tendons in rats. *Am J Phys Med Rehabil*. 1988; 67 (6): 264-269.

Farkas LG, McCain W, Sweeney P, Wilson W, Hurst L, Lindsay W. An experimental study of the changes following silastic rod preparation of a new tendon sheath and subsequent tendon grafting. *JBJS*. 1973; 55 (6): 1149-1158.

Frieder S, Weisberg J, Fleming B, Stanek A. A pilot study: The therapeutic effect of ultrasound following partial rupture of achilles tendons in male rats. *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*. 1988; 10 (2): 39-46.

Fujita M, Hukuda S, Doida Y. Experimental study of intrinsic healing of the flexor tendon: Collagen synthesis of the cultured flexor tendon cells of the canine. *Nihon Seikeigeka Gakkai Zasshi*. 1992; 66 (4): 326-333.

Funakoshi T, Majima T, Iwasaki N, Suenaga N, Sawaguchi N, Shimode K, Nishimura, S. Application of tissue engineering techniques for rotator cuff regeneration using a chitosan-based hyaluronan hybrid fiber scaffold. *The American journal of sports medicine*. 2005; 33 (8): 1193-1201.

Fyfe MC, Chahl L. A. Mast cell degranulation and increased vascular permeability induced by therapeutic ultrasound in the rat ankle joint. *British journal of experimental pathology*. 1984; 65 (6): 671.

Galloway M, Jokl P, Dayton O. Achilles tendon overuse injuries. *Clinics in sports medicine*. 1992; 11 (4): 771-782.

Gan B, Huys S, Sherebrin M, Scillely C. The effects of ultrasound treatment on flexor tendon healing in the chicken limb. *Journal of Hand Surgery*. 1995; 20 (6): 809-814.

Gelberman RH, Manske PR, Akeson WH, Woo SLY, Lundborg G, Amiel D. Flexor tendon repair. *Journal of Orthopaedic Research*. 1986; 4 (1): 119-128.

Gelberman RH, Manske PR, Berg JSV, Lesker PA, Akeson WH. Flexor tendon repair in vitro: A comparative histologic study of the rabbit, chicken, dog, and monkey. *Journal of Orthopaedic Research*. 1984; 2 (1): 39-48.

Ghahary A, Shen YJ, Scott PG, Gong Y, Tredget EE. Enhanced expression of mRNA for transforming growth factor- $\beta$ , type I and type III procollagen in human post-burn hypertrophic scar tissues. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1993; 122 (4): 465-473.

Goddard D, Revell P, Cason J, Gallagher S, Currey H. Ultrasound has no anti-inflammatory effect. *Annals of the rheumatic diseases*. 1983; 42 (5): 582-584.

Gum SL, Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS. Combined ultrasound, electrical stimulation, and laser promote collagen synthesis with moderate changes in tendon biomechanics<sup>1</sup>. *American journal of physical medicine & rehabilitation*. 1997; 76 (4): 288-296.

Hadjigryrou M, McLeod K, Ryaby JP, Rubin C. Enhancement of fracture healing by low intensity ultrasound. *Clinical orthopaedics and related research*. 1998; 355: S216-S229.

Harpaz D, Chen X, Francis CW, Marder VJ, Meltzer RS. Ultrasound enhancement of thrombolysis and reperfusion in vitro. *Journal of the American College of Cardiology*. 1993; 21 (6): 1507-1511.

Harvey W, Dyson M, Pond J, Grahame R. The stimulation of protein synthesis in human fibroblasts by therapeutic ultrasound. *Rheumatology*. 1975; 14 (4): 237-237.

Holmes GB, Lin J. Etiologic factors associated with symptomatic achilles tendinopathy. *Foot & Ankle International*. 2006; 27 (11): 952-959.

Hooley C, Cohen R. A model for the creep behaviour of tendon. *International Journal of Biological Macromolecules*. 1979; 1 (3): 123-132.

Hyman J, Rodeo S. A. Injury and repair of tendons and ligaments. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics*. 2000; 11 (2): 267-288.

Hynes RO. Cell adhesion: Old and new questions. *Trends in Genetics*. 1999; 15 (12): M33-M37.

Ingraham JM, Hauck RM, Ehrlich HP. Is the tendon embryogenesis process resurrected during tendon healing? *Plastic and reconstructive surgery*. 2003; 112 (3): 844-854.

Iozzo RV. The biology of the small leucine-rich proteoglycans functional network of interactive proteins. *Journal of Biological Chemistry*. 1999; 274 (27): 18843-18846.

Ippolito E, Natali PG, Postacchini F, Accinni L, De CM. Morphological, immunochemical, and biochemical study of rabbit achilles tendon at various ages. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*. 1980; 62 (4): 583-598.

Jackson BA, Schwane JA, Starcher BC. Effect of ultrasound therapy on the repair of achilles tendon injuries in rats. *Medicine and science in sports and exercise*. 1991; 23 (2): 171-176.

Jozsa L, Balint JB, Reffy A, Demel Z. Histochemical and ultrastructural study of adult human tendon. *Acta histochemica*. 1979; 65 (2): 250-257.

Jozsa L, Kannus P, Balint J, Reffy A. Three-dimensional infrastructure of human tendons. *Cells Tissues Organs*. 1991; 142 (4): 306-312.

Jozsa LG. *Human tendons: Anatomy, physiology and pathology*. Human kinetics. 1997.

Kader D, Saxena A, Movin T, Maffulli N. Achilles tendinopathy: Some aspects of basic science and clinical management. *British journal of sports medicine*. 2002; 36 (4): 239-249.

Kannus P. Etiology and pathophysiology of chronic tendon disorders in sports. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 1997; 7 (2): 78-85.

Kannus P, Jozsa L. Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*. 1991; 73 (10): 1507-1525.

Kannus P, Jozsa L, Jarvinen TA, Jarvinen TL, Kvist M, Natri A, Jarvinen M. Location and distribution of non-collagenous matrix proteins in musculoskeletal tissues of rat. *The Histochemical journal*. 1998; 30 (11): 799-810.

Kannus P, Jozsa L, Jarvinnen M. Basic science of tendons. Principles and practice of orthopaedic sports medicine. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2000; 2000: 21-37.21.

Kastelic J, Galeski A, Baer E. The multicomposite structure of tendon. Connective tissue research. 1978; 6 (1): 11-23.

Kellett J. Acute soft tissue injuries--a review of the literature. Medicine and science in sports and exercise. 1986; 18 (5): 489-500.

Ker RF. Dynamic tensile properties of the plantaris tendon of sheep (ovis aries). Journal of Experimental Biology. 1981; 93 (1): 283-302.

Khan RJ, Fick D, Keogh A, Crawford J, Brammar T, Parker M. Treatment of acute achilles tendon ruptures: A meta-analysis of randomized, controlled trials. JBJS. 2005; 87 (10): 2202-2210.

Khor E, Lim LY. Implantable applications of chitin and chitosan. Biomaterials. 2003; 24 (13): 2339-2349.

Kitchen S. A review of therapeutic ultrasound. Physiotherapy. 1990; 76: 593-600.

Knight CA, Rutledge CR, Cox ME, Acosta M, Hall SJ. Effect of superficial heat, deep heat, and active exercise warm-up on the extensibility of the plantar flexors. Physical Therapy. 2001; 81 (6): 1206-1214.

Komi PV. Relevance of in vivo force measurements to human biomechanics. Journal of biomechanics. 1990; 23: 23-25.

Koob TJ. Biomimetic approaches to tendon repair. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. 2002; 133 (4): 1171-1192.

Kurtz CA, Loebig TG, Anderson DD, De Meo PJ, Campbell PG. Insulin-like growth factor i accelerates functional recovery from achilles tendon injury in a rat model. The American journal of sports medicine. 1999; 27 (3): 363-369.

Kuzgun NK, Inanli AG. Kitosan üretimi ve özellikleri İle kitosanın kullanım alanları. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi. 2013; (2): 16-21.

Kvist H, Kvist M. The operative treatment of chronic calcaneal paratenonitis. The Journal of bone and joint surgery. British volume. 1980; 62 (3): 353-357.

Kvist M. Achilles tendon injuries in athletes. Sports Medicine. 1994; 18 (3): 173-201.

Kvist M, Joazsa L, Jarvinen MJ, Kvist H. Chronic achilles paratenonitis in athletes: A histological and histochemical study. Pathology. 1987; 19 (1): 1-11.

Langberg H, Bulow J, Kjaer M. Blood flow in the peritendinous space of the human achilles tendon during exercise. Acta physiologica scandinavica. 1998; 163 (2): 149-153.

Larsen A, Kristensen G, Thorlacius-Ussing O, Oxlund H. The influence of ultrasound on the mechanical properties of healing tendons in rabbits. Acta orthopaedica. 2005; 76 (2): 225-230.

Leadbetter W. Cell-matrix response in tendon injury. Clinics in sports medicine. 1992; 11 (3): 533-578.

Leadbetter WB, Mooar PA, Lane G, Lee S. The surgical treatment of tendinitis. Clin Sports Med. 1992; 11 (4): 679-712.

Lephart SM, Pincivero DM, Giraido JL, Fu FH. The role of proprioception in the management and rehabilitation of athletic injuries. The American journal of sports medicine. 1997; 25 (1): 130-137.

Lu JX, Prudhommeaux F, Meunier A, Sedel L, Guillemin G. Effects of chitosan on rat knee cartilages. Biomaterials. 1999; 20 (20): 1937-1944.

Maffulli N. Rupture of the achilles tendon. J Bone Joint Surg Am. 1999; 81 (7): 1019-1036.

Maffulli N, Benazzo, F. Basic science of tendons. Sports Medicine and Arthroscopy Review. 2000; 8 (1): 1-5.

Maffulli N, Irwin AS, Kenward MG, Smith F, Porter R W. Achilles tendon rupture and sciatica: A possible correlation. *British Journal of Sports Medicine*. 1998; 32 (2): 174.

Maffulli N, Regine R, Angelillo M, Capasso G, Filice S. Ultrasound diagnosis of achilles tendon pathology in runners. *British journal of sports medicine*. 1987; 21 (4): 158-162.

Manske PR, Lesker PA. Biochemical evidence of flexor tendon participation in the repair process—an in vitro study. *Journal of Hand Surgery*. 1984; 9 (2): 117-120.

Maxwell L. Therapeutic ultrasound: Its effects on the cellular and molecular mechanisms of inflammation and repair. *Physiotherapy*. 1992; 78 (6): 421-426.

McWhorter JW, Francis R, Heckmann R. Influence of local steroid injections on traumatized tendon properties: A biomechanical and histological study. *The American journal of sports medicine*. 1991; 19 (5): 435-439.

Melamed E, Beutel B, Robinson D. Enhancement of acute tendon repair using chitosan matrix. *American journal of orthopedics (Belle Mead, NJ)*. 2015; 44 (5): 212-216.

Messner K, Wei Y, Andersson B, Gillquist J, Rasanen T. Rat model of achilles tendon disorder. *Cells Tissues Organs*. 1999; 165 (1): 30-39.

Mi FL, Wu YB, Shyu SS, Chao AC, Lai JY, Su CC. Asymmetric chitosan membranes prepared by dry/wet phase separation: A new type of wound dressing for controlled antibacterial release. *Journal of Membrane Science*. 2003; 212 (1-2): 237-254.

Michna H. Organisation of collagen fibrils in tendon: Changes induced by an anabolic steroid. *Virchows Archiv B*. 1986; 52 (1): 75.

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. *Biochemistry and cell biology*. 1994; 72 (9-10): 403-409.



Murrell GA, Lilly EG, Davies H, Best TM, Goldner RD, Seaber AV. The achilles functional index. *Journal of Orthopaedic Research*. 1992; 10 (3): 398-404.

Muzzarelli R, Mattioli-Belmonte M, Pugnali A, Biagini G. Biochemistry, histology and clinical uses of chitins and chitosans in wound healing. *Exs*. 1999; 87: 251-264.

Muzzarelli R, Zucchini C, Ilari P, Pugnali A, Belmonte MM, Biagini G, Castaldini C. Osteoconductive properties of methylpyrrolidinone chitosan in an animal model. *Biomaterials*. 1993; 14 (12): 925-929.

Muzzarelli RA, Ramos V, Stanic V, Dubini B, Mattioli-Belmonte M, Tosi G, Giardino R. Osteogenesis promoted by calcium phosphate n, n-dicarboxymethyl chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 1998; 36 (4): 267-276.

Ng CO, Ng GY, See EK, Leung MC. Therapeutic ultrasound improves strength of achilles tendon repair in rats. *Ultrasound in medicine & biology*. 2003; 29 (10): 1501-1506.

No HK, Park NY, Lee SH, Meyers SP. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International journal of food microbiology*. 2002; 74 (1-2): 65-72.

O'Brien M. Functional anatomy and physiology of tendons. *Clinics in sports medicine*. 1992; 11 (3): 505-520.

O'Brien M. Structure and metabolism of tendons. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 1997; 7 (2): 55-61.

O'Brien M. The anatomy of the achilles tendon. *Foot and ankle clinics*. 2005; 10 (2): 225-238.

Oakes BW. Tissue healing and repair: Tendons and ligaments. *Rehabilitation of sports injuries: scientific basis*. 2003: 28-98.

Okamoto Y, Kawakami K, Miyatake K, Morimoto M, Shigemasa Y, Minami S. Analgesic effects of chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 2002; 49 (3): 249-252.

Okamoto Y, Southwood L, Stashak T, Norrdin R, Nelson A, Minami S, Shigemasa Y. Effect of chitin on nonwoven fabric implant in tendon healing. *Carbohydrate polymers*. 1997; 33 (1): 33-38.

Ozmeric N, Ozcan G, Haytac CM, Alaaddinoglu EE, Sargon MF, Senel S. Chitosan film enriched with an antioxidant agent, taurine, in fenestration defects. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2000; 51 (3): 500-503.

Pins GD, Christiansen DL, Patel R, Silver FH. Self-assembly of collagen fibers. Influence of fibrillar alignment and decorin on mechanical properties. *Biophysical journal*. 1997; 73 (4): 2164.

Pogany G, Vogel KG. The interaction of decorin core protein fragments with type I collagen. *Biochemical and biophysical research communications*. 1992; 189 (1): 165-172.

Prudden JF, Migel P, Hanson P, Friedrich L, Balassa L. The discovery of a potent pure chemical wound-healing accelerator. *The American Journal of Surgery*. 1970; 119 (5): 560-564.

Rada, J. A., Cornuet, P. K., & Hassell, J. R. Regulation of corneal collagen fibrillogenesis in vitro by corneal proteoglycan (lumican and decorin) core proteins. *Experimental eye research*. 1993; 56 (6): 635-648.

Rantanen J, Thorsson O, Wollmer P, Hurme T, Kalimo H. Effects of therapeutic ultrasound on the regeneration of skeletal myofibers after experimental muscle injury. *The American journal of sports medicine*. 1999; 27 (1): 54-59.

Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS. Matrix remodeling in healing rabbit achilles tendon. *Wound Repair and Regeneration*. 1999; 7 (6): 518-527.

Riley GP, Harrall RL, Cawston TE, Hazleman BL, Mackie EJ. Tenascin-c and human tendon degeneration. *The American journal of pathology*. 1996; 149 (3): 933.

Roberts M, Rutherford J, Harris D. The effect of ultrasound on flexor tendon repairs in the rabbit. *Hand*. 1982; (1): 17-20.

Robertson V, Ward A, Low J, Reed A. *Electrotherapy explained: Principles and practice*: Elsevier Health Sciences; 2006;142-148.

Romanelli DA, Almekinders LC, Mandelbaum BR. Achilles rupture in the athlete: Current science and treatment. *Sports Medicine and Arthroscopy Review*. 2000; 8 (4): 377-386.

Russell JE, Manske PR. Collagen synthesis during primate flexor tendon repair in vitro. *Journal of orthopaedic research*. 1990; 8 (1): 13-20.

Sanford, P. A. *Chitosan: Commercial uses and potential applications*. Chitin and chitosan. 1989: 51-59.

Schepsis AA, Jones H, Haas AL. Achilles tendon disorders in athletes. *The American journal of sports medicine*. 2002; 30 (2): 287-305.

Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: Healing and repair. *JBJS*. 2005; 87 (1): 187-202.

Snow SW, Bohne WH, DiCarlo E, Chang VK. Anatomy of the achilles tendon and plantar fascia in relation to the calcaneus in various age groups. *Foot & ankle international*. 1995; 16 (7): 418-421.

Sode J, Obel N, Hallas J, Lassen A. Use of fluroquinolone and risk of achilles tendon rupture: A population-based cohort study. *European journal of clinical pharmacology*. 2007; 63 (5): 499-503.

Stevenson JH, Pang CY, Lindsay WK, Zuker RM. Functional, mechanical, and biochemical assessment of ultrasound therapy on tendon healing in the chicken toe. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1986; 77 (6): 965-972.

Stillwell D. The innervation of tendons and aponeuroses. *Am J Anat*. 1957; 100: 289-317.

Su CH, Sun CS, Juan SW, Ho HO, Hu CH, Sheu MT. Development of fungal mycelia as skin substitutes: Effects on wound healing and fibroblast. *Biomaterials*. 1999; 20 (1): 61-68.

Suh JKF, Matthew HW. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review. *Biomaterials*. 2000; 21 (24): 2589-2598.

Suzuki Y, Okamoto Y, Morimoto M, Sashiwa H, Saimoto H, Tanioka S, Minami S. Influence of physico-chemical properties of chitin and chitosan on complement activation. *Carbohydrate Polymers*. 2000; 42 (3): 307-310.

Senel S, McClure SJ. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced drug delivery reviews*. 2004; 56 (10): 1467-1480.

Tasker RAR, Ross S, Dohoo SE, Elson C. Pharmacokinetics of an injectable sustained-release formulation of morphine for use in dogs. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 1997; 20 (5): 362-367.

Tatari H, Gülbahar S, Manisalı M. Aşıl tendinopatisi. *TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Journal*. 2005; 4 (3-4): 77-86.

Ter Haar G. Biological effects of ultrasound in clinical applications. *Ultrasound: its chemical, physical, and biological effects*. 1988: 305-320.

Ter Haar G. Therapeutic ultrasound. *European Journal of ultrasound*. 1999; 9 (1): 3-9.

Ter Haar G, Dyson M, Oakley E. The use of ultrasound by physiotherapists in Britain, 1985. *Ultrasound in medicine & biology*. 1987; 13 (10): 659-663.

Ter Haar G, Hopewell J. Ultrasonic heating of mammalian tissues in vivo. *The British journal of cancer. Supplement.* 1982; 5: 65.

Thermann H, Beck A, Holch M, Biewener A, Bosch U, Frerichs O. Functional treatment of acute achilles tendon rupture. A histological, immunohistological and ultrasonographic analysis in the experiment. *Der Unfallchirurg.* 1999; 102 (6): 447-457.

Thermann H, Frerichs O, Biewener A, Krettek C, Schandelmaier P. Biomechanical studies of human achilles tendon rupture. *Der Unfallchirurg.* 1995; 98 (11): 570-575.

Tillan L, Hertling D. Properties of dense connective tissue and wound healing. *Management of common musculoskeletal disorders.* In: Lippincott, Philadelphia: 1996.

Turner S, Powell E, Ng C. The effect of ultrasound on the healing of repaired cockerel tendon: Is collagen crosslinkage a factor? *The Journal of Hand Surgery: British & European Volume.* 1989; 14 (4): 428-433.

Ueno H, Mori T, Fujinaga T. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. *Advanced drug delivery reviews.* 2001; 52 (2): 105-115.

Ueno H, Nakamura F, Murakami M, Okumura M, Kadosawa T, Fujinaga T. Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and the growth factors production by macrophages. *Biomaterials.* 2001; 22 (15): 2125-2130.

Usami Y, Okamoto Y, Takayama T, Shigemasa Y, Minami S. Chitin and chitosan stimulate canine polymorphonuclear cells to release leukotriene b4 and prostaglandin e2. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials.* 1998; 42 (4): 517-522.

Vailas A, Tipton C, Laughlin H, Tchong T, Matthes R. Physical activity and hypophysectomy on the aerobic capacity of ligaments and tendons. *Journal of Applied physiology.* 1978; 44 (4): 542-546.

Wang JHC. Mechanobiology of tendon. *Journal of biomechanics*. 2006; 39 (9): 1563-1582.

Wang X, Ma J, Wang Y, He B. Bone repair in radii and tibias of rabbits with phosphorylated chitosan reinforced calcium phosphate cements. *Biomaterials*. 2002; 23 (21): 4167-4176.

Whittaker P, Canham PB. Demonstration of quantitative fabric analysis of tendon collagen using two-dimensional polarized light microscopy. *Matrix*. 1991; 11 (1): 56-62.

Yang Z, Cao H, Gao S, Yang M, Lyu J, Tang K. Effect of tendon stem cells in chitosan/ $\beta$ -glycerophosphate/collagen hydrogel on achilles tendon healing in a rat model. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2018; 24: 4633.

Young BB, Gordon MK, Birk DE. Expression of type xiv collagen in developing chicken tendons: Association with assembly and growth of collagen fibrils. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*. 2000; 217 (4): 430-439.

Young RG, Butler DL, Weber W, Caplan AI, Gordon SL, Fink DJ. Use of mesenchymal stem cells in a collagen matrix for achilles tendon repair. *Journal of Orthopaedic Research*. 1998; 16 (4): 406-413.

Young S, Dyson M. The effect of therapeutic ultrasound on angiogenesis. *Ultrasound in medicine & biology*. 1990; 16 (3): 261-269.

Zantop T, Tillmann B, Petersen W. Quantitative assessment of blood vessels of the human achilles tendon: An immunohistochemical cadaver study. *Archives of orthopaedic and trauma surgery*. 2003; 123 (9): 501-504.

Zhang C, Yuan H, Liu H, Chen X, Lu P, Zhu T, Zhang Y. Well-aligned chitosan-based ultrafine fibers committed teno-lineage differentiation of human induced pluripotent stem cells for achilles tendon regeneration. *Biomaterials*. 2015; 53: 716-730.

Zhang G, Young B, Ezura Y, Favata M, Soslowsky L, Chakravarti S, Birk DE. Development of tendon structure and function: Regulation of collagen fibrillogenesis. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2005; 5 (1): 5-21.

Zhang G, Young BB, Birk DE. Differential expression of type xii collagen in developing chicken metatarsal tendons. *Journal of anatomy.* 2003; 202 (5): 411-420.

Zhang H, Sheng ZJ, Hou CL. Effect of chitosan membrane on tendon adhesion and healing. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery.* 1999; 13 (6): 382-385.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Rahime	<b>Uyruğu</b>	T.C.
<b>Soyadı</b>	ŞEKERCİ	<b>Tel no</b>	05359895997
<b>Doğum tarihi</b>	14.08.1985	<b>e-posta</b>	rsekerce@akdeniz.edu.tr

### Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
<b>Lise</b>	Metin Nuran Çakallıklı Anadolu Lisesi	2004
<b>Lisans</b>	Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2009
<b>Yüksek Lisans</b>	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi AD.	2013
<b>Doktora</b>	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi A.D.	2013-Devam ediyor

### İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
<b>Araştırma Görevlisi</b>	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı	2011-2018
<b>Stj.Doktora Öğrencisi</b>	Medical University of Vienna Anatomi Anabilim Dalı, Vienna, Austria	01.10.2018- 01.12.2018

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
<b>İngilizce</b>	Yökdil	71,75

### Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
L-name ile hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda kalp ve böbrek dokusundaki Apelin ekspresyonu.	BAP Yüksek Lisans 2013.02.0122.002	2012-2013
“Avuç İçinin Duyusal Sınır Sonlanmalarının Değerlendirilmesi: Anatomik ve İmmunohistokimyasal Çalışma”	TÜBİTAK 1002 Hızlı Destek projesi, Proje no: 114S791	2014-2016
Plastine materyal ile eğitimin lisans öğrencilerinin başarı düzeylerine etkisi	BAP Araştırma Projesi TSA-2015-710	2016-2017



Fasiyal sinir hasarı sonrası terapötik ultrasonun paralize vibriseal kasta poli-innervasyon paterni ve kollateral aksonal dallanma üzerine etkisi	Tübitak Projesi, 214S564,	2015-2018
Ratlarda Aşıl Tendon İyileşmesinde Kitosan ve Terapötik Ultrason Tedavisinin Etkisi: Fonksiyonel ve Histolojik Çalışma	BAP Doktora Projesi, TDK-2016-2061	2017-2019
Kronik Deltametrin Uygulaması Sonrası Sirinjik Asidin Hipokampüs ve Öğrenme Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması	BAP Doktora Projesi, TDK-2017-2361	2017-2018
Sağlıklı Bireylerde Emosyonel Yüz Hareketlerinin Üç Boyutlu Olarak Değerlendirilmesi	BAP Normal Araştırma Projesi TSA-2018-3815	2018- devam ediyor

### Yayımlar ve Bildiriler:

<b>SCI, SSCI, AHCI Indexlerine Giren Dergilerde Yayımlanan Makaleler</b>
1.Sekerci R, Sarikcioglu L. Hoover's sign., J Postgrad Med. 2013 Jul-Sep;59(3):216-7. doi: 10.4103/0022-3859.118041.
2.Ozcanli H, Sekerci R, Keles N. Sesamoid disorders of the hand., J Hand Surg Am. 2015 Jun;40(6):1231-2. doi: 10.1016/j.jhsa.2015.01.029. Epub 2015 Mar 11. Review
3.Ozsoy U, Sekerci R, Ogut E. Effect of sitting, standing, and supine body positions on facial soft tissue: detailed 3D analysis. Int J Oral Maxillofac Surg. 2015 Oct;44(10):1309-16. doi: 10.1016/j.ijom.2015.06.005. Epub 2015 Jun 24
4.Egerci OF, Kose O, Turan A, Kilicaslan OF, Sekerci R, Keles-Celik N. Prevalence and distribution of the fabella: a radiographic study in Turkish subjects. Folia Morphol (Warsz). 2017;76(3):478-483. doi: 10.5603/FM.a2016.0080. Epub 2016 Dec 27. PMID: 28026849
5.Keles-Celik N, Kose O, Sekerci R, Aytac G, Turan A, Güler F. Accessory Ossicles of the Foot and Ankle: Disorders and a Review of the Literature.Cureus. 2017 Nov 26;9(11):e1881. doi: 10.7759/cureus.1881. Review.PMID: 29387510
6.Sekerci R, Acar N, Tepekoy F, Ustunel I, Keles-Celik N. Apelin/APJ expression in the heart and kidneys of hypertensive rats.Acta Histochem. 2018 Apr;120(3):196-204. doi: 10.1016/j.acthis.2018.01.007. Epub 2018 Feb 1. PMID: 29395316

7.Ozsoy U, Ogut E, Sekerci R, Hizay A, Rink S, Angelov DN.Effect of pulsed and continuous ultrasound therapy on the degree of collateral axonal branching at the lesion site, polyinnervation of motor endplates and recovery of motor function after facial nerve reconstruction. Anat Rec (Hoboken). 2019 Apr 5. doi: 10.1002/ar.24122
8.Ozsoy U, Sekerci R, Hizay A, Yildirim Y, Uysal H. Assessment of reproducibility and reliability of facial expressions using 3D handheld scanner. J Craniomaxillofac Surg. 2019 Mar 25. pii: S1010-5182(18)31173-9. doi: 10.1016/j.jcms.2019.03.022.

### **Diğer Dergilerde Yayımlanan Makaleler:**

1.Sekerci R., Sindel M., Ozgür O., Aytac G., Sindel H.T., "Absence of right posterior communicating artery", Int J Anat Var. , vol. 10, pp.61-62, 2017
--

### **Hakemli Kongre/Sempozyum Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar:**

<b>ULUSLARARASI</b>
1. Keles N, Aslan FY, Karabekir HS, Mas N, Sekerci R, Karaali K. Incidence of Labbe and troland vens: MR venography study. IV th International Symposium of clinical and applied Anatomy (ISCAA) 28 June-1 July Ankara, Turkey 2012.
2. Keles N, Üzel M, Arıcan RY, Sekerci R, Şenol Y. The learning techniques of the studentns in anatomy education and their modality to the cadaver. IV th International Symposium of clinical and applied Anatomy (ISCAA) ISCAA s: 94-95, 28 June-1 July Ankara, Turkey 2012.
3. Özer S. İmre N, Güvenç İ, Sekerci R, Keleş N, Özcanlı H. Incidence of sesamoid bones in the hand: a radiographic study of the Turkis subjects. IV th International Symposium of clinical and applied Anatomy (ISCAA) s: 69, 28 June-1 July Ankara, Turkey 2012
4. Tezer T, Arıcan RY, Güngör İ, Sekerci R, Oğuz N, Kaya K, Sindel M The division levels of the sciatic nevre: a cadaver study International Symposium of Clinical and Applied Anatomy (ISCAA) XIV the National Congress of Anatomy 28th June- 1st July Ankara, Turkey 2012
5. Aslan F, Keles-Çelik N, Sekerci R. “ A. novel joint sural block injection technigue for low back pain and sciatica, Lumbar disc herniation, How it’s effect the disc resolution and pain reduction rate.” ISMISS ( Int. 8th congress) Istanbul, TURKEY, Nowember 6-8 2015
6. Sekerci R, Sindel M, Ozgur O, Aytac G, Sindel T., “Absence Of Right Posterior Communicating Artery” XXIV International Symposium on Morphological Sciences (ISMS) Istanbul, TURKEY, 02-06 Eylül 2015
7. Ozsoy U., Sekerci R., Ogut E., "3D analysis of facial mask in the sitting standing and supine body positions", XXIV International Symposium on Morphological Sciences (ISMS) Istanbul, TURKEY, 02-06 Eylül 2015
8. Sekerci R. Keles-Celik N, Acar N, Ustunel I. “Apelin expression of L-name induced hypertension in rat kidney tissues.” International Symposium of clinical and

applied Anatomy (ISCAA) ISCAA, Bratislava, Slovakia 17-20 september 2015
9. Ogut E., Sekerci R., Akcay G., Yildirim FB., Derin N. "Assesment Of Syringic Acid And Deltamethrin With Learning And Memory Tests." XXVI International Symposium on Morphological Sciences (ISMS), Prague, Czech Republic, 5-7 July 2018
10. Keles-Celik N, Sekerci R., Ogut E., Akcay G., "Analysis of Locomotor Activity in Achilles Tendon Therapy" .” XXVI International Symposium on Morphological Sciences (ISMS), Prague, Czech Republic, 5-7 July 2018
ULUSAL
1. Keles N. Sekerci R, Özcanlı H. "Scaphoid Kemiğin Konjenital Yokluğu" 15. Ulusal Anatomi Kongresi S: 88, Samsun 5-8 Eylül 2013
2. Sekerci R, Keles N, Acar N, Üstünel I. L-name İle Hipertansiyon Oluşturulmuş Sıçanlarda Kalp Dokusundaki Apelin Ekspresyonu. 15. Ulusal Anatomi Kongresi Samsun 5-8 Eylül 2013
3. Sindel A., Şekerci R., "Buccal Sinirler", Erzurum Anatomi Günleri 2014 , ERZURUM, TÜRKİYE, 20-22 Şubat 2014
4. Şekerci R, Keleş Çelik N, Özcanlı H. Elin Sesamoid Kemikleri. 17. Ulusal Anatomi Kongresi Eskişehir 5-9 Eylül 2016
5. Keleş Çelik N, Şekerci R, Köse Ö. Ayak Bileği Çevresindeki Aksesuar Kemikçikler. 17. Ulusal Anatomi Kongresi Eskişehir 5-9 Eylül 2016
6. Sarıkcıoğlu L, Hizay A, Özsoy U, Şekerci R, Angelov DN. N.hypoglossus'un Minimal Hasarı Sonrası Aorta "Y" Tüpünün Uç-Yan Hypoglossal Fasiyal Sinir Tamirinde Kullanımı. 17. Ulusal Anatomi Kongresi Eskişehir 5-9 Eylül 2016
7. Hizay A, Şenol Y, Özsoy U, Sekerci R, Karakoyun Z, Süzen B. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Uygulamalarına Başlayan Dönem I Öğrencilerinin Öğrenme Stilleri. 17. Ulusal Anatomi Kongresi Eskişehir 5-9 Eylül 2016
8. Şekerci R, Ögüt E, Keleş Çelik N, Importance Of The Internal Acoustic Meatus In Neuro-Otological Surgery. 18. Ulusal Anatomi Kongresi Bolu/ Abant 25-27 Eylül 2017
9. Egerci OF, Kose O, Turan A, Kilicaslan OF, Sekerci R, Keles-Celik N. Prevalence and distribution of the fabella: a radiographic study in Turkish subjects. 18. Ulusal Anatomi Kongresi Bolu/ Abant 25-27 Eylül 2017

#### **Katıldığı Bilimsel Kongre/Sempozyum ve Bilimsel Toplantılar:**

4.ISCAA International Symposium of Clinical and Applied Anatomy, ANKARA, Haziran 2012
14.Ulusal Anatomi Kongresi, ANKARA, Haziran 2012
15.Ulusal Anatomi Kongresi Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Eylül 2013
Erzurum Anatomi Günleri 2014, ERZURUM, TÜRKİYE, 20-22 Şubat 2014
7th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy (ISCAA 2015), Bratislava, Eylül 2015

ISMS 2015 “24th International Symposium on Morphological Sciences”, İstanbul, Eylül 2015
14. Ulusal Sinir Bilim Kongresi, Ankara, Mayıs 2016
17. Ulusal Anatomi Kongresi, Eskişehir, Eylül 2016
18. Ulusal Anatomi Kongresi, Bolu, Eylül 2017
Neocortex Sinirbilim Günü, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2018
Sağlık ve Tıp Alanında Bilimsel Araştırmalar Sempozyumu, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, Türkiye, 2018
ISMS 2018 “XXVI International Symposium on Morphological Sciences”, Prague, Czech Republic, 5-7 July 2018

**Katıldığı Kurs ve Sertifikalar:**

20. Diz Eklemde Temel Cerrahi Artroskopik Kursu, Antalya, Türkiye, 2011T
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı Kursu, Antalya, 2011
5.Basic Shoulder Arthroscopy Cadaver Course, Antalya, Türkiye, 2012
MSA Shoulder , Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2012
5.Periferik Sinir Blokları Kursu, Antalya, Türkiye, 2012
3. Generation Limb Deformity Corecction Courses: Adam Frame With Paley’s Method” 2. Cadaver Training” , Antalya, Türkiye, 2012
Terapötik Enjeksiyonlar Kursu, Antalya, Türkiye, 2013
22. Diz Eklemde Temel Cerrahi Artroskopik Kursu, Antalya, Türkiye, 2013
Girişimsel Ultrason Kursu ”Hands - On “ Uygulamalı, Antalya, Türkiye, 2013
Servikal Omurgada Posterior Tespit Yöntemleri Ve Posterior Spinal Osteotomi Teknikleri Konulu Kadavra Kursu, Antalya, Türkiye, 2013
7. Kadavrada Omuz Artroskopisi Kursu, Antalya, Türkiye, 2013
Bilimsel Araştırmalarda Temel İlkeler, Makale Hazırlama Ve Sunumu Kursu, Antalya, Türkiye, 2014
Endnote X3 Kullanım Kursu, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırmaları Geliştirme Kurulu, 2014
8. Kadavrada Omuz Artroskopisi Kursu, Antalya, Türkiye, 2014
Alt Ekstremitte Trigonlar ve Periferik Geçitler Diseksiyon Kursu, Medikal Diseksiyon Eğitim Kursları (Medisek), Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir 2014
Üst Ekstremitte Trigonlar ve Periferik Geçitler Diseksiyon Kursu, Medikal Diseksiyon Eğitim Kursları (Medisek), Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi , 2014

Bilimsel Araştırmalarda Temel İlkeler, Makele Hazırlama ve Sunumu Kursu, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye, 2014
VI. Pelvis – Asetabulum Kırıkları Cerrahi Tedavisi Uygulamalı Eğitim Toplantısı, Antalya, Türkiye, 2015
Temel Omuz Artroplastisi Kursu, Antalya, Türkiye, 2015
Spor Travmatolojisinde Dizde İleri Cerrahi Teknikler Uygulamalı Eğitim Toplantısı, Antalya, Türkiye, 2015
Ayak Ve Ayak Bileğinde Cerrahi Kesiler, Osteotomi Ve Artroplastisi Eğitim Toplantısı, Antalya, Türkiye, 2015
Nöromodülasyon Araştırma ve Eğitim Derneği Nörostimülasyon Kadavra Kursu, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye, 2015
24. Diz Eklemine Temel Cerrahi Artroskopi Kursu, Antalya, Türkiye, 2015
Üst Ekstremitede Teorik ve Kadavra Uygulamalı Cerrahi Yaklaşımlar Kursu, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Antalya, Türkiye, 2015
Sağlık Alanında Akademik Girişimciliğin Temelleri Eğitimi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya, Türkiye, 2016
Fetüs Mikrodiseksiyon Kursu-1 (Tübitak-2229), Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Anatomi A.B.D., 2017