

I. GİRİŞ

İlyada destanının savaşçısı ve kahramanı olan Achilles, insan vücudunun en kalın ve en güçlü tendonuna adını vermiştir. Achilles'in annesi Thetis, oğlunun savaşta öleceği kehanetini öğrendikten sonra onu topuğundan tutarak Kutsal Styx ırmağının suyuna batırır ve Achilles tendonu (aşıl tendonu, tendo calcaneus) dışında tüm vücudunun ölümsüzlük zırhı ile kaplanmasını sağlar. Eşsiz gücüyle Troya savaşının kaderini değiştiren Achilles, savaşın sonunda düşman tarafından aşıl tendonuna atılan zehirli bir okla vurularak öldürülür.^{53, 87}

Hippocrates, aşıl tendon yaralanması ile ilgili ilk yazılı kayıtlarda, bu tendonun ezildiğinde veya kesildiğinde solunum sıkıntısı, mental durum bozukluğu ve sonunda da ölümle sonuçlanabilen akut ateşe neden olduğunu belirtmiştir.^{13, 59} Ambroise Pare, 1575'de kopmuş aşıl tendonunu, şarap ve baharata batırılmış bandajla sarılmasını önermiş, fakat bu yöntemin çok da güvenilir olmadığını bildirmiştir. 1888'de diğer bir Fransız olan Gustave Polaillon, kopmuş aşıl tendonunun cerrahi onarımını savunmuştur. Daha sonra onuncu ve onikinci yüzyıllarda cerrahi tedavinin gerekliliği, birçok cerrah tarafından önerilmiştir.^{14, 59}

Tendonlar, kasların oluşturdukları kuvvetleri iskelet sistemine aktaran, kollajen lifleri, matriks materyalleri ve değişik tipte hücrelerden oluşan esnek dokulardır.^{9, 41, 42, 67}

İnsan vücudunda bulunan çeşitli tendonların yırtılmaları, hareket ve stabilite arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanır. Son yıllarda, tendon yaralanmalarının arttığı ve tüm yaralanmaların %30 ile %50'sinin spora bağlı geliştiği görülmektedir.^{37, 62, 67} Gerçek asemptomatik tendon zedelenmesi görülme sıklığı tam olarak bilinmemektedir. Ancak artan yaşla beraber tendon zedelenmesi görülme sıklığı %15'den %35'e

çıkılmaktadır.⁴¹ Lepilahti ve arkadaşlarının (ark) yaptığı çalışmada, aşil tendon yırtıklarının %81'inin spora bağlı geliştiği gösterilmiştir.⁵⁵

Aşil tendonu insan vücudundaki en güçlü tendon olmasına rağmen; fazla kullanıma, mekanik etkilere, çeşitli sistemik hastalıklara (sistemik lupus eritematosus, alkaptonüri), dışarıdan alınan çeşitli ilaçlara (fluorokinolonlar, androstenodiol, kortikosteroid) ve yaşa bağlı olarak yırtılma riski en yüksek olan tendondur.^{1, 2, 4, 7, 10, 16, 37, 43, 50, 62, 70, 81, 86}

Aşil tendonu insan vücudunda olduğu gibi, sıçanlarda da en geniş tendondur. Sıçanlarda aşil tendon boyutu / vücut ağırlığı oranı, insandakinden çok daha büyüktür.³⁴

Yaş, diğer tendonlara oranla aşil tendonu lezyonlarında önemli bir hazırlayıcı faktördür. Yaşlanan tendonda metabolizma yavaşlarken, elastikiyet ve gerilim kuvvetinde ilerleyici bir azalma görülür.⁷

Yaşlanma süreci ile ilgili çalışmalar son yıllarda önem kazanmıştır. Yaşlanma süreci dayanıklılık, esneklik, kuvvet, hız ve fiziksel kapasitenin azalması ile karakterizedir. Antrenman ile kazanılan performansla bu olumsuz etkiler azaltılabilir. Yaşlanma her organizmada doğal olarak meydana gelse de, yaşa bağlı hastalıklar için büyük bir risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. Bu nedenle tendon yaşlanması üzerine birçok çalışma yapılmıştır.^{3, 6, 9, 11, 17, 23, 35, 36, 49, 68, 69}

Dokuların mekanik özelliklerini, kollajen molekülleri arasındaki hücreler arası bağlantı, total kollajen içeriği ve kollajen fibril çapı belirler. Yaşlanma ile kollajen yapılanmasında değişiklikler meydana gelir. Bu değişiklikler; deri, tendon, kemik ve eklemlerin yapılarının bozularak esnekliklerinin azalmasına neden olur.⁹

Aşıl tendon zedelenmesinde antrenmana başlamadan önce az ısınma, aşırı pronasyon ve aktivite artışı önce tendinite neden olur. Ani zorlayıcı hareketler ve kronik tendinit ise aşıl tendon yırtılması ile sonuçlanabilir.^{45, 62}

İnsanlarda aşıl tendonunda spontan yırtılma çoğunlukla 30-45 yaşları arasında görülür.^{7, 55, 61, 62, 66, 81} Aşıl tendon yırtılmasına bağlı operasyon geçirmiş insanlarda, tendon örnekleri daha önce araştırılmıştır.^{7, 20, 21, 38, 40, 57, 58, 60, 81}

Bu çalışmada, sağlam sıçan aşıl tendonundaki yaşa bağlı oluşan değişikliklerin, herhangi bir etyolojik faktör olmaksızın morfolojik, immunohistokimyasal ve ince yapı düzeyinde incelenmesi amaçlanmıştır. Özellikle belli yaş grubundaki aşıl tendonlarında, artan yaşla birlikte, kollajen fibrillerin sayısındaki değişikliklere, kollajen tipinde ve hücrelerin yapısındaki farklılıklara bağlı olarak spontan yırtılmalar oluşur. Sıklıkla sporcularda görülen bu durum sakatlanmalara, performans düşüklüğüne ve spor hayatının sonlanmasına neden olabilir. Araştırmamızda sağlam tendonun yapısında yaşa bağlı oluşan değişiklikler incelenmiştir. Elde edilen sonuçların klinik çalışmalara katkı sağlayacağı kanısındayız.

II. GENEL BİLGİLER :

II.1. Embriyoloji :

Ekstremiteler, gelişimin 4. haftasının sonuna doğru ventrolateral karın duvarında hafif kabartı şeklinde görülür. Üst ekstremité tomurcukları servikal segmentlerin karşısında 26. veya 27. günde, alt ekstremité tomurcukları ise lumbal ve üst sakral segmentlerin karşısında 28. veya 29. günde belirir. Ekstremité gelişmesi 4. haftadan 8. haftaya kadar dört haftalık bir periyotta gerçekleşir.^{65, 80}

Her bir ekstremité tomurcuğunun apikalinde ektoderm kalınlaşarak, apikal ektodermal kabartı (AEK) 'yı oluşturur. AEK yani çok tabakalı epitelyal yapı; ekstremité tomurcuğunun büyümesini ilerletmek için, ekstremitédeki mezenşimi etkileyerek ekstremitenin gelişmesi ve büyümesini sağlar. AEK'ya komşu mezenşim farklılaşmamış ve hızla çoğalan hücrelerden oluşurken, proksimalindeki hücreler ise kıkırdak, kemik ve kan damarlarına farklılaşır. Uzakta olan ekstremité tomurcuğunun tepesindeki geç oluşmuş mezenşim, ekstremitenin distal segmentlerine; ekstremité tomurcuğunun tabanındaki yeni oluşmuş mezenşim ise ekstremitenin proksimal segmentlerine farklılaşmaktadır.^{65, 80}

Ekstremitelerde bulunan kemik, tendon, ligament ve damarlar lateral mezodermden; kaslar ise gelişmekte olan ekstremité tomurcuğu içine göç eden somatik mezodermden köken alırlar.^{65, 80, 92}

Gestasyonun 7. haftasında üst ve alt ekstremiteler birbirlerine göre ters yönde rotasyon yaparlar. Üst ekstremitenin 90 derecelik lateral rotasyonuyla, ekstansor kaslar laterale ve posteriora, başparmak ise laterale yerleşirken; alt ekstremitenin 90 derecelik

medial rotasyonu sonucu ekstansor kaslar anteriora, ayak başparmağı ise mediale yerleşir.^{65, 80}

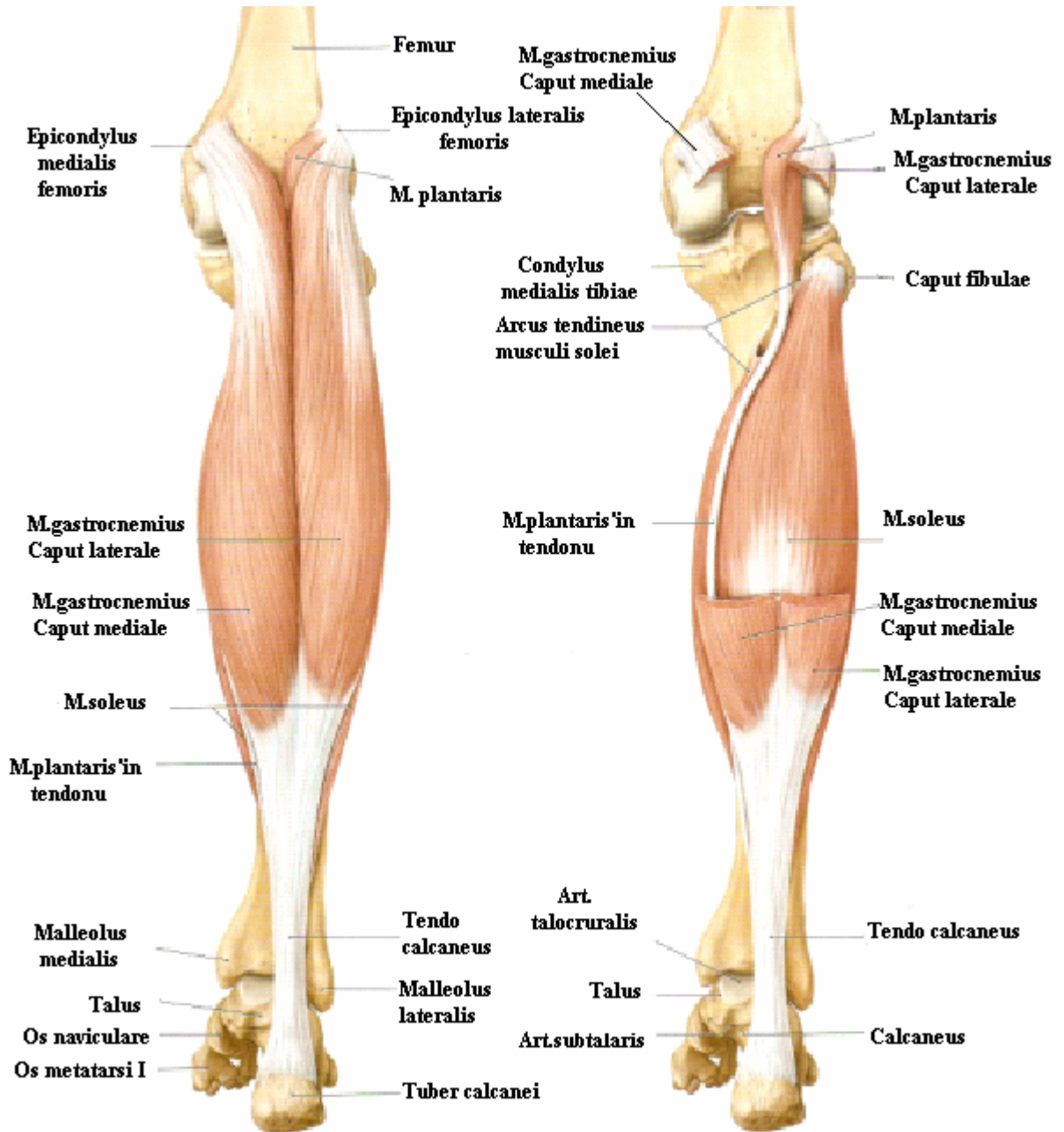
Gestasyonun 6. haftasında gelişmeye başlayan eklemler, 8. hafta bitmeden erişkin insanın eklem özelliklerini kazanmış olur.^{65, 80}

II.2. Aşıl Tendon Anatomisi :

Bacak arka kısmında bulunan fleksor kaslar, fascia profunda cruris uzantıları ile birbirinden ayrılan yüzeysel ve derin grup olmak üzere ikiye ayrılırlar.^{5, 28, 91}

Yüzeysel tabakada musculus (m) triceps surae ile m. plantaris, derin tabakada ise m. tibialis posterior, m. flexor digitorum longus, m. flexor hallucis longus ve m. popliteus bulunur. Bacakta arka tarafta bulunan fleksor kasların en kuvvetlisi ve en kalını m. triceps surae'dir. M. triceps surae, m. gastrocnemius ile m. soleus kaslarının birleşmesi ile meydana gelen, kas kuvveti büyük olan üç başlı bir kاست. Bir kasın kuvveti kas liflerinin enine kesitlerinin toplamı ile ölçülür. Bu toplama "kasın fizyolojik kesiti" denir. Fizyolojik kesitin kalınlığı kasın kuvveti bakımından iyi bir göstergedir. Bir kasın en geniş yerinden geçen kesitte görülebilen liflerin miktarı ise "kasın anatomik kesiti" ni oluşturur. Eklem eksenine olan uzaklık ve insersiyon açısının büyümesiyle de kasın etki gücü artar.^{5, 28, 9}

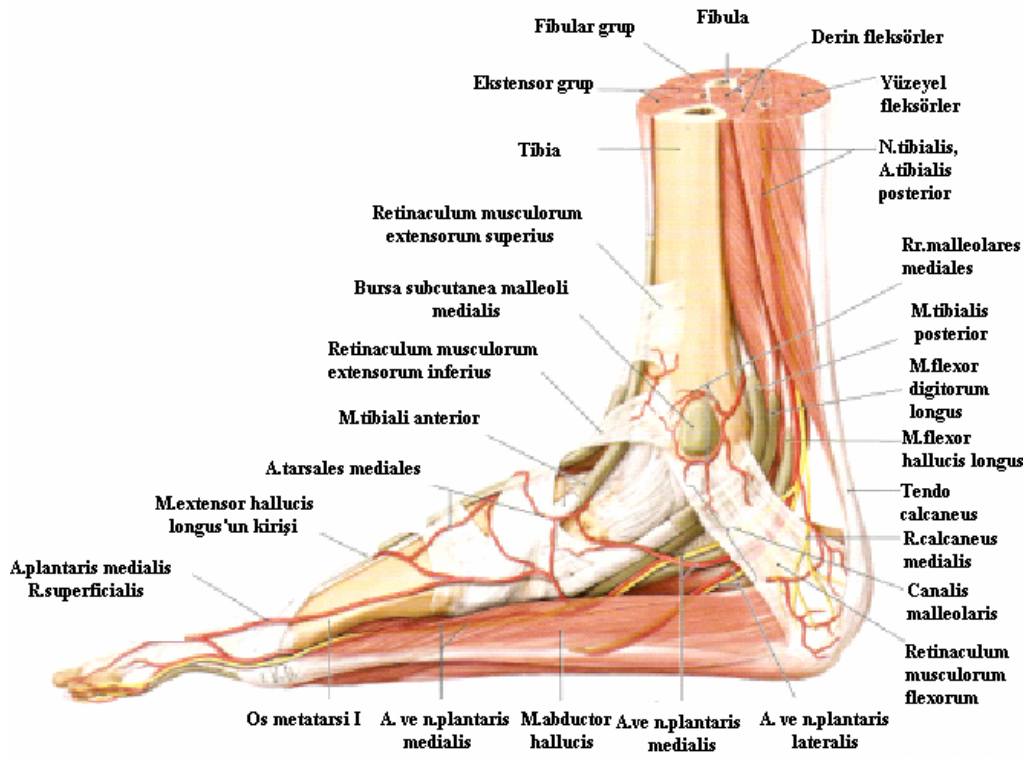
M. triceps surae insan vücudunun en kuvvetli kaslarından biridir. M.gastrocnemius kontraksiyon uzunluğu 39 mm iken m.soleus için 44 mm'dir. Kesiti sırasıyla 23 cm² ve 20 cm²'dir.⁸⁹



Şekil 1. Alt ekstremité bacak kasları arkadan görünüşü ⁸³

M. gastrocnemius, m. triceps surae'nın en yüzeysel kısmını oluşturur. Caput mediale ve caput laterale olmak üzere iki başı vardır. Caput mediale epicondylus medialis'ten, caput laterale epicondylus lateralis'ten ve diz eklemleri kapsülünden başlar. Kasın her iki

başı dar bir açı ile birleşerek fossa poplitea'nın alt-iç ve alt-dış sınırlarını oluşturur. Her iki başın lifleri, bacağın ortasına doğru geniş bir aponöroz şekline dönüşürler. Daha sonra bu aponöroz daralarak tendo musculi gastrocnemii adını alır ve derininden gelen m. soleus'a ait tendonla birleşerek aşıl tendonunu oluşturur. Aşıl tendonu yaklaşık 15 cm uzunluğunda olup, vücudumuzun en kalın ve en sağlam tendonudur^{5, 28, 47, 75} (Şekil 1) .



Şekil 2. Sağ ayak iç yandan görünüş⁸³

Aşıl tendonu tuber calcanei'nin arka alt kısmına tutunarak sonlanır. Calcaneus'un arka yüzü ile tendon arasında bursa tendinis calcanei bulunur (Şekil 2).

M. soleus, m. gastrocnemius'un önünde ve derininde yerleşim gösteren bir kastır. Caput fibulae'nın arka yüzü, corpus fibulae'nın üst kısmı ile facies posterior tibiae'nın arka

yüzünün üst kısmında dıştan içe doğru uzanan linea musculi solei ve arcus tendineus musculi solei'den başlar (Şekil 1). Bu tendon kavsinin altından da arteria (a) poplitea, vena (v) poplitea ile nervus (n) tibialis geçer.^{5, 28, 64, 91}

M triceps surae ayağın en kuvvetli fleksor kasıdır. Calcaneus'ta sonlanmasına rağmen, kas kuvveti aponeurosis plantaris aracılığıyla ayağın ucuna kadar iletilmektedir. Böylece articulatio (art) talocalcaneonavicularis'in oblik ekseninin iç-alt tarafından geçen kas kuvveti, ayağa biraz da supinasyon (inversiyon) ve adduksiyon yaptırır. M. gastrocnemius femurdan başlaması nedeniyle de diz ekleminde bacağına fleksiyon yaptırır. Ancak eklem eksenine çok yakın olarak tutunduğu için, bu etkisi zayıftır. M. soleus'un femurdan başlayan bölümü olmadığı için diz ekleminde hareket yaptıramaz. Yürüme ve koşmada m. gastrocnemius daha önemli fonksiyon görürken, m. soleus daha çok ayak bileğinin stabilizasyonunda etkilidir. Ayrıca m. triceps surae'nın kasılması ile bacak ve ayaktaki venöz kan yukarıya pompalanır.^{5, 28, 91}

M. triceps surae, n. tibialis tarafından innerve edilir. N. tibialis, fossa poplitea'da yüzeysel seyrettiği için direkt yaralanmalara karşı korunmasızdır. Bacağın derin fleksor kaslarını etkileyen kompartman sendromunda yaralanabilir. Ayak bileği seviyesinde ise retinaculum musculorum flexorum'un derininden geçerken sıkışabilir ve tarsal tunel sendromu gelişebilir.^{5, 28, 64, 91} N. tibialis'in kesisi durumunda, bacağın arkası ve ayak tabanındaki kasların tümü felç olur. Ayak ve ayak parmakları plantar fleksiyon ve inversiyon hareketini yapamaz. Ayak ekstansiyon ve pronasyon konumunda kalır. Ayak parmakları adduksiyon ve abduksiyon hareketini yapamaz. Hasta ayakları üzerinde yükselmez. Aşıl refleksi kaybolur. Ayak tabanında duyu kaybı olur.⁶⁴

Vücudun ağırlık merkezi art. talocruralis'in birkaç santimetre önünden geçer. Plantar fleksiyon yaptıran kaslar dengeyi sağlamada önemli rol oynarlar. Bu bakımdan m.

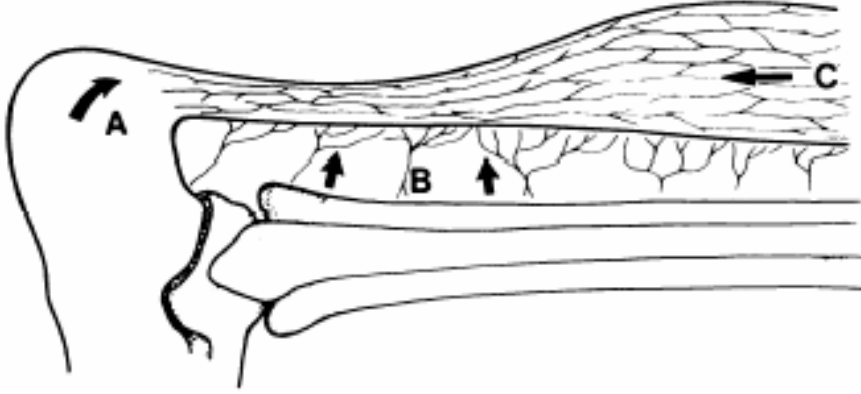
soleus esas etkiyi gösteren kastır (postural kas). M. gastrocnemius ise daha ılımlı bir etkiye sahiptir.^{28, 91}

Aşıl tendon yırtılması bacağın en ciddi akut kas problemidir. Tendonun tam kopmasında pasif dorsifleksiyon olması gerekenden fazla olur ve kişi dirence karşı plantar fleksiyon yapamaz.⁶⁴

Tendon kanlanması

Tendonlar, beslenmelerini sağlayan kan akımlarını üç ana kaynaktan sağlarlar:^{1, 51}

- 1) Kas-tendon bileşkesindeki perimisyal damarlar
- 2) Osteotendinöz bileşkeden gelen periostal damarlar
- 3) Paratenon ve sinoviyal kılıftan gelen damarlar



Şekil 3 . Tendonun beslenmesini sağlayan kaynaklar

A. Osteotendinöz bileşke B. Sinoviyal kılıf C. Kas- tendon bileşkesi¹⁵

Bu kaynaklardan ilk ikisi intrinsik, üçüncüsü ise ekstrinsik beslenme sistemini oluşturur. Beslenme için kullanılan ana kaynak genelde ekstrinsik sistemden gelirken,

farklılık da gösterebilir. Örneğin, tavşan aşil tendonlarında yapılan bir çalışmada, tendon gövdesinin orta 1/3' ünün kanlanması sadece %35'inin ekstrinsik sistemden sağlandığı gösterilmiştir.⁵²

Bir tendonun kanlanmasından birkaç arter sorumlu olabilir. Aşil tendonunun kanlanması a. fibularis ve a. tibialis posterior'dan olmaktadır.¹⁰⁰ Yapılan anjiyografik çalışmalarda, tendonun kalkaneusa yapışma yerinden 2-7 cm proksimalinde, avasküler bir bölge olduğu gösterilmiştir.^{15, 47, 82}

Tendonlar kanlanması oldukça zayıf dokulardır. Yaşla beraber tendonda kan akımı azalır. Genelde tendonlar sinoviyal sıvıdan diffüzyonla beslenir.^{8, 22}

Venöz drenaj yüzeysel ve derin venlerle sağlanır. Yüzeysel venleri birbirine bağlayan dallara v. communicans, yüzeysel venleri derin venlere bağlayan dallara v. perforans denir. Ayak bileği yakınında ve bacağın alt yarısında, çok sayıda v. perforans bulunur. Venöz kan yüzeysel venlerden derin venlere doğru akar.^{5, 28, 83, 91}

Yüzeysel venler: V. saphena magna, ayak sırtının medial kenarındaki v. marginalis medialis'in bir devamı şeklinde başlar, ayak bileği hizasında ayak tabanından medial tarafa doğru gelen venleri alır. Bacakta ve uylukta ilerleyip, hiatus saphenus'tan geçerek v. femoralis'e açılır. Bacakta v. saphena parva ile anastomoz yapar ve v. tibialis anterior'lar ve posterior'lar ile bağlantısı vardır.⁸³

V.saphena parva, ayağın dış kenarındaki v.marginalis lateralis'in devamı şeklinde başlar. Aşil tendonunun önce lateral kenarında, daha sonra da arkasında yukarı doğru uzanır. M. gastrocnemius'un iki başı arasından geçer ve v. poplitea'ya açılır.^{5, 28, 83, 91}

Derin venler: V. plantaris lateralis ve medialis birleşerek v. tibialis posterior'ları oluşturur. V. fibularis'ler de bu venlere açılır. V. tibialis anterior'lar ile birleşerek v. poplitea'yı oluşturur.^{5, 28, 83, 91}

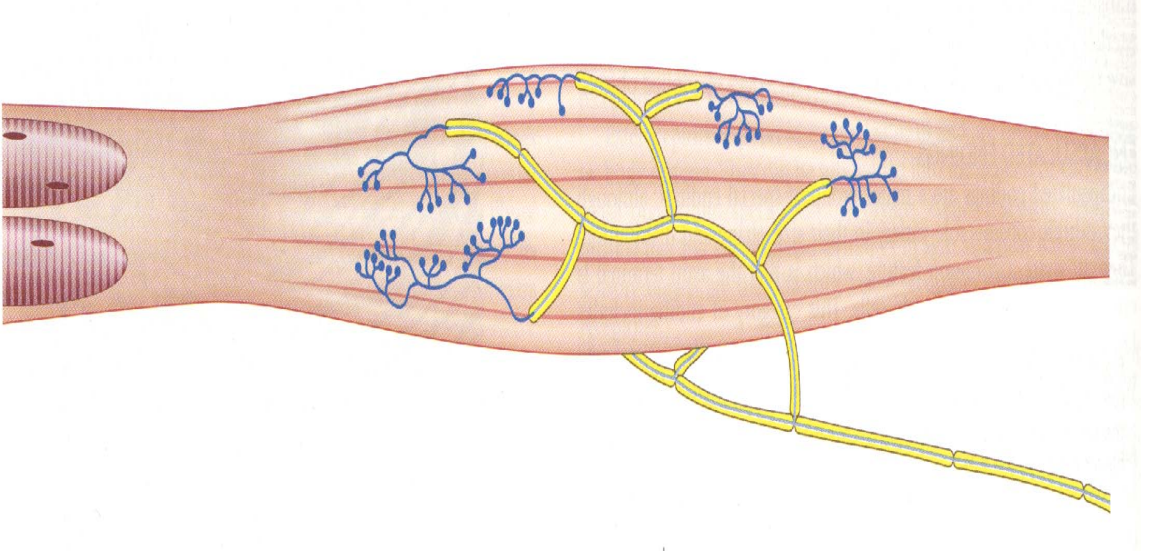
Lenf drenajı da yüzeysel ve derin sistem ile olmaktadır. Yüzeysel lenfatikler anteromedial ve posterolateral grup lenf damarlarından oluşur. Anteromedial lenf damarları v. saphena magna boyunca devam eder ve nodi inguinales superficiales inferiores'e dökülür. Posterolateral lenf damarları v. saphena parva boyunca nodi poplitei superficiales daha sonra nodi poplitei profundi'den geçerek nodi inguinales profundi'ye drene olur.^{5, 28, 83, 91}

Tendon innervasyonu

Tendon innervasyonunu kutanöz, musküler ve peritendinöz sinir köklerinden alırlar. Sinir lifleri kas-tendon bileşkesinden geçerek tendonu çevreleyen gevşek bağ dokusuna girerler. Tendonun en dışında, fascia cruris'ten kaynaklanan gevşek bağ dokusu yapısında olan paratenon üzerinde zengin sinir yumakları oluştururlar ve dalları tüm tendonu çevreleyen gevşek bağ dokusu olan epitenona geçerler. Sinir dallarının çoğu esas tendon gövdesine geçmezler ve tendon yüzeyinde sinir uçları olarak sonlanırlar. Myelinli sinir uçları, mekanoreseptörler olarak işlev görürler, tendon yapışma noktalarında yoğunlaşmışlardır. Basınç ve gerilme hislerini iletirler. Myelinsiz sinir uçları ise nosiseptörler olarak işlev görürler; duyu ve ağrı hislerinin algılanmasına katkıda bulunurlar.^{54, 56}

Golgi tendon organları (nörotendinöz içcikler) tendonların kaslar ile birleşim yerlerinin yakınında lokalize olur. Her içciğin fibröz bir kapsülü vardır. Bu kapsül küçük bir demet halinde bulunan, gevşek olarak düzenlenmiş kollajen liflerini (intrafuzal lifler)

sarar. Tendon hücreleri, tendonun diğer yerlerine göre daha büyük ve daha fazla sayıdadır. Bir veya daha fazla sayıdaki myelinli duyu lifleri kapsülü deler, myelin kılıfını kaybedip dallanarak sonlanır ³⁰ (Şekil 4).



Şekil 4. Golgi tendon organ ⁹¹

Sinir sonlanmaları, tendona basınç olduğunda, içiğin içerisinde yer alan ve yakında bulunan tendon liflerinin sıkıştırmaları ile aktive olur. Kasın boyundaki değişikliklere hassas olan nöromusküler içcikten farklı olarak, nörotendinöz organ kasın gerginliğindeki değişiklikleri değerlendirir. Aşırı kasılma ile, gerilen tendon lifleri arasında golgi tendon organı denilen reseptörler uyarılır (Şekil 4). Uyarıları taşıyan afferent lifler medulla spinalis’de sinaptik bağlantılar ile, kasılan kasın motor nöronunu inhibe, antagonistleri eksite ederler. Bu reflekse ise “Golgi tendon refleksi veya otojenik inhibisyon” denir. Kas içiği refleksinden farklı olarak, bu refleks inhibe edicidir ve kas

kontraksiyonunu inhibe eder. Bu şekilde, tendon refleksi kasta çok fazla gerilmenin olmasına engel olur. Bu fonksiyon koruyucu bir mekanizma olarak önemlidir, fakat bunun asıl fonksiyonu istemli kas aktivitesini etkileyebilecek olan bilgilerden santral sinir sistemini haberdar etmesidir.³⁰

Aşıl refleksi sakral 1, sakral 2 (S1-2) sinirler aracılığıyla gerçekleştirilen bir reflekstir. Yere basmayan ayağın tendo calcaneus'una vurulduğunda ayak aniden fleksiyon hareketi yapar.^{5, 28} S1 sinir kökü kesilmiş ya da bası altında ise, aşıl refleksi alınamaz.⁶⁴

II.3. Tendon Kineziyolojisi

Tendonlar, kas ve kemik arasındaki muskulotendinöz bir ünite oluşturarak, kasların oluşturduğu gerilme kuvvetlerini kemiğe aktarırlar ve eklemlerin hareket etmesini sağladıkları gibi aynı zamanda bu eklemlerin stabilizasyonuna da katkıda bulunurlar.^{59, 70, 74, 96} Normal yükler altında, eklemler hareket sınırları boyunca yumuşak fizyolojik bir mekaniğe sahiptirler. Daha büyük kuvvetlere maruz kaldıklarında ise tendonlar, eklemlerin anatomik yapısının dışına çıkmasını önleyerek yaralanmalarını engeller.⁸⁸

Tendonların gerilim kuvvetleri, kalınlıkları ve kollajen içerikleri ile doğru orantılıdır. Tendonlar cm^2 'ye 500 – 1000 kg kuvvete karşı koyabilirler.⁷²

Zıplama ve ağırlık kaldırma gibi ağır sporlar sırasında tendonlara aşırı yük biner.⁴⁶ Tendonların kopma olasılıkları; kuvvetin oblik, hızlı veya aşırı bir şekilde uygulandığı kas kasılmaları sırasında en yüksektir.⁸⁸

Tendonlar streslere karşı oldukça dirençlidir.⁷⁰ Tendonlar için bu direnç yaklaşık olarak 10 kilogram kuvvet/ mm^2 'dir. Tendonlar kopmadan önce uzunluklarının %8'ine kadar gerilebilirler. Bu şekilde kendisini geren kuvvetin %92'sini tekrar geri verir. Bu

yüksek enerji dönüşümü kasların yapması gereken işi azaltır. Ayrıca mekanik enerjinin ısıya dönüşmesini engelleyerek vücut ısısının aşırı yükselmesi önlenmiş olur.⁸⁹

Tendondaki zedelenme mekanizmaları tendonun tutunduğu kas kontraksiyonu tarafından kuvvet miktarından ve tendon ile kas arasındaki yüzey kesit alanından etkilenir. Ligamentlerin ve tendonların biyomekanik davranışları viskoelastik olup mekanik yüklenme oranı arttıkça tendonun kuvveti ve sertliğinde artış görülür. Yaşlanmayla tendon ve ligamentlerin mekanik özellikleri; kuvveti, sertliği, deformasyona dayanma kabiliyeti azalır.⁷⁰

Ayağın hareketleri kompleks olup her üç eksen ve düzlemde hareket etme yeteneği vardır.⁸³

Art. talocruralis'in hareket eksen (plantar fleksiyon / ekstensiyon): Bu eksen çoğunlukla malleolus lateralis ve medialis'den transvers geçer. Bu eksen tibia gövdesi ile frontal planda yaklaşık 82 derecelik açı ve medial tarafta frontal plan ile 10 derecelik açı oluşturur.⁸³

Art. subtalaris'in hareket eksen (inversiyon / eversiyon): Bu eksen ayakta oblik olarak posterolateralden anteromedial doğrultuda yukarı doğru uzanır, yani calcaneus'un lateralinden, tarsal kanalın medial parçasına ve navikular kemiğin merkezine doğru uzanır. Horizontal plan ile yaklaşık 30 derecelik ve sagittal plan ile de 20 derecelik bir açı oluşturur.^{71, 83}

Art. tarsalis transversa ve art. tarsometatarsalis'te ayak hareket eksen (pronasyon / supinasyon): Bu eksen hemen hemen sagittal plandadır, calcaneus'tan os naviculare'ye ve ikinci parmak boyunca uzanır.⁸³

Ayak bileği eklemi eksen, dik ayakta dururken ayak, ayak bileği yukarısında ve dorsifleksiyonda içeriye doğru ve plantar fleksiyonda aşağı ve laterale doğru hareket eder.^{71, 83}

Nötral pozisyonda ayağın iskeleti, bacak iskeleti ile yaklaşık 90 derecelik açı yapar. Bu ayak tabanının tamamen yere değer pozisyonu “fonksiyonel pozisyon” olarak isimlendirilir ve normal ayakta duruş ve yürüme sırasında önemli bir destektir. Art. talocruralis’in normal hareket aralığı, sağ ayak yerde iken (stance – basma fazı), sağ ayak havada iken (swing – salınım fazı) nötral pozisyondan başlayarak, herhangi bir yük binmeyen ayak yaklaşık 40-50 derecelik bir plantar fleksiyon ve yine yaklaşık 20-30 derecelik dorsifleksiyon hareketi yapar. Ayak yere temas ettiği zaman (yürümenin stance fazı) bacak yaklaşık 50 derece geriye (plantar fleksiyon) doğru ve 30 derece öne (dorsifleksiyon) hareket edebilir.^{42, 83}

Art. subtalaris’in hareket aralığı; 10 derece eversiyonda, nötral pozisyonda, 20 derece inversiyonda, calcaneus’un medial (inversiyon) ve lateral (eversiyon) rotasyonu nötral pozisyon esas alınarak ölçülür. Bu ölçüm klinik olarak ayağı sabitleyerek calcaneus’un öne ve arkaya hareket ettirilmesiyle yapılır. Ayağın inversiyon / eversiyon genişliğinin değerlendirmesi kalkaneal eksene göre yapılır.⁸³

Ayak bileğine etki eden statik kuvvetler incelendiğinde; m.gastrocnemius ve m.soleus kontraksiyonu sonucu aşıl tendonu ile iletilen kuvvetin ölçüsü , eklem reaksiyon kuvveti, serbest vücut diagramında ölçülebilir. Örneğin, aşıl tendonundan geçen kas kuvveti ve eklem reaksiyon kuvveti parmak ucunda duran bir bacakta incelendiğinde, bu ayağa üç kuvvetin etki ettiği görülür. Bunlar; yerçekim kuvveti, aşıl tendonu boyunca geçen kas kuvveti ve talus’taki eklem reaksiyon kuvvetidir. Eklem reaksiyon kuvveti vücut ağırlığının yaklaşık 2,1 katı, aşıl tendon kuvveti ise vücut ağırlığının yaklaşık 1,2 katı

kadar bulunmuş. Bu da zayıf m.gastrocnemius ve m.soleus'a sahip hastalarda parmak ucuna yükselme hareketinin zor ve ayak bileği dejeneratif artritinde ağırlı olduğunu göstermektedir.⁴²

Aşıl tendonu bacadaki en önemli elastik yapıdır. Birçok koşucu yere önce topuklarıyla temas eder. Fakat basınç merkezi hızla topuktan öne, metatarsal kemiklerin distal kısımlarına doğru yer değiştirir. Bu durumda aşıl tendonundaki büyük kuvvet, art. talocrualis yakınındaki momentumu dengelemek için gereklidir. Orta mesafe koşan 70 kg ağırlığında bir koşucuda aşıl tendonunun en yüksek kuvvet değeri 500 kg/kuvvet'tir (5000 newton). Bu kuvvet değeri tendonu %6 oranında uzatmaya yeter.²⁸

Yer kuvveti caput metatarsalis'lerde yukarı doğru etki ederken, aşıl tendonu calcaneus'u yukarı doğru çeker. Böylece tibia'nın aşağı doğru talus'u sıkıştırdığı ayak bileğinde gerekli denge reaksiyonu oluşur. Bu üç kuvvet birlikte arcus longitudinalis pedis'i düzleştirir.²⁸

Her bir duruş fazında kaybedilen ve yeniden kazanılan kinetik ve potansiyel enerjinin %35'i elastik gerilme enerjisi olarak aşıl tendonunda ve %17'si ayak taban kavsinde bulunan ligamentlerde geçici olarak depolanır. Böylece kasların işi yarı yarıya azalmış olur. Bunun yanı sıra koşucunun topuğunu yere koymasıyla topuğa etki eden darbe, topukta bulunan yağ dokusu tarafından da yumuşatılır.²⁸

Yürüme hızında artış, enerji tüketiminde daha hızlı bir artışa neden olur. Koşuda ise pasif elemanların (tendon ve ligamentlerin) elastikiyeti ile sağlanan enerjinin korunması daha ön planda olduğu için, hız artışıyla birlikte görülen enerji tüketimindeki artış bu kadar hızlı olmaz. En yüksek hızda yürüyen bir kişinin enerji tüketimi, yürüme sınırının aşılp yavaş koşuya dönüşmesi ile bir miktar azalır.²⁸

Aşıl tendon kuvvetini gösteren matematiksel modelde koşma sırasında en yüksek kuvvetin vücut ağırlığının 5,3 ile 10 katına kadar çıktığı gösterilmiştir.¹²

Koşu sırasında insan aşıl tendonu üzerine, 9 kilonewton, yani vücut ağırlığının 12,5 katı yük bindiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.⁴⁶

II.4. Tendon Histolojisi

Sıkı düzenli bağ dokularının en yaygın örneğini tendonlar oluşturur. Bu uzamış silindirik yapıların renkleri beyazdır ve içlerindeki kollajen lif miktarının fazla olmasından dolayı gerilmeye karşı dirençlidirler. Birbirine paralel sıkıca paketlenmiş kollajen demetlerine ve bu demetlerin arasına giren az miktarda hücreler arası şekilsiz maddeye sahiptirler. Ekstrasellüler matriks iskeleti içerisinde tenoblastlar ve tenositler tendonların hücresel içeriğinin %90-95'ini oluştururlar. Tenoblastlar olgunlaşmamış tendon hücreleridir.^{19, 41, 88} İğsi şekilleri içerisinde yüksek metabolik aktivitelerini açıklayan çok sayıda sitoplazmik organelleri vardır. Olgunlaştıkça uzarlar ve tenositlere dönüşürler. Tenositler, tenoblastlardan daha küçük bir çekirdek/sitoplazma oranına sahiptirler ve buna bağlı olarak daha düşük metabolik aktivite gösterirler. Tenoblastlar ve tenositlerin, liflere paralel uzayan çekirdekleri ve kollajen demetlerini sarmalayan kıvrımlı sitoplazma uzantıları vardır. Bu tenositlerin sitoplazması, hem seyrek olması, hem de liflerle aynı renge boyanması yüzünden hematoksilen ve eozin boyası ile zor seçilebilir.^{27, 41, 56, 88, 97}

Tendonların, tenosit ve tenoblastlar dışında kalan %5-10'luk hücre içeriklerini, tendon-kemik yapışma yerlerindeki kondrositler, tendon kılıfının sinoviyal hücreleri ve damar yapılarının endotel ve kas hücreleri oluşturur.^{41, 56, 88, 97}

Tenositler, aerobik krebs siklusu, anaerobik glikoliz ve pentoz fosfat yolu ile enerjilerini sağlarlar.⁷⁴ Yaşlanma ile beraber, tenositlerin enerji sağlama yolları aerobikten anaerobik yollara kayar.^{23, 40} Kollajen ile ekstrasellüler matriks yapısının içeriğinin senteziyle görevlidirler.⁷⁴ Tenositler, aktin ve myozin içerir.³⁵

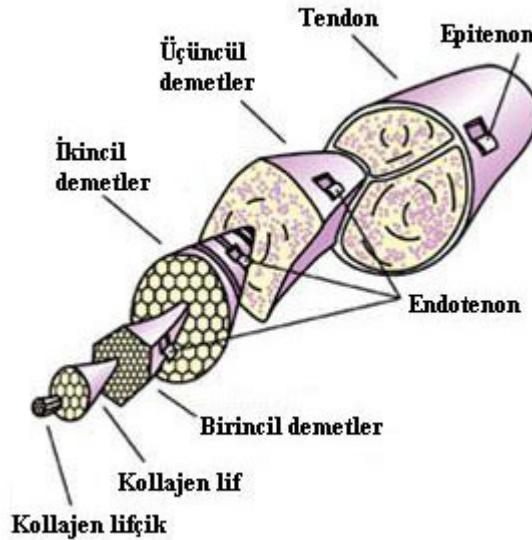
Tendon ve bağların oksijen tüketimi, iskelet kaslarının oksijen tüketiminden yaklaşık 7,5 kat daha azdır. Düşük metabolik aktivite ve gelişmiş anaerobik enerji üretim mekanizmalarının olması, tendonların iskemi ve nekroz olmaksızın büyük gerilme kuvvetlerini taşımaları ve uzun süreli gerilmelere dayanmaları için son derece önemlidir.⁸⁸ Bu düşük metabolik aktivitenin bir dezavantajı bulunmaktadır. Düşük metabolik aktivite, tendonların yaralanma sonrası iyileşmelerinin, diğer yumuşak dokulara göre daha yavaş olmasına sebep olmaktadır.⁹⁸

İnsan tendonlarının toplam ağırlığının %70'ini su oluşturur.^{42, 70} Kalan %30'luk kuru tendon ağırlığının %65-80'ini kollajen, %2'sini elastin ve %2-5'ini de glikoprotein oluşturur. Kollajenin %90'ı tip I, kalan %10'u ise tip III kollajendir.^{42, 56, 70, 88, 97}

Kollajen, karmaşık bir yapıya sahiptir. Bu yapının en küçük birimi üçlü sarmal polipeptid zincir olan tropokollajendir (boyu 280 nm, eni 1,5 nm). Kollajenin değişik tiplerinin ortaya çıkmasında, bu polipeptid zincirlerinin kimyasal yapısındaki farklılıklar sorumludur. Bu tropokollajen molekülleri, aralarında çapraz bağlar meydana getirerek çözünemeyen kollajen moleküllerini oluştururlar ki, bu moleküllerde bir araya gelerek mikrolifçik alt birimleri halinde kümelenerek kollajen lifçiklerini (fibril) oluştururlar (çapları 20-90 nm arasında değişen, boyları birkaç mikrometre olabilen ince uzun yapılardır). Fibriller de bir araya gelerek lifleri (fiber), diğer adıyla birincil demetleri meydana getirirler. Kollajen lifleri mekanik olarak test edilebilen ve ışık mikroskopunda gözlenebilen en küçük tendon birimidir. Kollajen lifleri genelde uzunlamasına yerleşseler

de, enlemesine de yerleşerek sarmallar ve örgüler oluşturabilirler. Kollajen liflerinin bir araya gelmesi fasikülleri (ikincil demetleri), fasiküller de üçüncül demetleri oluşturur.^{18, 24, 29, 41, 56, 67, 70, 88, 97} İnsan tendonlarında üçüncül demetlerin çapları 1000µm ile 3000µm arasında değişir. İkincil demetlerin çapları ise 150-1000µm arasında değişir.⁴¹

Tendonların kollajen demetleri (birincil demetler) daha büyük demetler (ikincil demetler) halinde bir araya gelirler ve her ikisi de kan damarları ve sinirler bulunan gevşek bağ dokusu ile sarılır. Dış görünüşü ile tendon sıkı bağ dokusu kılıfı ile çevrilmiştir. Bazı tendonlarda bu kılıf, mezenşim kökenli tek katlı yassı hücrelerle örtülü iki katmandan oluşur. Katmanlardan biri tendona tutunurken, diğeri komşu yapıları örtmektedir. İki kat arasında kıvamlı bir sıvı içeren (sinoviyal eklem sıvısına benzer) bir boşluk oluşur. Bu sıvı su, proteinler, glikozaminoglikanlar, glikoproteinler ve iyonları içerir ve tendonun kılıfı içerisinde rahatça kaymasını sağlayan bir kayganlaştırıcı olarak görev yapar.^{56, 70, 88}



Şekil 5. Tendonun yapısal düzeni⁹⁹

Epitenon tüm tendonu çevreleyen ve üçüncül demetlerden birincil demetlere kadar endotenon olarak uzanan gevşek bir bağ dokusudur.^{56, 88} Endotenon ise kollajen liflerini saran ince gevşek bir bağ dokusudur ve bu liflerin birbiri üzerine kaymasına olanak verir. Epitenon yüzeysel olarak paratenon ile çevrelenmiştir.^{18, 41, 67} Paratenon; tip I ve III kollajen, bazı elastik lifler ve iç yüzeyi sinoviyal hücreler tarafından döşenmiş gevşek bir bağ dokusudur. El ve ayak gibi mekanik stresin fazla olduğu bölgelerde tendonları çevreleyen sinoviyal kılıf bulunur.^{56, 88, 97} Sinoviyal kılıflar, iç sinoviyal ve dış fibrotik olmak üzere iki kattan oluşur. İç sinovyal tabaka tendonun beslenmesinde ve lubrikasyon için gerekli sinoviyal sıvının üretiminden sorumlu iken, dış fibrotik tabaka, tendon için bir kaldıraç görevi gören yoğunlaşmaları ve makara sisteminin oluşturulmasını sağlarlar.⁸⁸

Tendonların, kas ve kemiklere bağlı oldukları bölgeler, kendi içlerinde histolojik olarak özelleşmiş bölgelerdir. Miyotendinöz bileşkede, tendinöz kollajen fibrilleri kas dokusu içerisine derin parmaksı uzanımlar yaparak, kas hücrelerinin bazal membranıyla geniş temas alanı sağlarlar ve kas hücrelerinin hücre içi kontraktil proteinlerinin oluşturduğu gerilme stresini distale iletirler. Bu karmaşık yapılanma, kas kasılması sırasında tendona yüklenen gerilme kuvvetinin azalmasını sağlar. Bununla birlikte miyotendinöz bileşke bölgesi kas-tendon yapısının en zayıf bölgesidir.^{73, 88}

Kalkaneus ile aşıl tendonu bileşkesi dört bölgeye ayrılır. Bu geçiş bölgesi 1mm'lik bir mesafede olur. Bu dört bölge :

- 1) Yoğunlaşmış tendon dokusu
- 2) Fibrokartilaj
- 3) Mineralize fibrokartilaj
- 4) Kemik

Bu bölgenin fonksiyonu tam olarak tanımlanamamıştır.²⁵ Tendon-kemik bileşkesindeki keskin sınır, ikinci ve üçüncü tabakalar arasındadır. Bu bölge çimento çizgisi (cement line) olarak bilinir.^{73, 88}

Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri küçük polipeptidler olup, hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanır. Kompleks hücre içi sinyal iletimi, hücre proliferasyonu ve migrasyonu, matriks sentezi, diğer büyüme faktörlerinin sekresyonuna neden olur.^{44, 67}

TGF β 1 (Transforme edici büyüme faktörü β 1): Tendon iyileşmesinde anahtar rol oynayan sitokinlerden biridir. Tendon iyileşmesinde fibroblastları uyarak kollajen sentezini artırır.⁶³ Mekanik yüklenmeye karşı tendonlarda adaptasyon cevabı olarak kollajen sentezini uyarır.³²

FGF (Fibroblast büyüme faktörü): Tendondan ve epitenondan artan sayıda hücreden anjiyogenik büyüme faktörü olarak açığa çıkar.³⁹

Yaralanma ve ardından gelen yangısal faz trombositlerden sitokinlerin ve bazı büyüme faktörlerinin salınımına neden olur. Bu büyüme faktörleri ve sitokinler, fibroblastların ve tenositlerin kemotaksisini ve neovaskülarizasyonunu sağlar. Tendon iyileşmesinde etkili olduğu kesinlikle kanıtlanmış 5 büyüme faktörü vardır. Bunlar insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I), trombosit türevli büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2) ve transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β)'dir.³⁹

III. GEREÇ ve YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)' nden sağlanan prepubertal (2-3 haftalık; 21,8g- 34,1g), ergin (6-7 aylık; 235g- 300g) ve geç ergin (1yaş; 320g- 430g) yaş gruplarının her birinden onar adet olmak üzere toplam 30 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Çalışmamız için gerekli olan etik kurul kararı (sayı: 117-19495 ve 91-14055), Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'ndan alınmıştır.

Sıçanlar, standart nem, ışık ve sıcaklık koşullarında tutuldu. Standart sıçan pellet yem ile *ad libitum* beslenme yapıldı. Tüm sıçanlara genel anestezi (ketamin 40mg/kg ve rompun 5mg/kg intramuskuler enjeksiyonu) uygulanarak, her iki aşil tendonları alındı. Genel anestezi altındaki sıçanlardan, intrakardiak kan alınarak ötenazi uygulandı.

Sıçanların bir taraf aşil tendonları elektron mikroskop takibi için %2,5'luk gluteraldehit solüsyonuna, diğer taraf aşil tendonları ise ışık ve immunhistokimyasal çalışma için %10'luk formaldehit solüsyonuna alındı.

IŞIK MİKROSKOBİK YÖNTEM

Pikrik asit- Sirius kırmızısı boyama yöntemi

Tespit edilen dokular alışılmış ışık mikroskop takip yönteminden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Hazırlanan bloklardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak, deparafinize edilmek ereğiyle 15 dakika ksilole bırakıldı ve 10'ar dakika olacak şekilde sırasıyla %100, %96, %80, %70 ve %50'lik alkol serilerinden geçirildiler. Kesitler Fouchet solusyonunda (Triklorasetik asit 25 g + Ferrik klorid 10 ml + Distile su 100 ml) 5 dakika

bekletildiler. Distile sudan geçirildikten sonra Celestine mavisinde (celestine mavisi 0,5 g + amonyum ferrik sülfat 5 g + distile su 100 ml) 3 dakika bekletildiler. Yıkama işleminden sonra hemtotoksilene alınan kesitler, burada 5 dakika tutulduktan sonra hazırlanan sirius kırmızısı (pikrik asit 98 ml + %1 aqua sirius kırmızısı 2 ml) solusyonunda 20 dakika bekletildiler. Kesitler daha sonra alkol serilerinden geçirilerek, 20 dakika süreyle ksilolde bekletildiler. Entellanla kapatılan kesitler bilgisayar donanımlı, kamera ataçmanlı foto - ışık mikroskopta (DM 4000 B, Leica, Wetzlar, Germany, DFC280 Plus camera, Leica, Wetzlar, Germany) fotoğraflanarak değerlendirildi.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM

Tespit edilen dokular alışımlı ışık mikroskop takip yönteminden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Hazırlanan bloklardan polizinli lamlara 4 - 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinize edilmek ereğiyle 15 dakika X 2 kez ksilole etkin bırakıldı ve 10'ar dakika olacak şekilde sırasıyla %100, %96 ve %80'lik alkol serilerinden geçirildiler.

Dehidrate edilen dokular alkolden arındırılmak için 5 dakika X 2 kez distile sudan geçirildikten sonra, doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak ereğiyle 1µl citrate tamponu ile mikrodalga fırında retriver işlemi gerçekleştirildi.

Daha sonra 15 dakika %3'lük hidrojen peroksit ile etkin bırakılan dokulardan endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. İşlem sonrasında PBS (Phosphate buffer saline, pH=7,4) (Invitrogen Immunodetection, Ref/Cat No: 00-3000, Lot: 1373125, Zymed, USA) ile camlar yıkandı.

Yıkanan camlara 5 dakika Ultra V block (Ref/Cat No: 85-9043, Lot: 41080981 Zymed, USA) uygulanarak özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu işlemten sonra dokular yıkanmadan primer antikor aşamasına geçildi. Bu amaçla kesitler TGF β 1 (V) primer antikoru (Sc: 146, Lot: 1906, Santa Cruz, USA), S-100 primer antikoru, FGF1 (C-19) primer antikoru (Sc: 1884, Lot: B0504, Santa Cruz, USA), Kollajen Tip I (D:13) pimer antikoru (Sc: 25974, Lot: H2506, Santa Cruz, USA) ile 60 dakika oda ısısında bekletildiler.

Daha sonra PBS ile yıkanan camlara 20 dakika biyotinli sekonder antikor (Ref/Cat No: 85-9043, Lot: 50681666, Zymed, USA) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. PBS ile yıkanan camlar 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Ref/ Cat No: 85-9043, Lot: 50681666, Zymed, USA) etkin bırakıldı, böylece camlarda enzimin biyotine bağlanması sağlandı.

Son olarak TGF β 1 ve S-100 için ortama kromojen AEC (3-amino-9-ethylcarbazde) (Cat: 00 – 2007, Lot: 50481594, Zymed, USA), FGF1 ve Kollajen Tip I için DAB (3,3'diaminobenzidine tetrahydrochloride) (Cat: 00-2020, Lot: 40980870) eklenerek yaklaşık 10 dakika bekletildi ve gözle görülebilir ürünün ortaya çıkması sağlandı.

Zemin boyası olarak Mayer'in Hemotoksilen'i (0B52Y092, Merck) kullanıldı. Negatif boyama primer antikor aşamasında yapıldı. Bu şekilde boyanan camlardan AEC uygulananlar ultra-mount, DAB uygulananlar ise entellan ile kapatılıp, bilgisayar donanımlı, kamera ataçmanlı foto-ışık mikroskopta (DM 4000 B, Leica, Wetzlar, Germany, DFC280 Plus camera, Leica, Wetzlar, Germany) fotoğraflanarak değerlendirildi.

ELEKTRON MİKROSKOBİK YÖNTEM

Elektron mikroskopik inceleme için bir taraf aşıl tendonları %2,5'luk fosfat tamponlu gluteraldehit içine konularak pH 7,4 ; +4⁰ C de tespit edildiler.

Elektron Mikroskopik Doku İzlenesi

Sorenson'un fosfat tampon solusyonu :

Solusyon A : Potasyum fosfat monobazik (KH_2PO_4)0,908 g

Distile su100 ml

Solusyon B : Sodyum fosfat dibazik ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).....1,188 g

Distile su100 ml

18,2 ml solusyon A + 81,8 ml solusyon B = 100ml (pH : 7.4)

Gluteraldehit tespiti :

9,2 cc Sorenson fosfat tamponu + 0,8 cc Gluteraldehit = 10 cc

Dokular bu solüsyonda 30 dakika etkin bırakılıp sertleşmeleri sağlandıktan sonra, çift bistüri yardımıyla 1 mm³ 'lük parçalar halinde ayrıldılar. Bir saat daha gluteraldehit solüsyonunda bekletilerek ilk tespitleri sağlandı.

Osmiyum Tetroksit tespiti :

Osmiyum tetroksit (OsO_4)0,1 g

Distile su5 cc

1 kısım Sorenson fosfat tamponu + 1 kısım osmiyum tetroksit

Dokular bu şekilde hazırlanmış %1'lik osmiyum tetroksit solüsyonunda 1 saat etkin bırakıldılar. Böylece hem tespitleri hem de boyanmaları sağlanmış oldu.

Dehidratasyon ve blok oluşturulması :

Dokular osmiyumla ikinci kez tespit edildikten sonra, doku içindeki fazla suyun uzaklaştırılması için, artan derecelerdeki alkol serilerinden geçirildiler.

%50'lik alkol10 dakika

%60'lık alkol10 dakika

%70'lik alkol10 dakika

%80'lik alkol2 kez yıkandı ve 10 dakika bekletildi.

%90'lık alkol10 dakika

%96'lık alkol10 dakika

%100'lük alkol15 dakika

Propilen oksit30 dakika

Propilen oksit + 1. gömme materyali30 dakika

1. Gömme materyali1 gece

1. Gömme materyali:

Araldit CY 21210 cc

DDSA (Dodecenyl succinic anhydride).....10 cc

2.Gömme materyali2 saat oda ısısı

2.Gömme materyali2 saat 40°C etüvde bekletildiler.

2. Gömme materyali :

Araldit CY 21210 cc

DDSA (Dodecenyl succinic anhydride)10 cc

BDMA (N- Benzyldimethylamine)0,4 cc

Dibtil fitalat1 cc

Daha sonra dokular, içinde aynı gömme materyali bulunan 00 numara jelatin kapsüle gömüldü. Blok içindeki havanın çıkması için 1 saat oda ısısında bekletilen kapsüller, polimerizasyon için 24 saat 45°C’de, 48 saat 60°C’de etüvde bekletildi. Süre sonunda etüv kapatılarak, dokular etüv içinde kendi hallerinde soğutulmaya bırakıldı.

Hazırlanan bloklardan LKB Leica Ultramikrotom ile 1 µm kalınlığında kesitler alındı ve toluidin mavisi ile boyandı. Olympus BH₂ fotoışık mikroskobu ile incelenen kalın kesitlerin resimleri çekildi ve bu bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler zerine 200 A°’ luk ince kesitleri alındı. Kontrast sağlamak için alınan kesitler, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EM 900 elektron mikroskopta değerlendirilerek fotoğraflandılar.

İSTATİKSEL YÖNTEM

Prepubertal, ergin, geç ergin tüm yaş gruplarına ait aşıl tendon kesitlerinden pikrik asit-sirius kırmızısı ile yapılan ışık mikroskopik boyamalarda her bir camda X400 büyültmede on alan seçilerek tenosit çekirdekleri sayıldı. Prepubertal, ergin, geç ergin gruplar için tek tek normal dağılıma sahip olup olmadığına bakıldı. Çalışmada, parametrik olmayan istatistiksel tekniklerden Kruskal-Wallis H testi uygulandı (Tablo II).

Hangi gruptaki tenosit sayısının fazla olduğunu belirlemek için Scheffe testi (çoklu karşılaştırmalar) yapılmıştır (Tablo III).

IV. BULGULAR

İŞIK MİKROSKOBİK BULGULAR

Pikrik asit-sirius kırmızısı boyamasında **prepubertal grupta**, aşil tendonu çevre bağ doku ile birlikte incelendi. Tendonda kollajen liflerin birbirine koştut dalgalanmış şekilde seyrettiği ve aralarında iğ biçimli tenositlerin uzunlamasına eksene koştut yerleştiği görüldü. Tendonu çevreleyen bağ dokusu yağ hücrelerinden ve kollajen liflerden oldukça zengindi ve yer yer kan damarları izleniyordu (Resim 1a). Tendondaki kollajen liflerin genelde spiral seyrettiği ve tendon- kas kavuşma noktalarında kasın yeşil, sarı, kırmızı boyandığı izleniyordu (Resim 1b).

Daha büyük büyültmede, tenosit çekirdeklerinin kollajen liflere koştut iğ biçimli ve yoğun boyanmaları belirgindi. Kollajen lifler yoğun kırmızı renkte boyanmıştı ve ondülasyon dikkat çekiciydi. Kas lifinde enine çizgilenmeler ve çekirdeklerin periferik yerleşimli oldukları gözlemlendi. Kasın tendonla birleşim yerinde çekirdeklerin çok daha yuvarlaklaştığı ve birbirine karıştığı izleniyordu (Resim 2a-b). Kollajen lifler arasında ara madde çok dar alanlarda dağılmıştı (Resim 3a-b).

Ergin grupta, aşil tendonunun boyamalarında tendona ait kollajen liflerde ondülasyonun prepubertal gruba karşın daha az olduğu ilgi çekiyordu. Tenositlerin yer yer iğ şeklinde, yer yer de daha ovalimsi yapıda olduğu gözleniyordu (Resim 4a-b, 5a-b, 6a-b).

Kas ve kas-tendon bağlantı bölgesinde yine çekirdeklerin son derece fazla olduğu ve yuvarlak şekilli olarak devamlılık gösterdiği ayırt ediliyordu. Kas lifinde enine çizgiler ve periferde yerleşik çekirdekler belirgindi (Resim 4b, 5a-b). Bu grupta prepubertal gruba karşın kollajen liflerin yer yer açıldığı ve ara maddenin arttığı dikkati çekti. Büyük

büyültmede çekirdeklerin yer yer ovalleştiği ve çoğunlukla bir sıra halinde bir araya geldiği ilgi çekiciydi (Resim 6a-b).

Geç ergin grupta ise pikrik asit-sirius kırmızısı boyamasında tenositlerin çekirdeklerinin diğer gruplara karşı daha az ve çoğunlukla da oval şekilli ve yan yana yerleştikleri dikkat çekiyordu (Resim 7a-b, 8a-b, 9a-b).

Kas lifi ile tendonunun birleşme bölgesinde çekirdekler yoğun ve kas lifleri arasında bağ dokusu ara madde artışı ilgi çekiciydi (Resim 7b-8a). Yine geç ergin grupta kollajen lifler arasında açılmış bölgelerde kan damarları artmıştı (Resim 9b).

İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Kollajen tip I

Kollajen tip I antikoru immunohistokimyasal olarak boyanmış prepubertal grup aşıl tendonunda kollajen liflerin kenar bölgelerinin daha fazla olmak üzere boyandığı gözlemlendi. Tenositte boyanma yoktu. Kollajen lifler arasındaki dokuda yer yer ortadan aza değişen immunreaktivite dikkat çekiyordu (Resim 10a-b, 11).

Ergin grupta kollajen liflerin, kollajen tip I antikoru ile yapılan boyamasında prepubertal gruba göre biraz daha fazla tutulum gösterdiği dikkat çekiyordu. Tenosit kenar bölgelerinde membranöz düzeyde boyanma daha fazlaydı (Resim 12a-b, 13a-b).

Geç ergin grupta ise tenositlerde boyanma daha fazla iken kollajen liflerde tutulumun daha az olduğu izlendi (Resim 14a-b).

TGF- β

Prepubertal gruba ait aşıl tendonlarında TGF- β immunohistokimyasal boyamalarında, tendon hücre sitoplazmasının ve çevresindeki alanların oldukça yoğun tutulum gösterdiği izlendi (Resim 15a).

Büyük büyültmede tutulumun tenosit hücrelerinin çevresinde yoğun olduğu, kollajen liflerde ise TGF- β immünreaktivitesinin gözlenmediği saptandı (Resim 15b).

Ergin grupta tenositlerde ve çevresinde yoğun TGF- β tutulumu varken, kollajen liflerindeki tutulumun zayıf dereceli olduğu görüldü (Resim 16a-b, 17).

Geç ergin grupta ise tutulumun hem tenositlerde hem de kollajen liflerde fazla olduğu ayırt ediliyordu (Resim 18a- b).

FGF-1

FGF-1 antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamada prepubertal grupta tenosit çevresinde ortadan zayıfa değişen bir tutulumun varlığı izlenirken, ergin grupta bunun bir miktar daha arttığı görüldü (Resim 19a-b, 20a-b). Geç ergin grupta ise, prepubertal gruba benzer FGF-1 immünreaktivitesi olduğu izlendi (Resim 21a-b).

S-100

S-100 primer antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamada prepubertal grupta S-100'ün tenositlerde orta dereceli tutulumu ayırt edilirken, ergin grupta tenosit düzensizliği ve tutulumun son derece fazla olduğu dikkati çekti (Resim 22, 23a-b, 24, 25 a-b). Geç ergin grupta ise tenosit düzeyinde tutulum oldukça fazlaydı (Resim 26, 27a-b).

ELEKTRON MİKROSKOBİK BULGULAR

Prepubertal gruba ait elektron mikroskopik incelemelerde tenositlerin son derece aktif olduğu, GER (granüllü endoplazmik retikulum)'ın tubuluslarının yer yer genişlediği ve sarnıç benzeri yapılar oluşturduğu izlendi. Genişlemiş tubuluslar içinde az yoğun salgı materyali birikimi dikkati çekti. Tenositlerin hücre zarından yeni oluşan kollajen liflerin salındığı görüldü (Resim 28a-b).

Büyük büyültmeli resimde tenosit çekirdeği yuvarlak şekli ve belirgin çekirdekçığı ile izlenirken, sitoplazmada mitokondriyonlar yuvarlak şekilleri ve raf benzeri kristalleri ile görüldü. Hücre sitoplazmasında ribozomlar ayırt ediliyordu. Kollajen lif düzenlenmesinin tenositlere koştur ve yer yer enine çizgilenmeler gösterdiği dikkat çekti (Resim 29a-b).

Büyük büyültmede tenositlerde geniş GER tubulusları, örtülü vezikül ve vakuoller gözleniyordu. Geniş GER tubuluslarında birikmiş salgı materyali dikkat çekti. Sitoplazmada yeni biçimlenen kollajen liflerin dışarı verildiği ayırt edildi (Resim 29a-b).

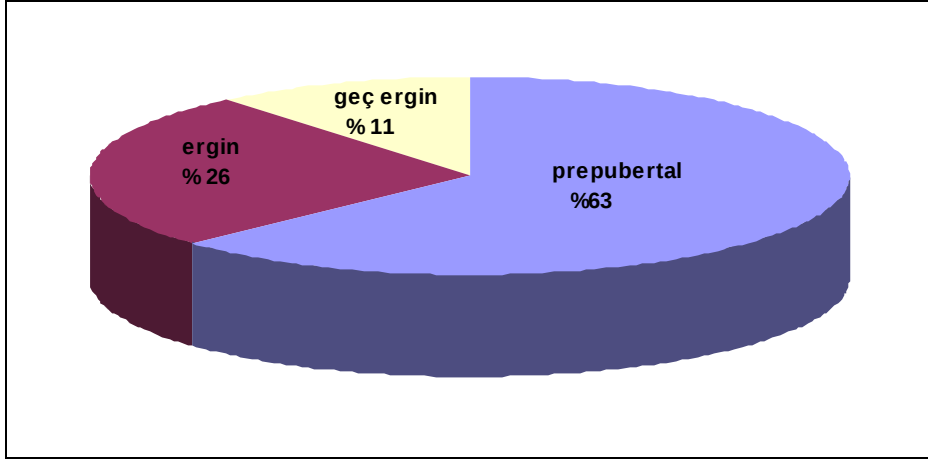
Ergin grupta yer yer dinlenme evresindeki tenositler ve kollajen lifler ayırt edilirken, yine aktif tenositlerde sitoplazmik organik düzenlenimleri ile dikkati çekiyordu (Resim 30a-b, 31).

Geç ergin grupta ise tenositlerin büyük çoğunluğunun dinlenme evresinde olduğu, ara maddenin arttığı, kollajen yapımının azaldığı dikkati çekiyordu. Bazı tenositlerde sitoplazmanın hala aktif olduğu, bazılarında ise çekirdeğin biraz daha yuvarlaklaştığı, sitoplazmada yoğun lipid benzeri maddelerin birikimi gözlemlendi. Bunun da yaşlanma süreci sonucu ortaya çıktığı kabul edildi (Resim 32a-b, 33a-b-34).

İSTATİKSEL BULGULAR

Prepubertal, ergin ve geç ergin gruplara ait tenosit sayılarının minimum, maksimum ve ortalama değerleri tablo I' de verilmiştir (Şekil 6).

Kruskal-Wallis H testine göre 0,05 anlamlılık düzeyinde Ki-kare (χ^2) test istatistiği 103,536 olarak elde edilmiştir. Hesaplanan P değeri <0,05 bulunduğundan prepubertal, ergin ve geç ergin yaş grupları arasında tenosit sayısı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (Tablo II).



Şekil 6 . Prepubertal, ergin ve geç ergin gruplara ait tenosit sayısının dağılımı

Scheffe testi (çoklu karşılaştırmalar) istatistiğinde gruplar, ikili gruplar şeklinde birbirleri ile karşılaştırılmış ve P değerleri hesaplanmıştır. Sonuç olarak;

- Prepubertal gruptaki tenosit sayısı ergin gruptaki tenosit sayısına göre daha fazla olduğu istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuştur.
- Prepubertal gruptaki tenosit sayısı geç ergin gruptaki tenosit sayısına göre daha fazla olduğu istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuştur.
- Ergin gruptaki tenosit sayısı geç ergin gruptaki tenosit sayısına göre daha fazla olduğu istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bulunmuştur (Tablo III).

Tablo I. Her bir grubun tenosit sayıları bakımından istatistiksel olarak genel analizi

	N	minimum	maksimum	aritmetik ortalama	standart sapma
Prepubertal	40	97,00	126,00	111,1250	6,39787
Ergin	40	22,00	75,00	45,7750	17,28418
Geç ergin	40	10,00	27,00	18,4250	5,13853

Tablo II. İki grup arasında Kruskal-Wallis H testi

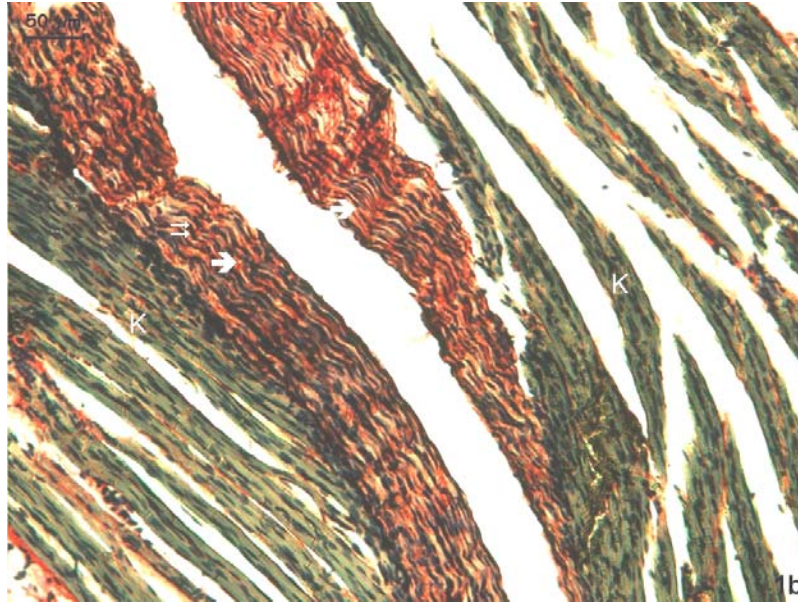
Değişimin kaynağı	Kareler toplamı	χ^2 değeri	<i>P değeri</i>
Gruplar içi	181492,5	103,536	0,000
Gruplar arası	14277,125		
Toplam	195769,6		

Tablo III. Gruplar arasındaki tenosit sayısının Scheffe testi karşılaştırılması

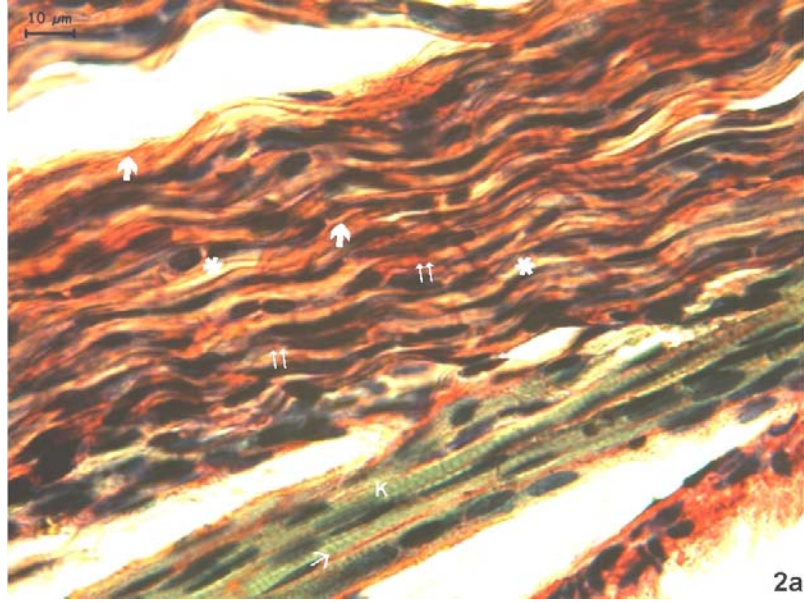
Gruplar	<i>P değeri</i>
Prepubertal -Ergin	0,000
Prepubertal-Geç ergin	0,0001
Ergin- Geç ergin	0,0001



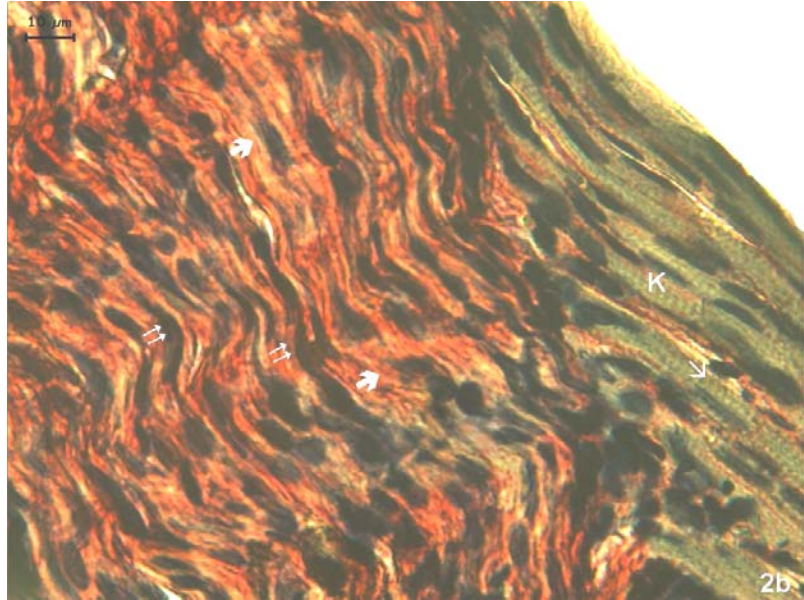
Resim 1a: Prepubertal grup - aşil tendonunda dalgalanma gösteren kollajen lifler (→), tenositler (⇔), çevre bağ dokusu (*) görülüyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X40).



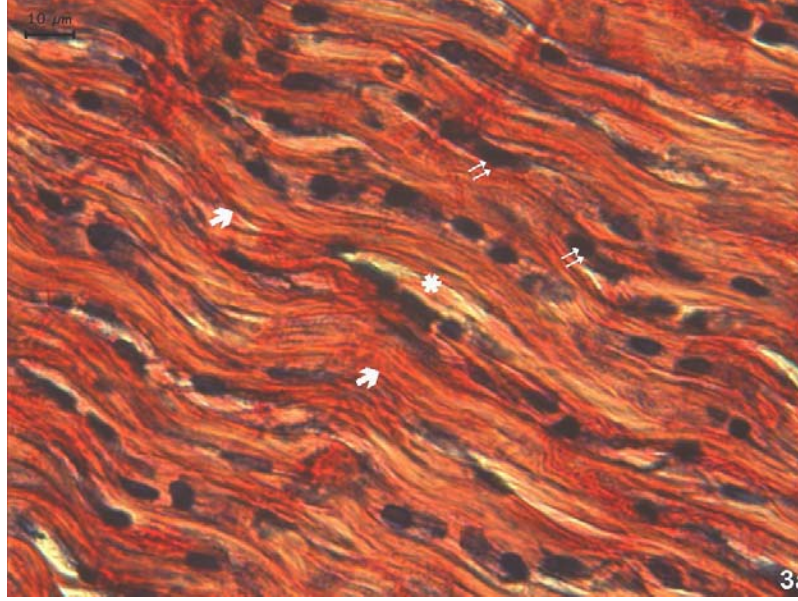
Resim 1b: Prepubertal grup - dalgalanma gösteren kollajen lifler (→), tenositler (⇔), kas (K) izleniyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X100).



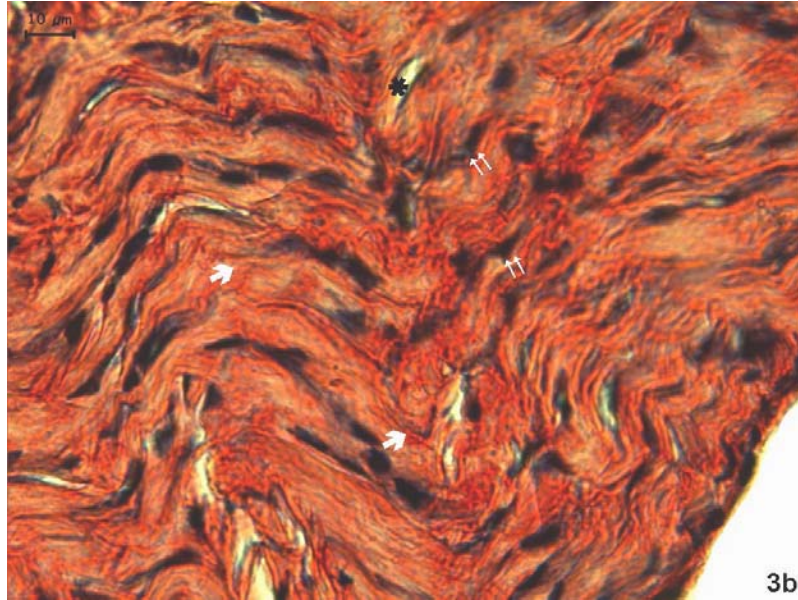
Resim 2a: Prepubertal grup - aşıl tendonunda kırmızı renkli dalgalanma gösteren kollajen lifler (➡), tenositler (⇔), ara bağ dokusu (*), kas (K) dokudaki çizgilenme (→) ayırt ediliyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



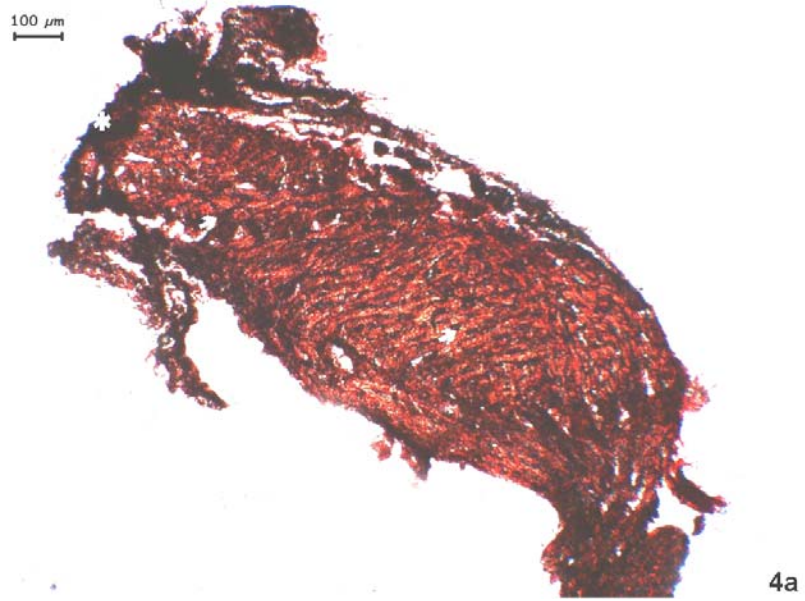
Resim 2b: Prepubertal - dalgalanma gösteren kollajen lifler (➡), tenositler (⇔), kas (K) dokusundaki çizgilenme (→) görülüyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



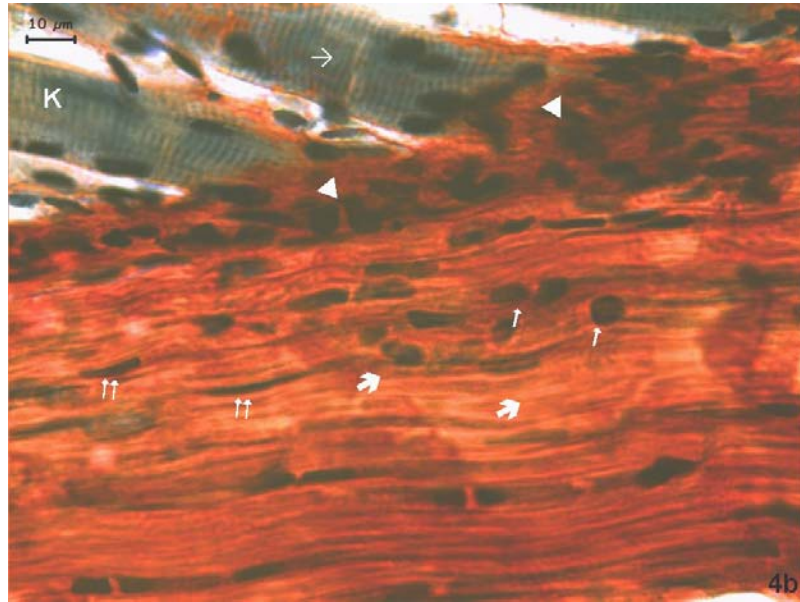
Resim 3a: Prepubertal grup- dalgalanma gösteren kollajen lifler (➡), tenositler (⇔), ara bağ dokusu (*) ayırt ediliyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



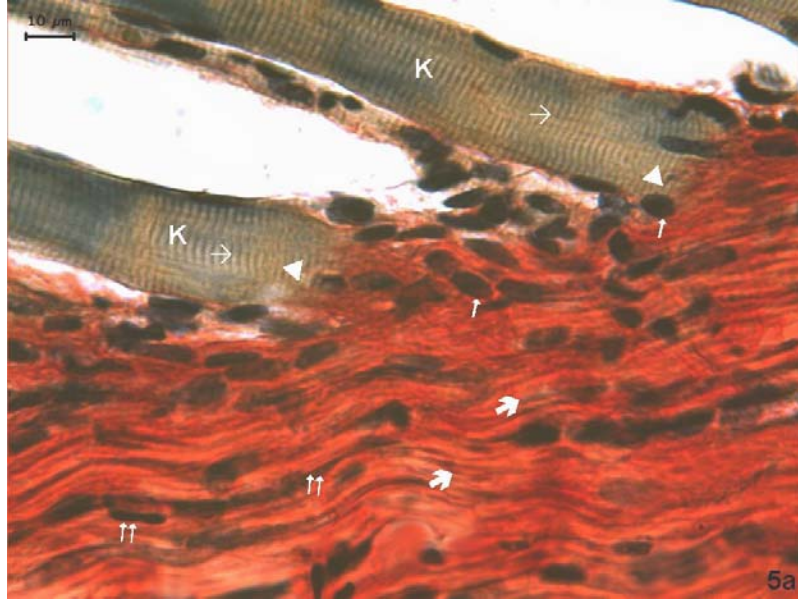
Resim 3b: Prepubertal grup- dalgalanma gösteren kollajen lifler (➡), tenositler (⇔), ara bağ dokusu (*) izleniyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



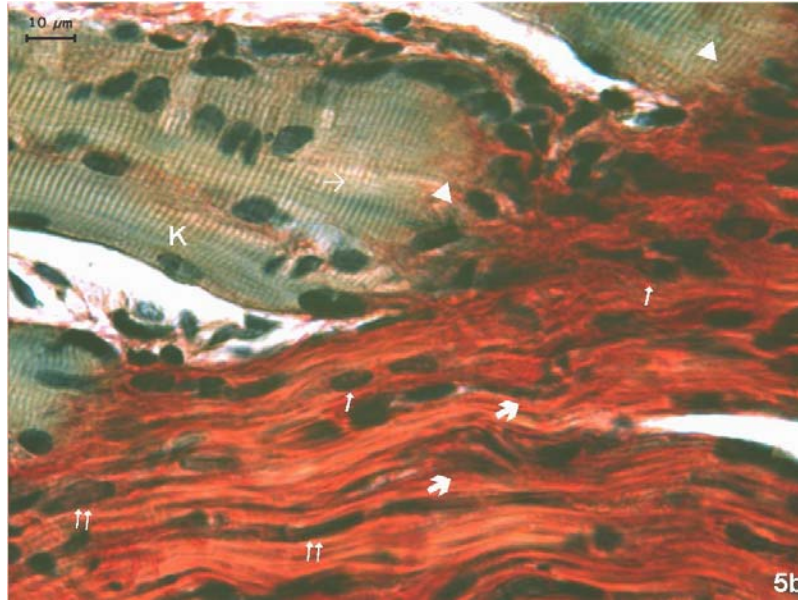
Resim 4a: Ergin grup- kırmızı renkte izlenen kollajen lifler (→) ve çevre bağ dokusu (*) görülüyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X40).



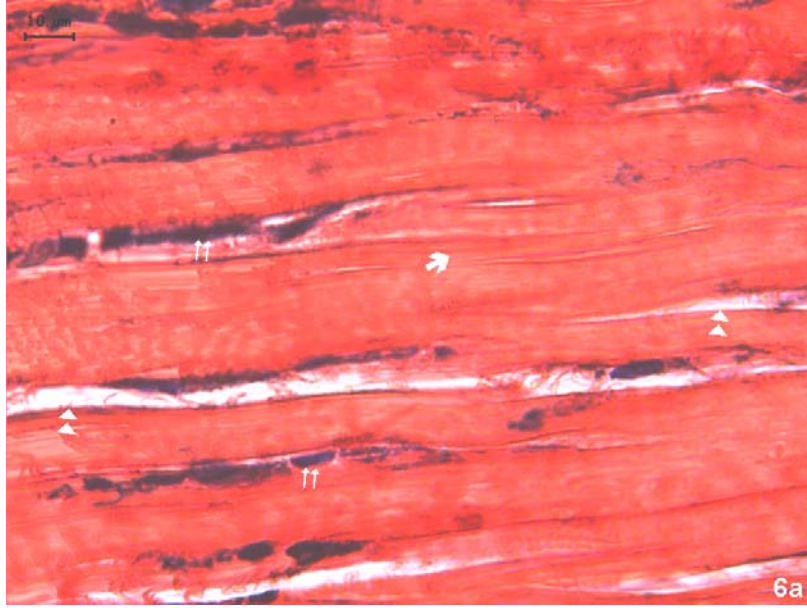
Resim 4b: Ergin grup- kollajen lifler (→), iğ şekilli çekirdekleri izlenen tenositler (⇔), kas ve tendonun birleşme bölgesinde görülen oval çekirdekli tenositler (▶), kas (K) dokusundaki çizgilenme (→) izleniyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



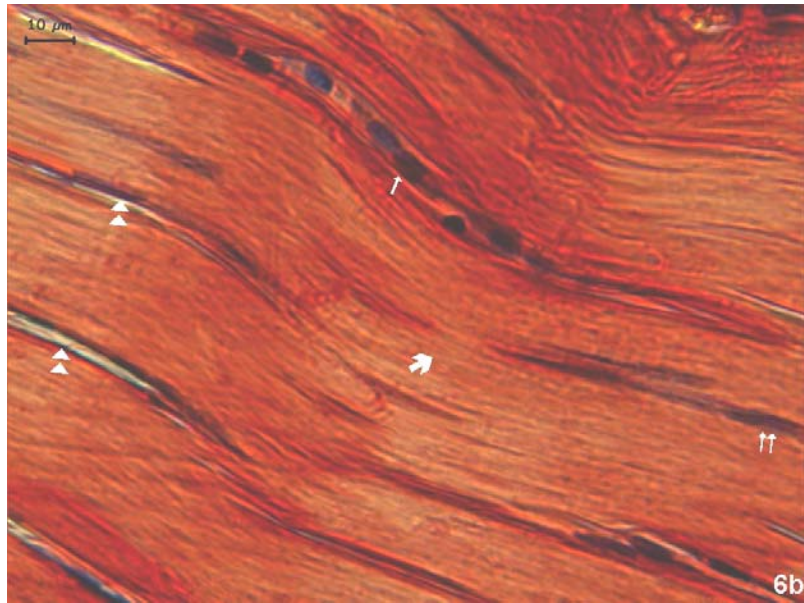
Resim 5a: Ergin grup- kollajen lifler (→), iğ şekilli çekirdekleri izlenen tenositler (⇨), ve tendonun birleşme bölgesinde (⇧) görülen oval çekirdekli tenositler (↑), kas (K) dokusundaki çizgilenme (→) ayırt ediliyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



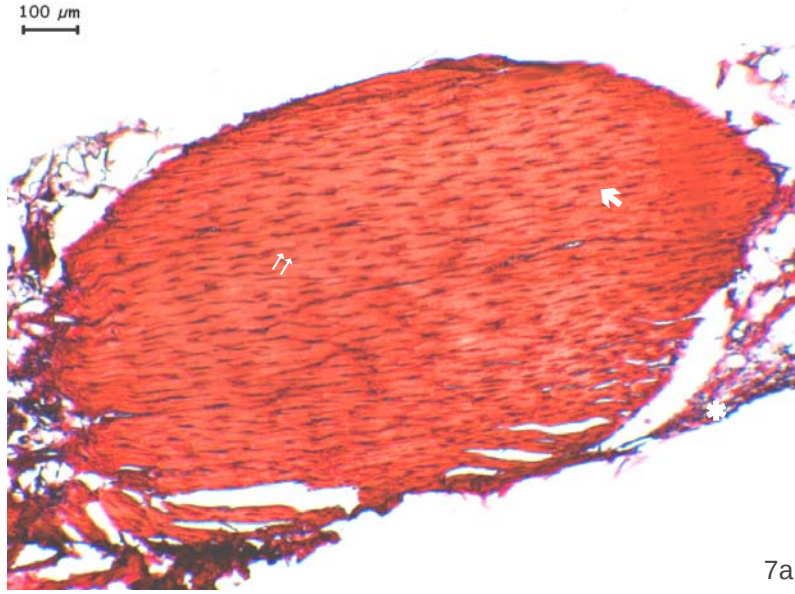
Resim 5b: Ergin grup- aşıl tendonundaki kollajen lifler (→), iğ şekilli çekirdekleri izlenen tenositler (⇨), kas ve tendonun birleşme bölgesinde görülen (⇧) oval çekirdekli tenositler (↑), kas (K) dokusundaki çizgilenme (→) dikkati çekiyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



Resim 6a: Ergin grup-kırmızı renkli olarak izlenen kollajen lifler (➡), iğ şeklindeki çekirdekleri ile tenositler (⇔), kollajen lifler arasında görülen açılmalar (▴▴) izleniyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).

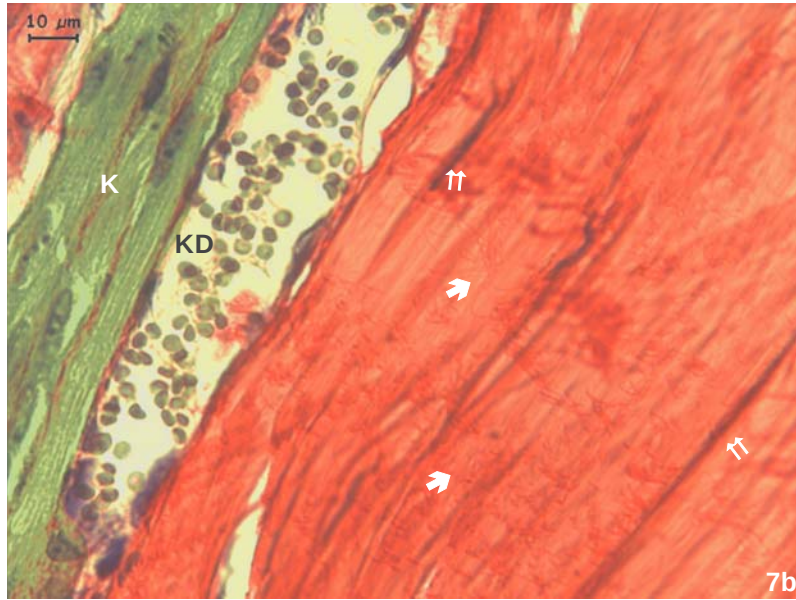


Resim 6b: Ergin grup-kırmızı renkli olarak izlenen kollajen lifler (➡), iğ şeklindeki çekirdekleri ile tenositler (⇔), kollajen lifler arasında görülen açılmalar (▴▴) (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



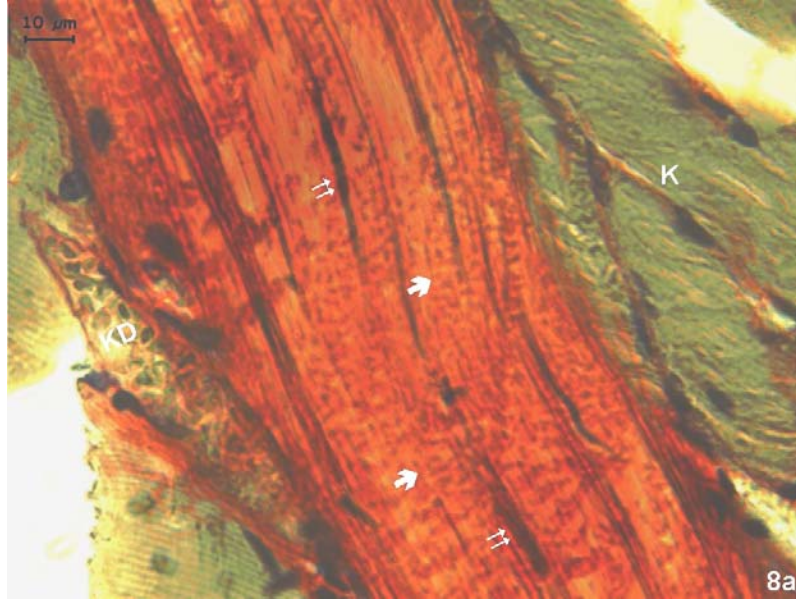
7a

Resim 7a: Geç ergin- kollajen lifler (➔), tenositler (⇔), çevre bağ dokusu (*) görülüyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X40).

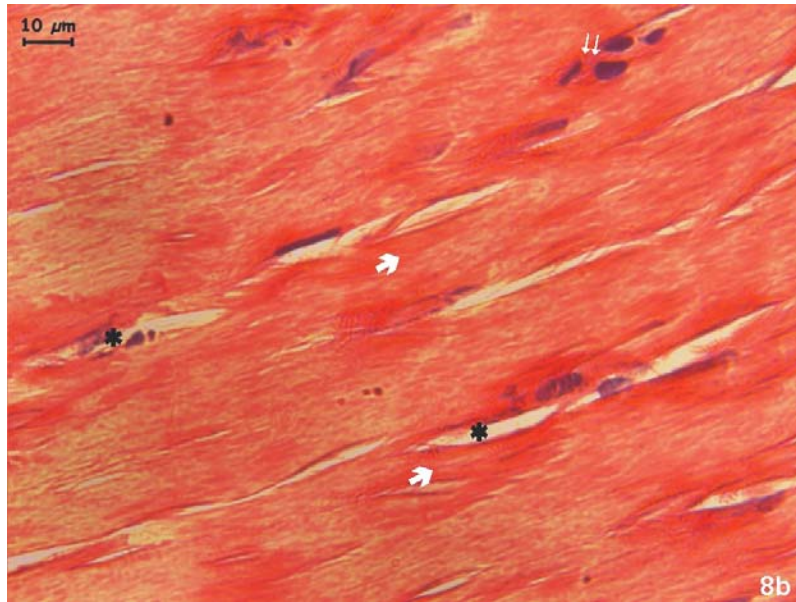


7b

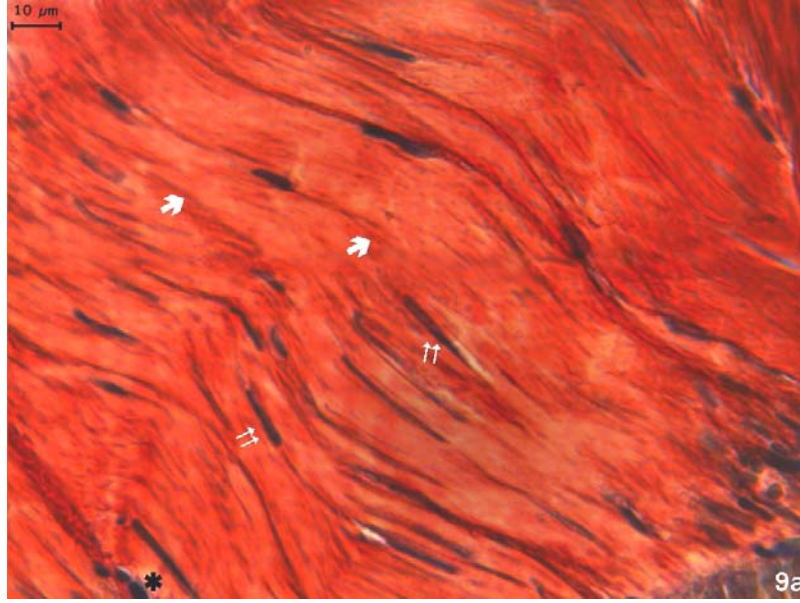
Resim 7b: Geç ergin grup- aşıll tendonundaki kollajen lifler (➔), iğ şekilli tenosit çekirdekleri (⇔), kas (K), ara bağ dokuda izlenen kan damarı (KD) izleniyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



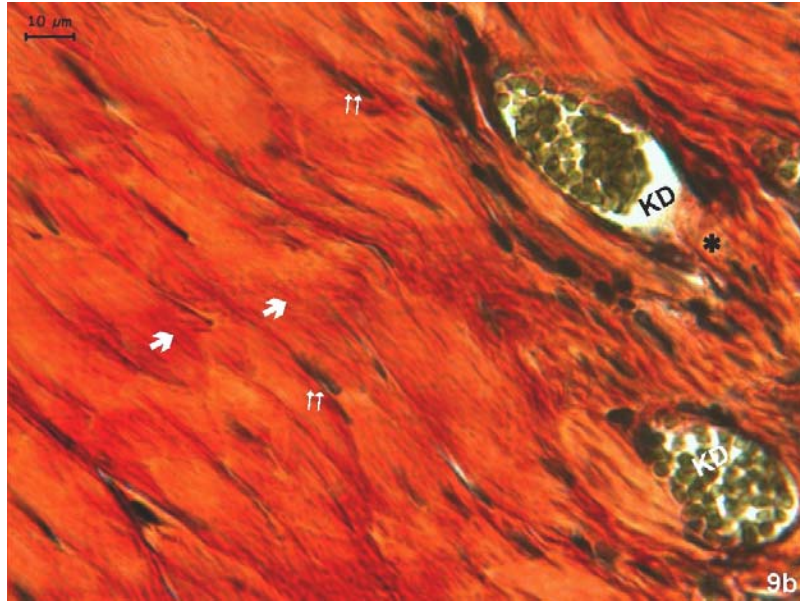
Resim 8a: Geç ergin grup- aşıl tendonunda yapılan sirius kırmızısı ile yapılan boyamada kırmızı renkli kollajen lifler (➔), tenositler (⇔), yeşil renkte izlenen kas (K) dokusu görülüyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



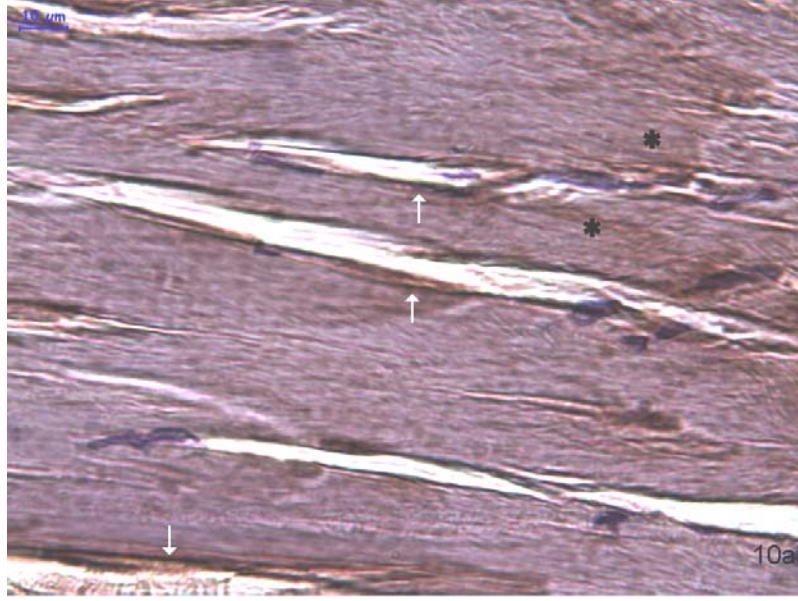
Resim 8b: Geç ergin grup- kollajen lifler (➔), tenositler (⇔), artan ara bağ dokusu (*) ilgiyi çekiyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



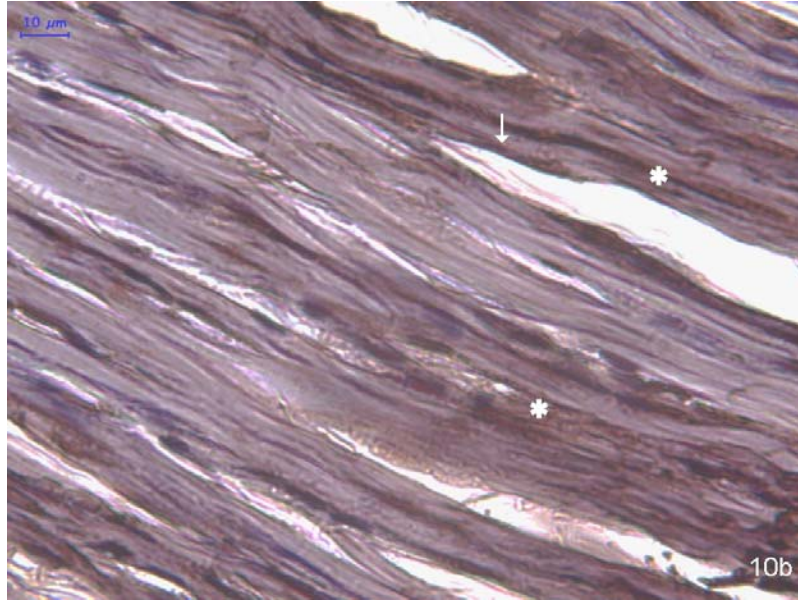
Resim 9a: Geç ergin grup- aşıl tendonunda sirius kırmızısı ile yapılan boyamada kırmızı renkli kollajen lifler (➡), iğ şekilli çekirdekleri (⇔) ile tenositler izleniyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



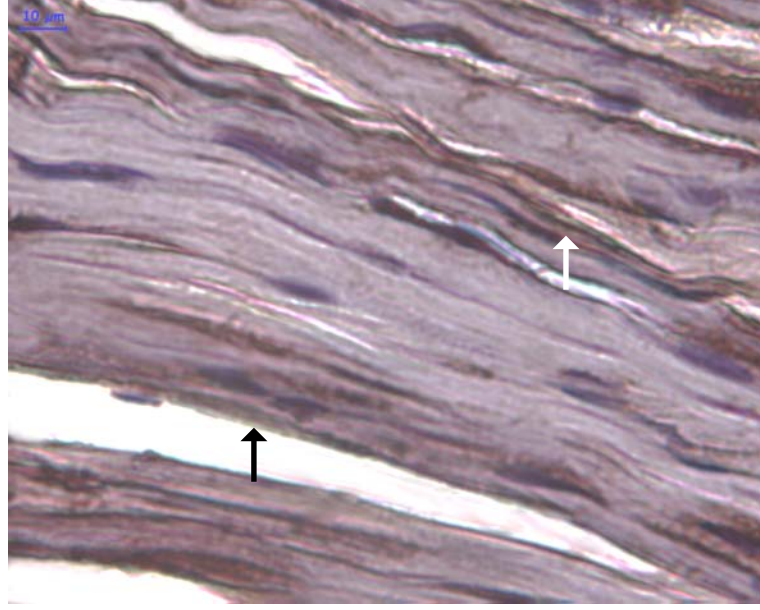
Resim 9b: Geç ergin grup- kollajen lifler (➡), tenositler (⇔), ara bağ dokusu (*) ve kan damarları (KD) görülüyor (Pikrik asit - sirius kırmızısı X400).



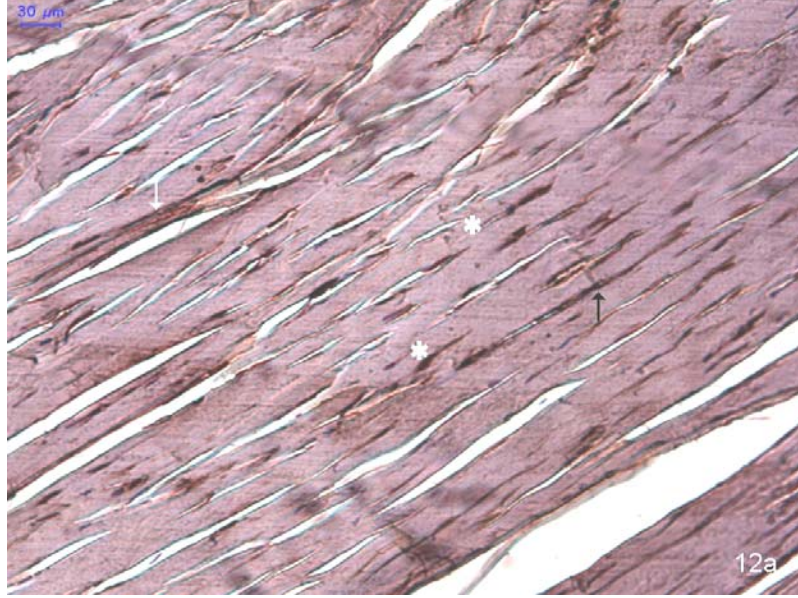
Resim 10a: Prepubertal grup aşıl tendonunda kollajen tip I antikoru ile yapılan boyamada kollajen liflerde görölen immünreaktivite (↑) ayırt ediliyor (Peroxidaz – Antiperoxidaz X100).



Resim 10b: Prepubertal grup aşıl tendonunda kollajen liflerde ortadan aza değişen kollajen tip I immünreaktivitesi (↑) izleniyor (Peroxidaz –Antiperoxidaz X400).



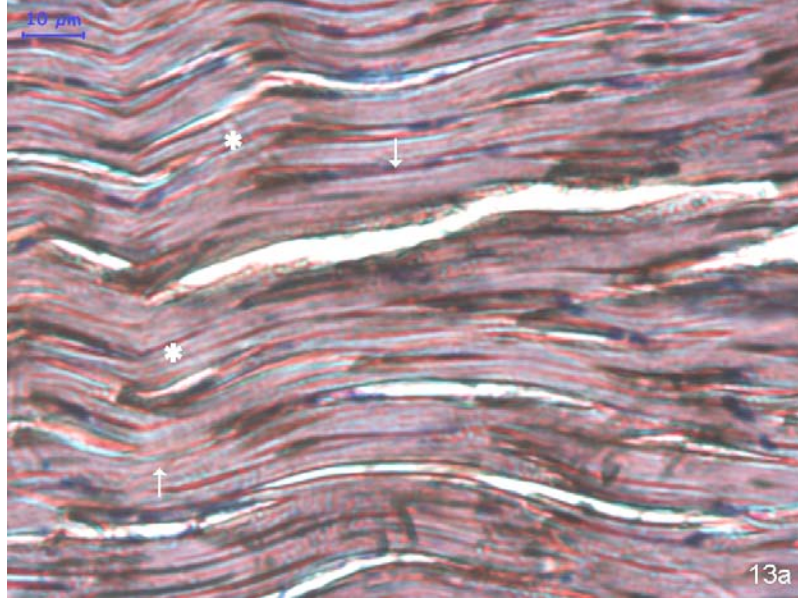
Resim 11: Prepubertal grup aşıl tendonunda kollajen liflerin kenar bölgelerinde izlenen ortadan aza değişen kollajen tip I immünreaktivitesi (↑) (Peroksidaz –Antiperoksidaz x 400).



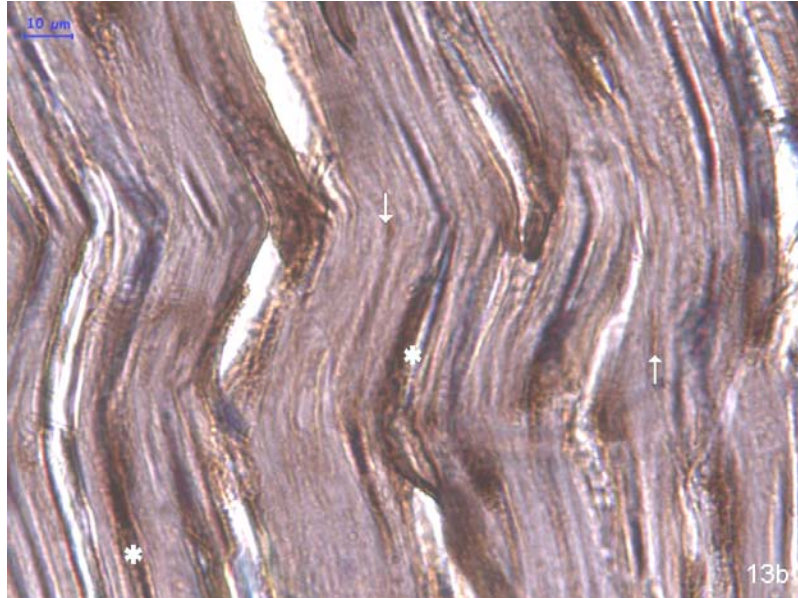
Resim 12a: Ergin grup- kollajen tip I primer antikoru ile yapılan immünohistokimyasal incelemede kollajen liflerde (↑) ve tenosit uzantılarındaki (*) immünreaktivite görülüyor (Peroxidaz – Anti peroksidaz X100).



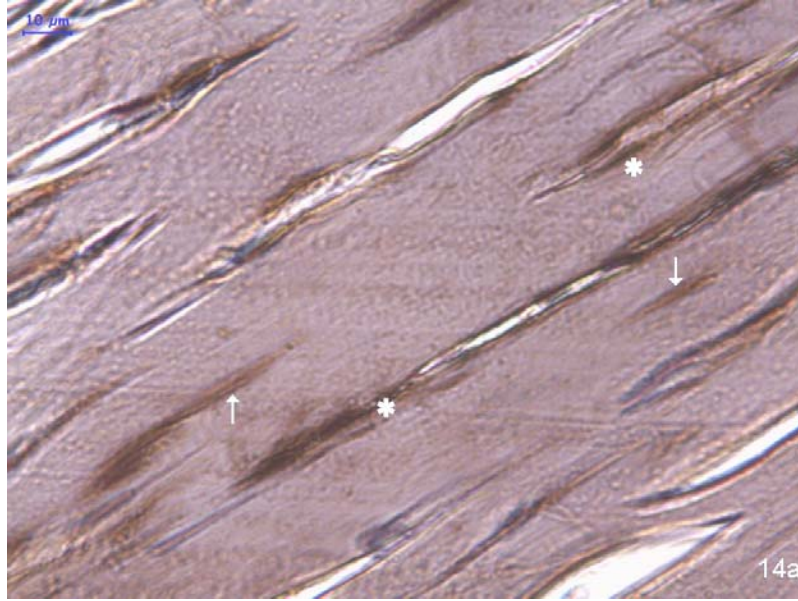
Resim 12b: Ergin grup- kollajen liflerde (↑) ve tenosit uzantılarında (*) kollajen tip I immünreaktivitesi görülüyor (Peroxidaz – Anti peroksidaz X100).



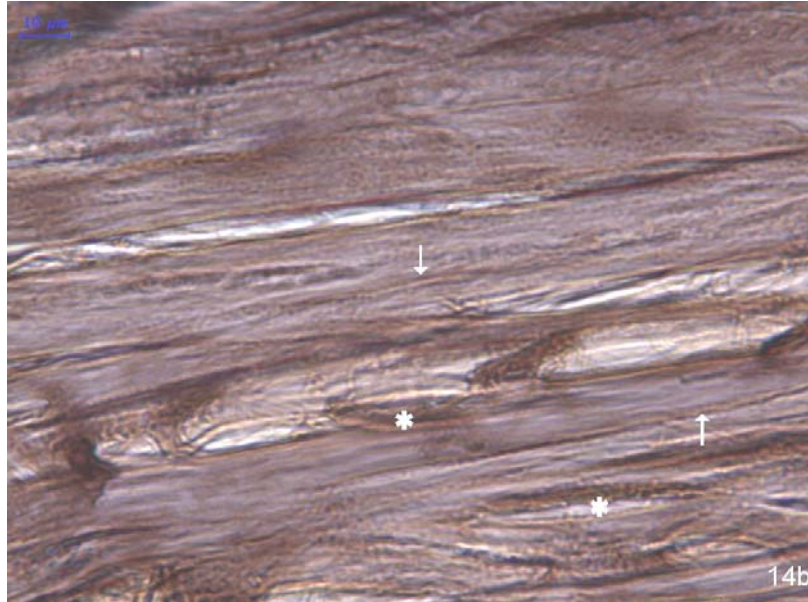
Resim 13a: Ergin grup- kollajen tip I primer antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyamada kollajen liflerde (↑) ve tenosit uzantılarında (*) görülen immünreaktivite (Peroksidaz – Anti peroksidaz X400).



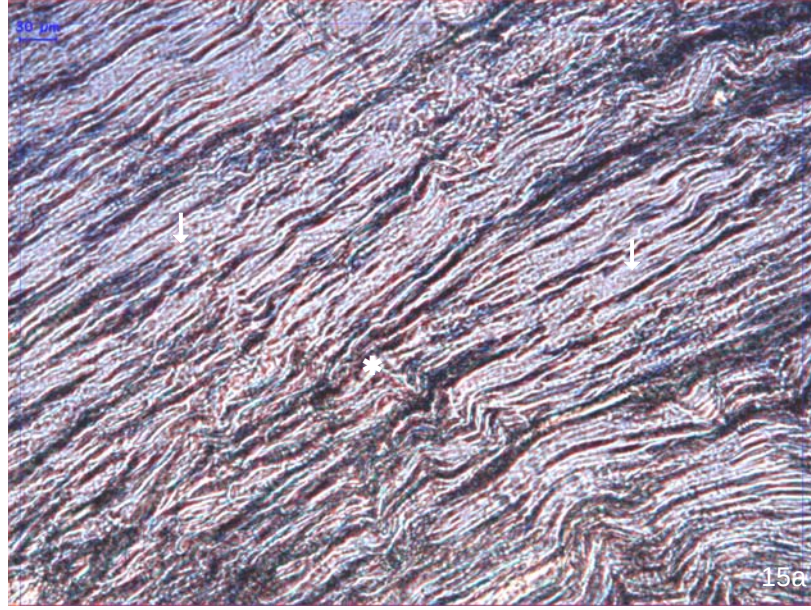
Resim 13b: Ergin grup- kollajen liflerde (↑) ve tenosit uzantılarında (*) kollajen tip I immünreaktivitesi ayırt ediliyor (Peroksidaz – Anti peroksidaz X400).



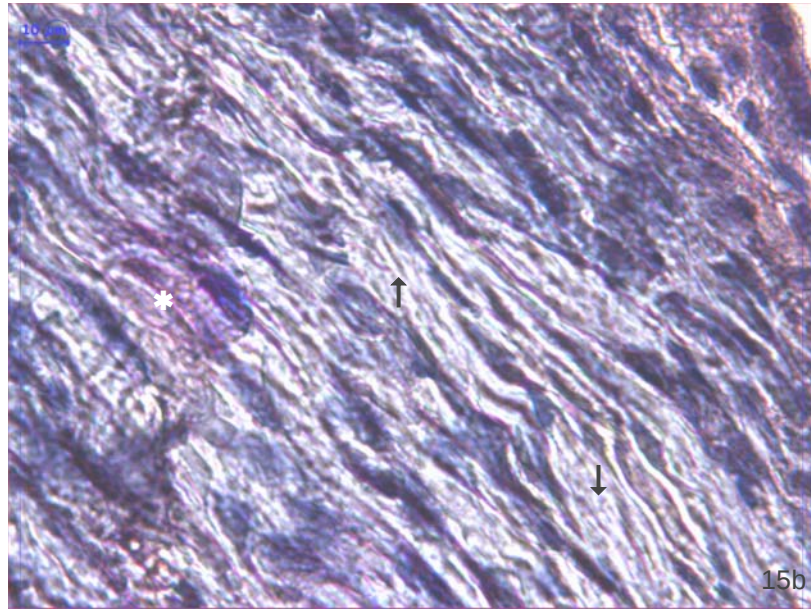
Resim 14a: Geç ergin grup- aşıl tendonunda kollajen tip I primer antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyamada, tenositlerde (*) ve kollajen liflerdeki (↑) immünreaktivite görülüyor (Peroxidaz – Anti peroksidaz X400).



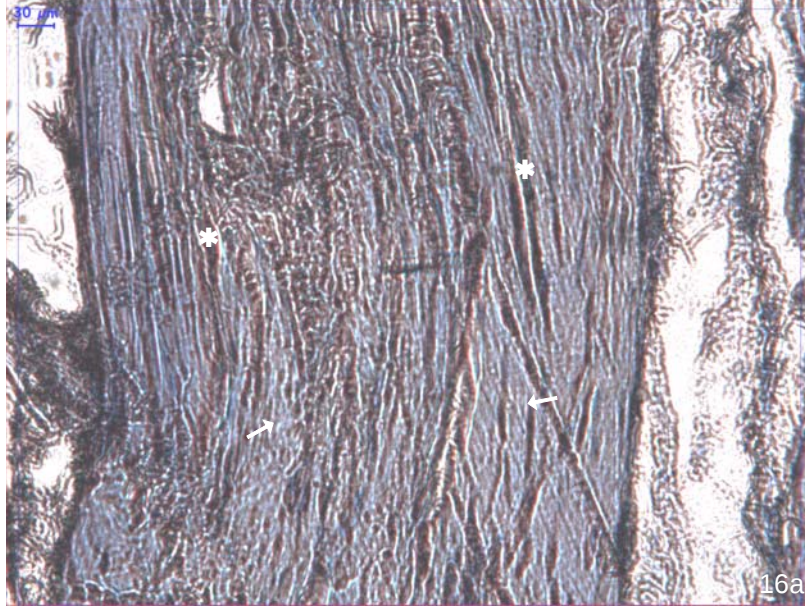
Resim 14b: Geç ergin grup- aşıl tendonunda tenositlerde (*) ve kollajen liflerdeki (↑) kollajen tip I tutulumu ayırt ediliyor (Peroxidaz – Anti peroksidaz X400).



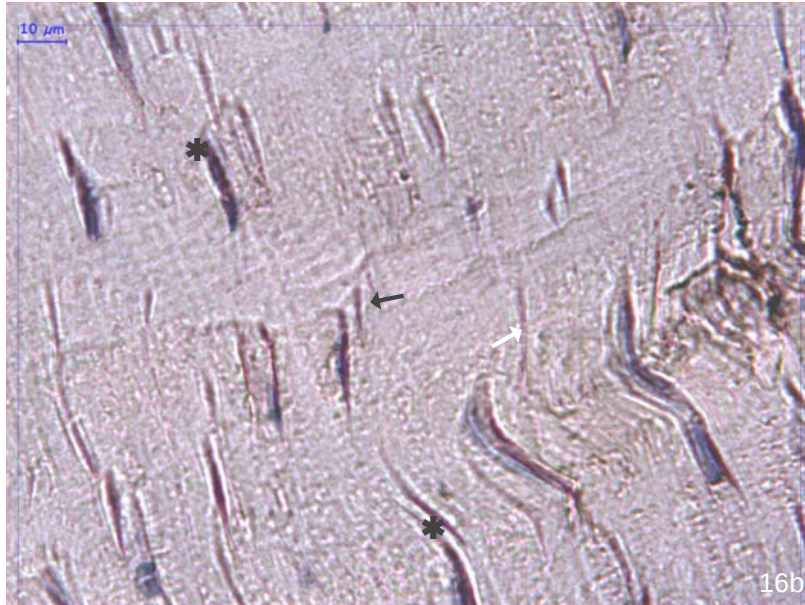
Resim 15a: Prepubertal grup- aşıll tendonunda yapılan TGF β immünohistokimyasal boyamasında tenositlerde (*) ve kollajen liflerdeki (↑) immünreaktivite (Peroksidaz – Anti peroksidaz X100).



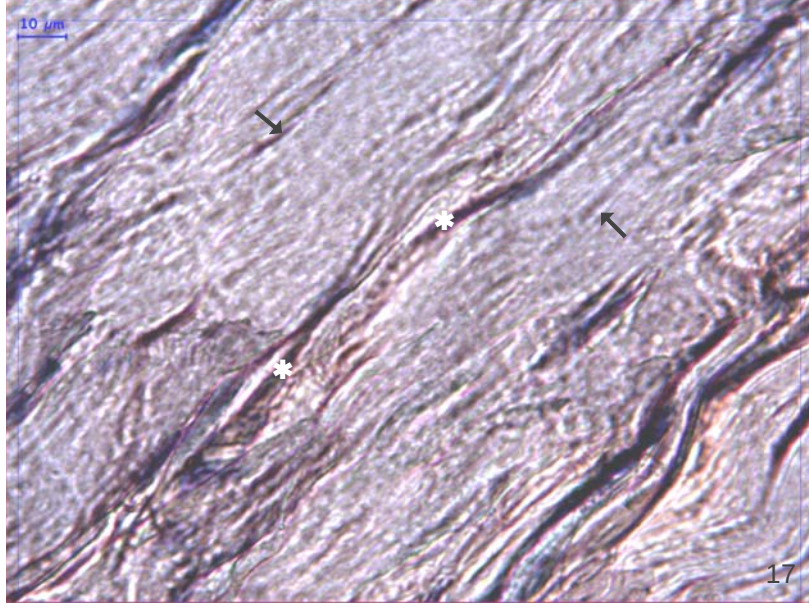
Resim 15b: Prepubertal grup-aşıll tendonunda yapılan TGF β immünohistokimyasal boyamasında tenositlerde (*) ve kollajen liflerdeki (↑) immünreaktivite (Peroksidaz – Anti peroksidaz X400).



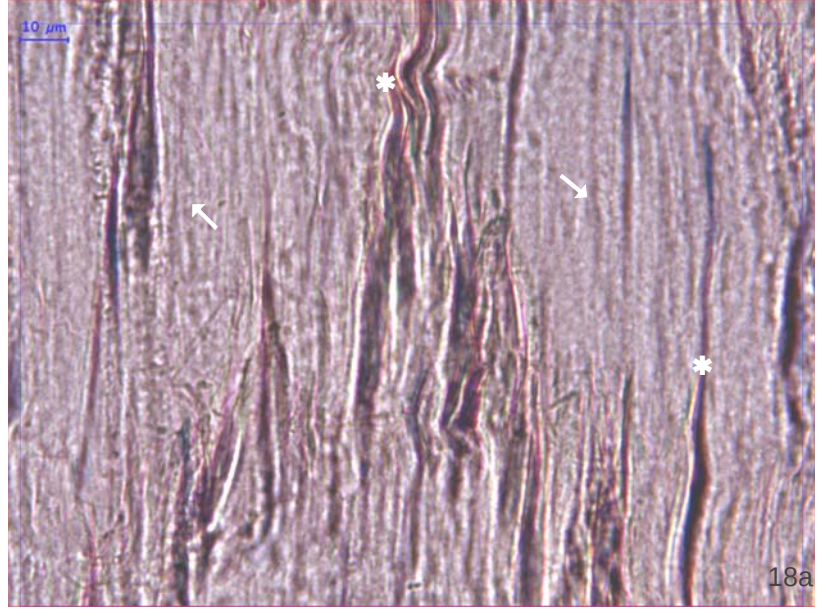
Resim 16a: Ergin grup- aşıll tendonunda yapılan TGF- β immünohistokimyasal boyamasında tenosit ve çevresinde (*) yoğun immünreaktivite izlenirken, kollajen liflerde zayıf (↑) immünreaktivite görülüyor (Peroksidaz – Anti peroksidaz X100) .



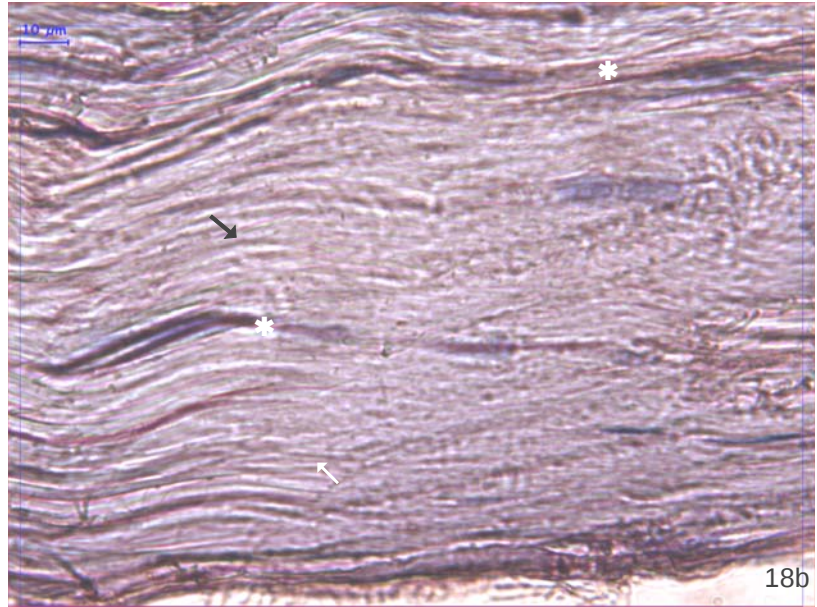
Resim 16b: Ergin grup-aşıll tendonunda, tenosit ve çevresindeki (*) yoğun, kollajen liflerdeki zayıf (↑) TGF- β tutulumu izleniyor (Peroksidaz – Anti peroksidaz X400).



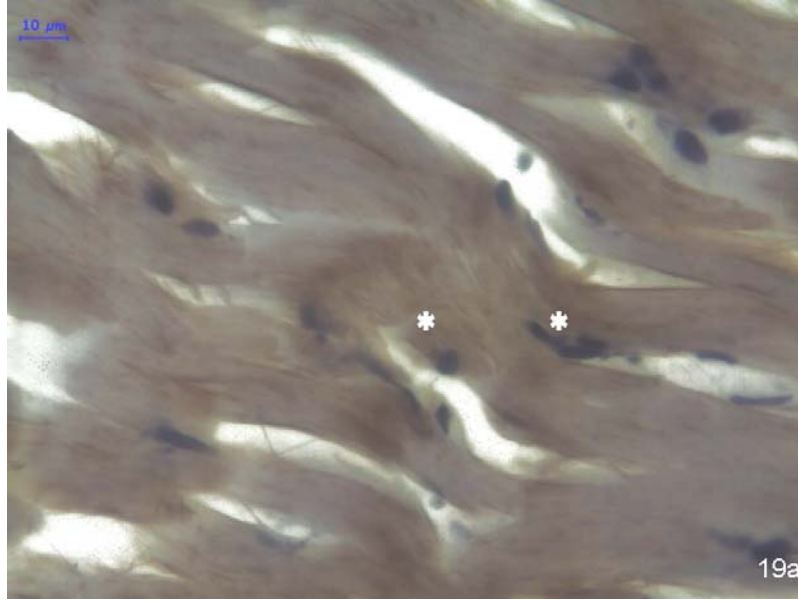
Resim 17: Ergin grup- aşıl tendonunda, tenosit ve çevresindeki (*) immünreaktivite ve kollajen liflerdeki zayıf (†) TGF-β immünreaktivitesi ayırt ediliyor (Peroxidaz–Anti peroksidaz X400).



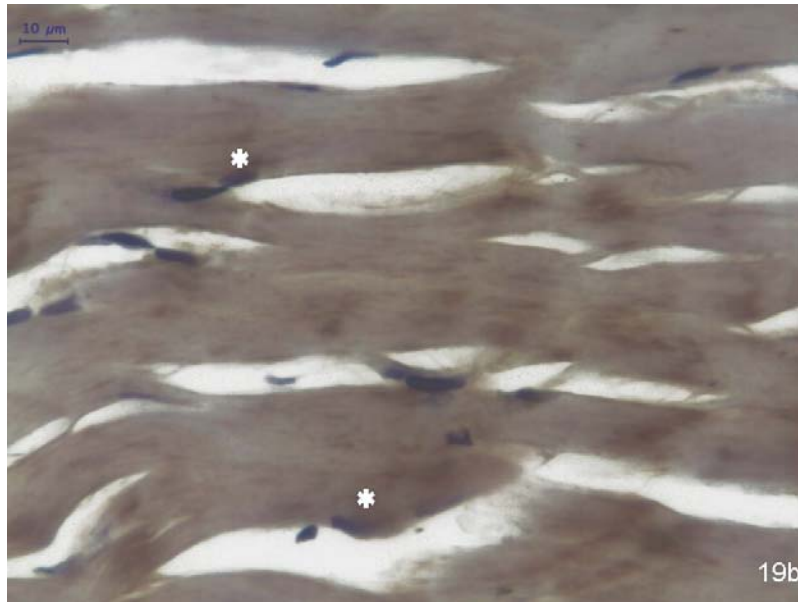
Resim 18a: Geç ergin grup- aşıl tendonunda yapılan TGF- β immünohistokimyasal boyamasında tenositlerde (*) ve kollajen liflerdeki (↑) yoğun immünreaktivite görülüyor (Peroxidaz – Anti peroksidaz X400).



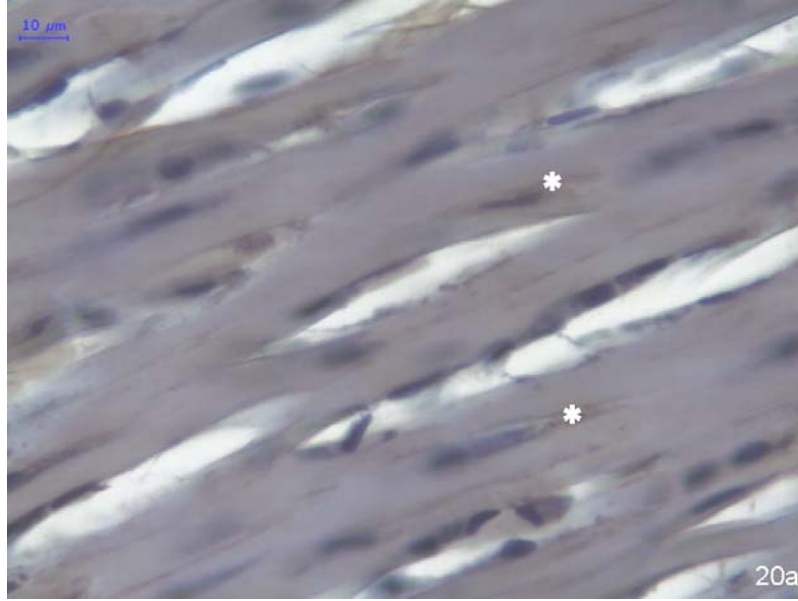
Resim 18b: Geç ergin grup- aşıl tendonunda, tenositlerde (*) ve kollajen liflerdeki (↑) yoğun TGF- β immünreaktivitesi izleniyor (Peroxidaz –Anti peroksidaz X400).



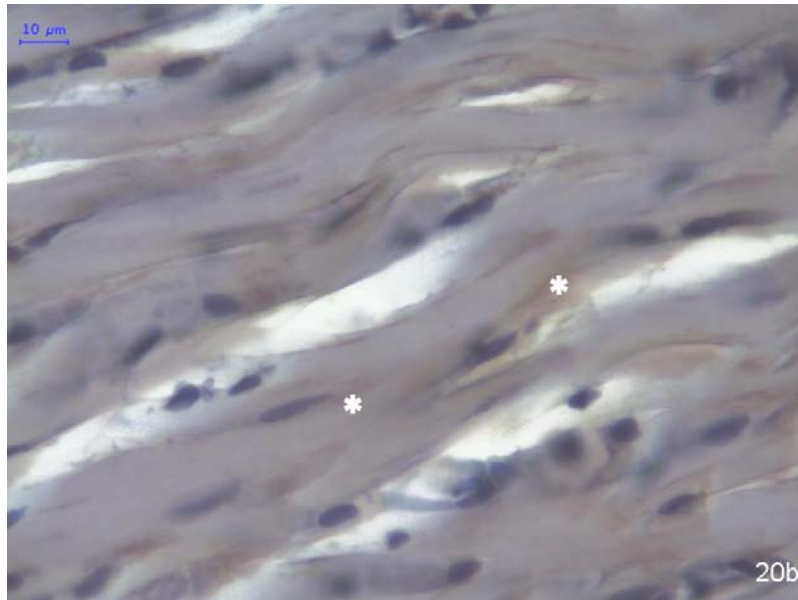
Resim 19a: Prepubertal grup- aşı tendonunda yapılan FGF-1 immünohistokimyasal boyamasında tenositlerde (*) ortadan zayıfa değişen antikor tutulumu izleniyor (Peroxidaz – Anti peroksidaz X400).



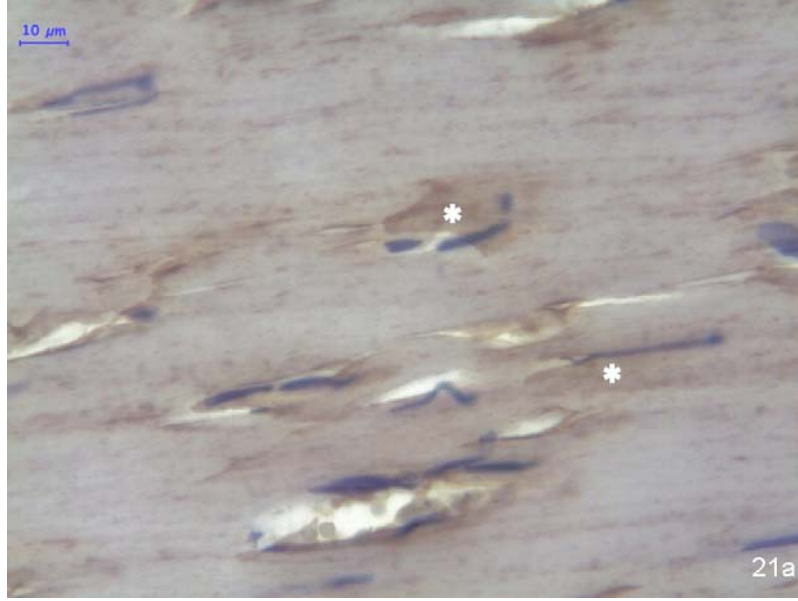
Resim 19b: Prepubertal grup- aşı tendonunda, tenosit ve çevresindeki (*) ortadan zayıfa değişen FGF-1 tutulumu izleniyor (Peroxidaz –Anti peroksidaz X400).



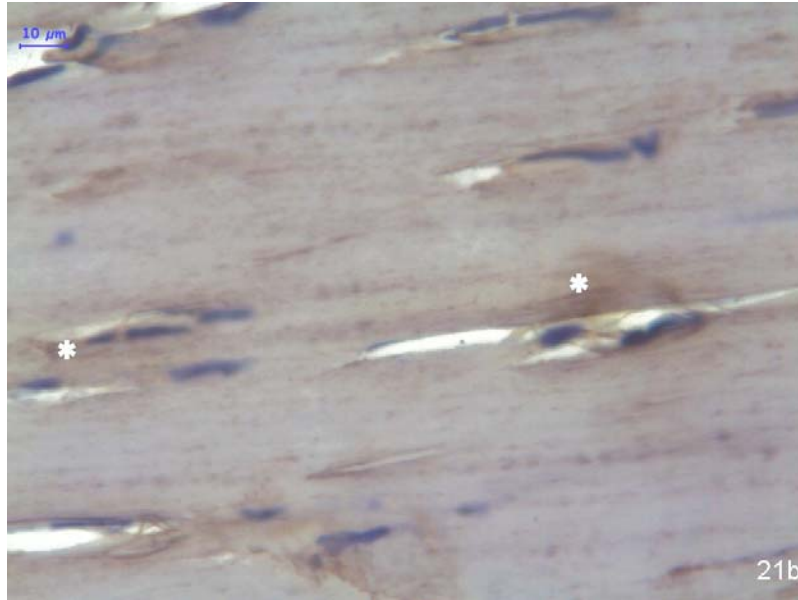
Resim 20a: Ergin grup- aşıll tendonunda, FGF-1 ile yapılan immünohistokimyasal boyamada tenosit ve çevresindeki (*) FGF-1 immünreaktivitesi görülüyor (Peroksidaz – Anti peroksidaz X400).



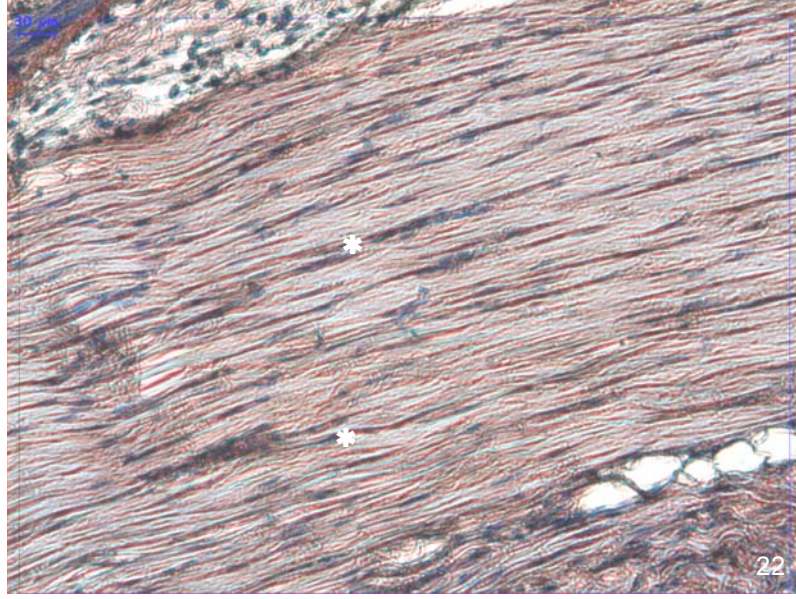
Resim 20b: Ergin grup- aşıll tendonunda, tenosit ve çevresindeki (*) FGF-1 immünreaktivitesi izleniyor (Peroksidaz –Anti peroksidaz X400).



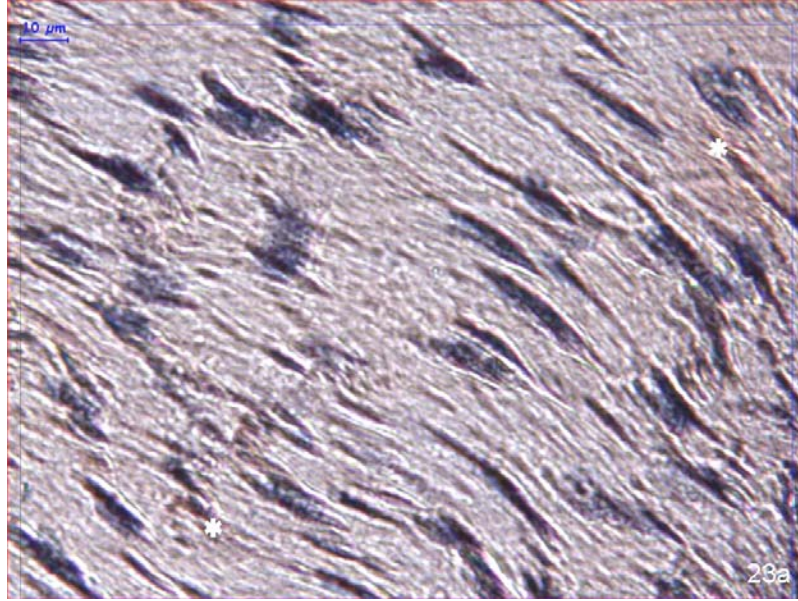
Resim 21a: Geç ergin grup- aşıll tendonunda FGF-1 ile yapılan immünohistokimyasal incelemede tenositlerde (*) ortadan zayıfa değişen immünreaktivite görülüyor (Peroxidaz – Anti peroksidaz X400).



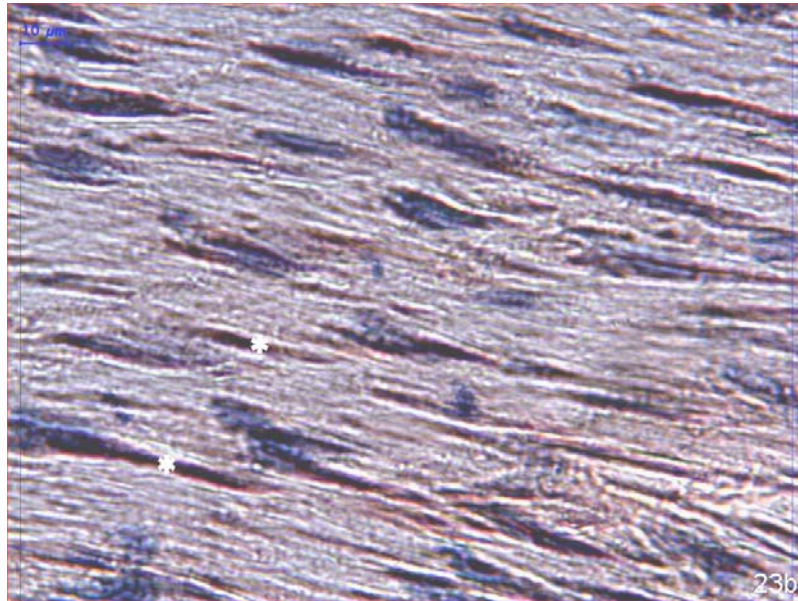
Resim 21 b: Geç ergin grup- aşıll tendonunda, tenositlerde (*) ortadan zayıfa değişen FGF-1 immünreaktivitesi izleniyor (Peroxidaz –Anti peroksidaz X400).



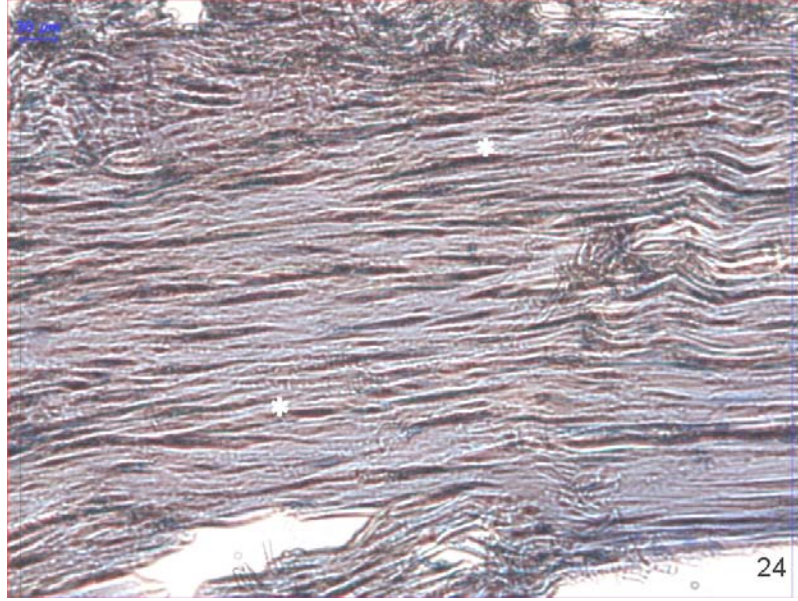
Resim 22: Prepubertal grup- S-100 primer antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyamada tenositlerde (*) izlenen orta dereceli tutulum görülüyor (Peroxidaz –Anti peroksidaz X100) .



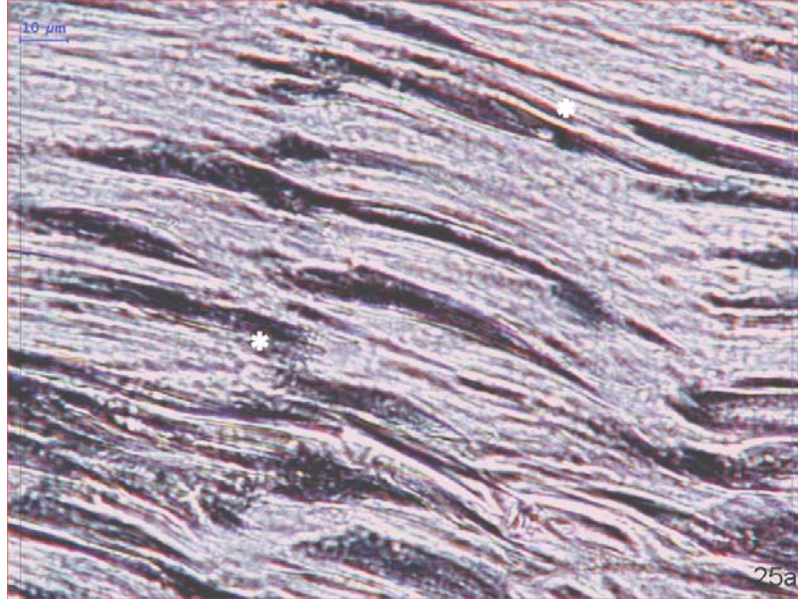
Resim 23a: Prepubertal grup- aşıl tendonunda, tenositlerde (*) orta şiddetteki S-100 immünreaktivitesi görölüyor (Peroksidaz – Anti peroksidaz X400).



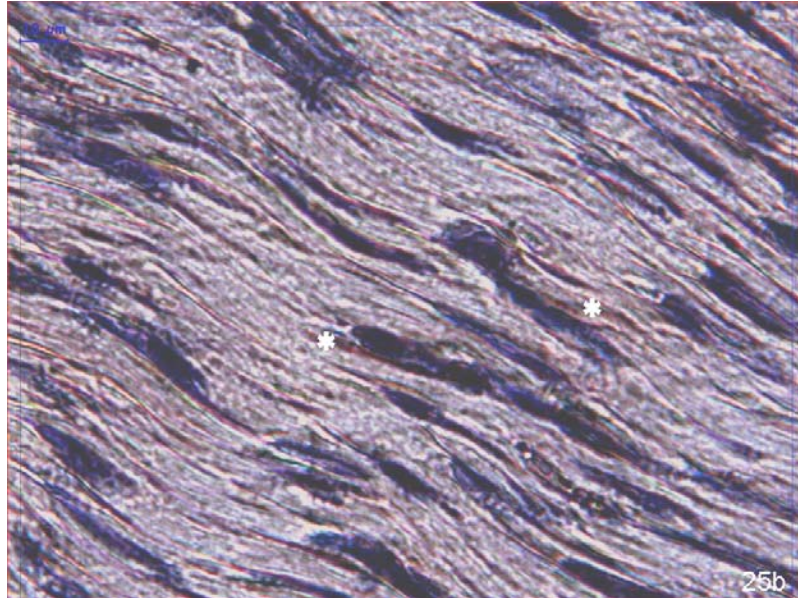
Resim 23b: Prepubertal grup- S-100 primer antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyamada tenositlerde (*) izlenen orta dereceli tutulum izleniyor (Peroksidaz – Anti peroksidaz X400) .



Resim 24: Ergin grup-S-100 primer antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyamada tenositlerde (*) izlenen immünreaktivite görülüyor (Peroxidaz – Anti peroksidaz X100).



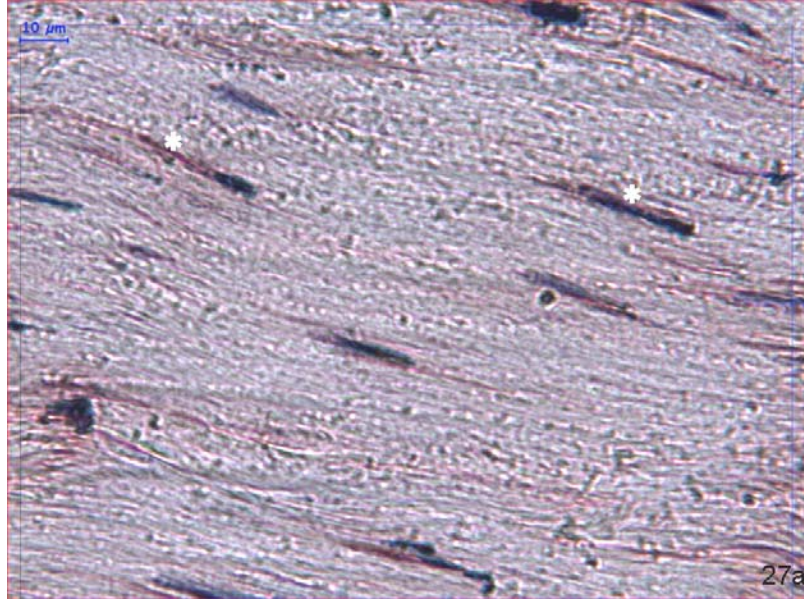
Resim 25a: Ergin grup- aşıl tendonunda, tenositlerde (*) S-100 immünreaktivitesi görülüyor (Peroksidaz – Anti peroksidaz X400).



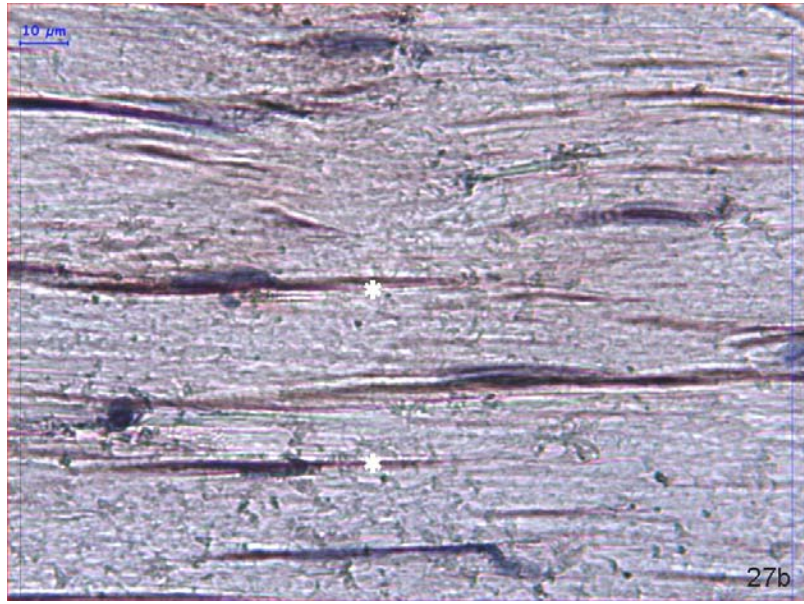
Resim 25b: Ergin grup- tenositlerdeki (*) S-100 tutulumu izleniyor (Peroksidaz – Anti peroksidaz X400).



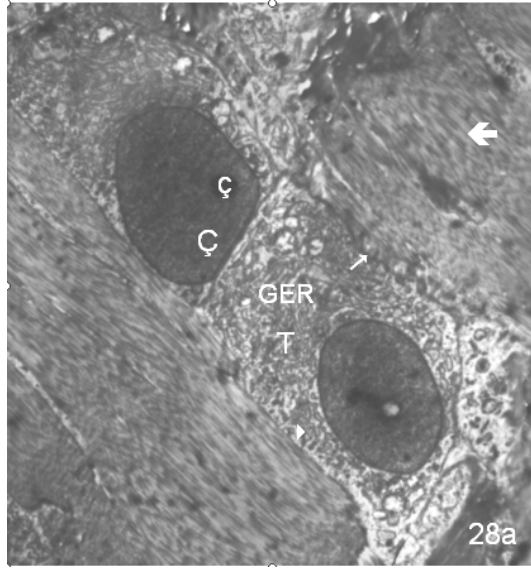
Resim 26: Geç ergin grup- S-100 primer antikoru ile yapılan immünohistokimyasal boyamada tenositlerde (*) izlenen orta dereceli tutulum görülüyor (Peroxidaz –Anti peroksidaz X100).



Resim 27a: Geç ergin grup- aşıl tendonunda tenositlerdeki (*) S-100 tutulumu izleniyor (Peroxidaz – Anti peroksidaz X400).



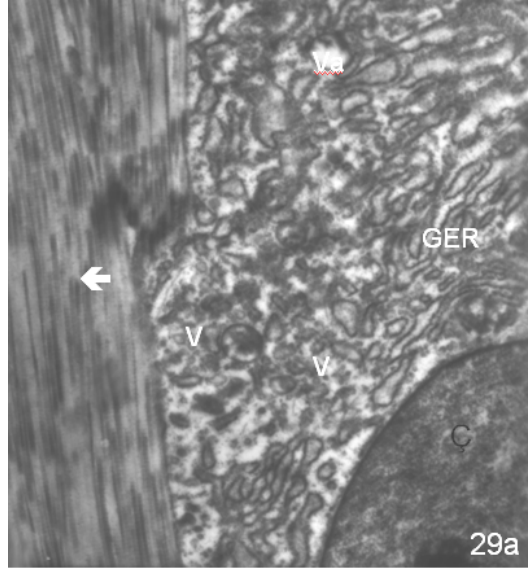
Resim 27b: Geç ergin grup- tenositlerdeki (*) S-100 primer antikörünün tutulumu görülüyor (Peroxidaz – Anti peroksidaz X400).



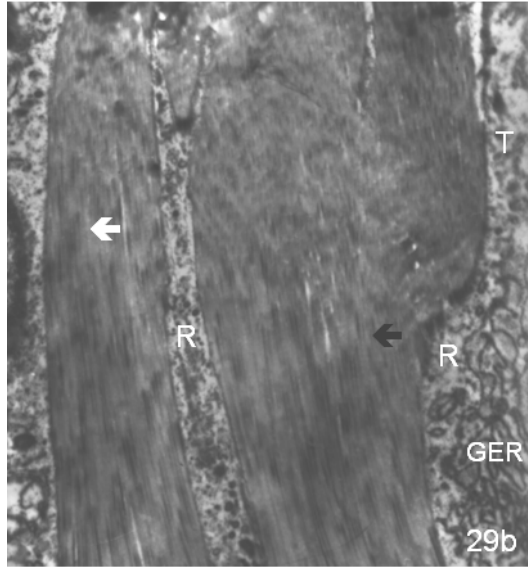
Resim 28a: Prepubertal gruba ait aşıl tendonun da elektron mikroskobik incelemelerinde, tenosit (T) sitoplazmasında genişlemiş GER tubulusları ve bunların içersindeki az yoğun salgı materyali (►) ve tenosite koşut yerleşim gösteren kollajen lifler (→) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X3000).



Resim 28b: Aynı gruba ait büyük büyültmeli elektron mikroskop görüntüsünde, tenosit (T) sitoplazmasında genişlemiş GER tubulusları ve bunların içersindeki az yoğun salgı materyali (►) ile birlikte tenosit hücre zarından salınan yeni oluşan kollajen lifler (→) izleniyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X7000).



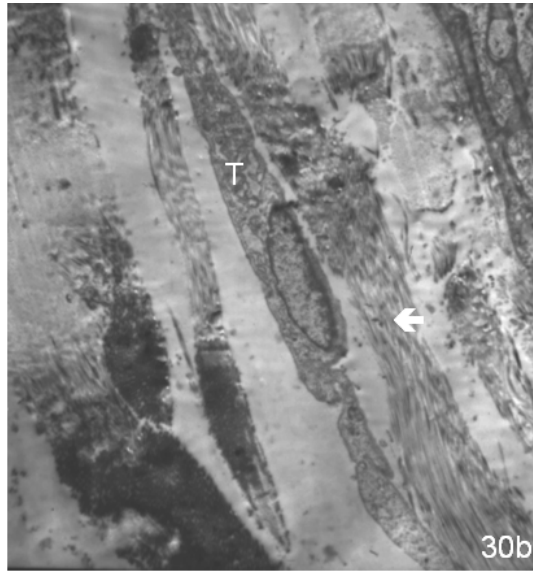
Resim 29a: Prepubertal gruba ait aşıll tendonunda tenosit (T) sitoplazmasında GER tubulusları, örtülü veziküller (V), vakuoller (Va) ve tenosite koştut yerleşim gösteren kollajen lifler (➔) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X12000).



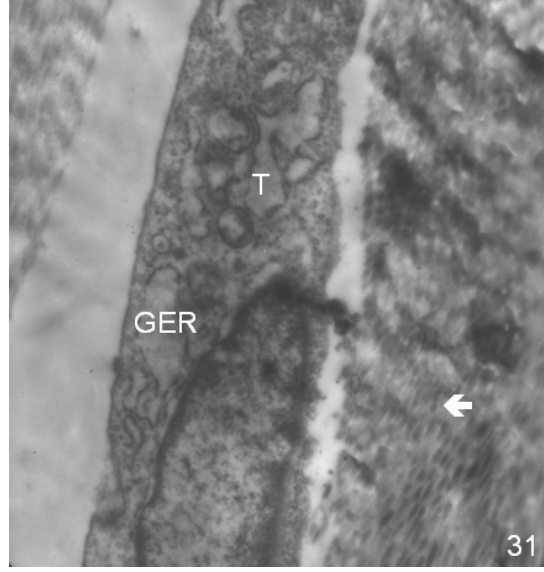
Resim 29b: Aynı gruba ait aşıll tendonunda tenosit (T) sitoplazmasında GER tubulusları, ribozomlar (R) ve tenosite koştut yerleşim gösteren kollajen lifler (➔) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X12000).



Resim 30a: Ergin gruba ait aşıl tendonunda elektron mikroskopik incelemelerde, dinlenme evresindeki tenositler (T) tenositler arasında koşut yerleşim gösteren kollajen lifler (➔) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X3000).



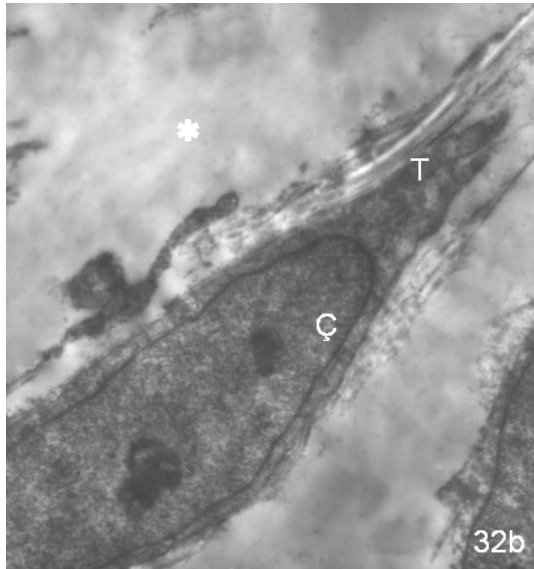
Resim 30b: Aynı gruba ait aşıl tendonunda, dinlenme evresindeki tenositler (T) ve aralarında koşut yerleşim gösteren kollajen lifler (➔) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X3000).



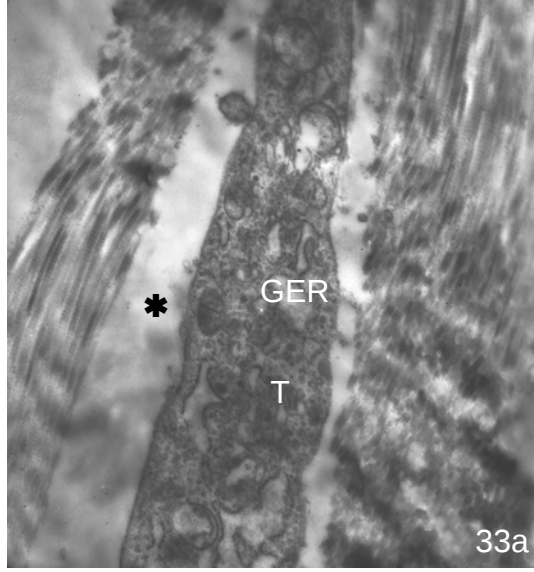
Resim 31: Ergin gruba ait büyük büyültmeli resimde aşil tendonunda, aktif tenosit (T) ve sitoplazmadaki genişlemiş GER tubulusları ve tenosite koşut yerleşim gösteren kollajen lifler (➔) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X 12000).



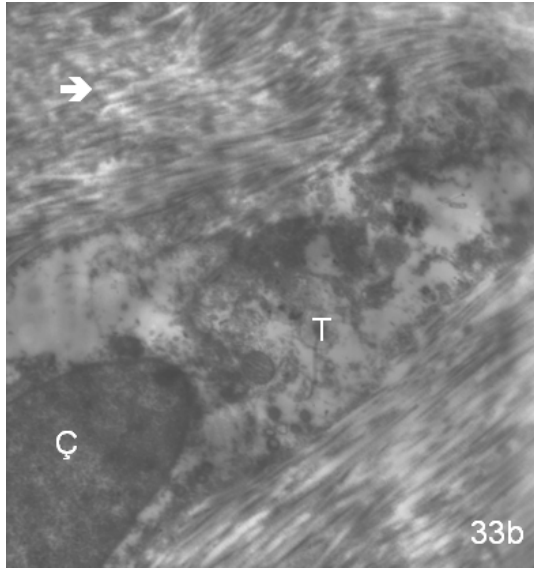
Resim 32a: Geç ergin gruba ait aşıl tendonunda elektron mikroskopik incelemelerde, dinlenme evresindeki tenositler (T), tenositler arasındaki ara bağ dokusu (*), lipid damlası (L) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X 3000).



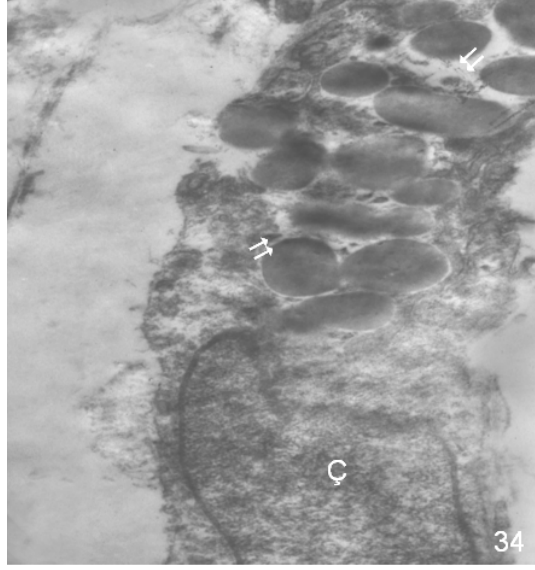
Resim 32b: Aynı gruba ait aşıl tendonunda, dinlenme evresindeki tenosit (T) ve hücre çekirdeği (Ç) ile birlikte hücreler arasındaki ara bağ dokusu (*) izleniyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X7000).



Resim 33a: Geç ergin gruba ait aşil tendonunun büyük büyültmeli görüntüsünde, kollajen lifler (➔), tenosit (T) sitoplazmasındaki GER tubulusları ve tenositler arasındaki ara bağ dokusu (*) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X7000).



Resim 33b: Aynı gruba ait aşil tendonunda, tenosit (T) çekirdeği (Ç) ve kollajen lifler (➔) izleniyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X12000).



Resim 34: Geç ergin gruba ait aşil tendonunun büyük büyültmeli görüntüsünde, yuvarlak şekilli tenosit çekirdeği (Ç) ve hücre sitoplazmasında lipid benzeri madde birikimi (⇔) izleniyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X7000).

V. TARTIŞMA

Yaşlanma süreci insanlarda çeşitli şekillerde görülür. Normal yaşlanma sürecinin en belirgin özelliği, dokuların esnekliğini kaybetmesi, eklemlerin hareket yeteneğinin azalmasıdır. Tendonların, ligamentlerin, deri ve arterlerin; günlük hayatta kas-iskelet sistemindeki akıcı hareketlerin ve kalp atımı gibi organ fonksiyonlarının sağlıklı şekilde yerine getirilebilmesi için, gerilip tekrar eski halini alacak esnek yapıda olmaları gerekir. Normal yaşlanma süreci dokuların esnekliğini yitirmesine neden olur; deri buruşur, arterler uzar ve katlanır. Eklemlerin hareket yeteneği azalır.^{6, 79, 85}

Günümüzde aşıl tendonu ile ilgili insan ve laboratuvar denekleri üzerinde yapılan birçok araştırma vardır. İnsan tendonunda yapılan çalışmalar daha çok kopmuş tendon materyalinde veya kadavra tendonunda yapılmıştır.^{7, 20, 21, 31, 38, 40, 57, 58, 60, 81} Biyomekanik çalışmalar sıçanlarda, tavşanlarda ve insanda yaşa veya egzersize bağlı olarak araştırılmıştır.^{4, 32, 34, 48, 49, 68, 69}

Tendon ve ligamentlerin yapısı, histolojik özellikleri ve kullanılan boyamalar insan ve laboratuvar hayvanında benzerlik gösterdiğinden sıçanın aşıl tendonunda birçok histolojik çalışma yapılmıştır.^{11, 26, 39, 66, 76, 77, 78, 84, 94, 101}

Sargon ve ark. yaşları 1-68 arasındaki aşıl tendon rüptürü veya aşıloplasti ameliyatına giren 28 hastadan örnekler almışlar ve transmisyon elektron mikroskopunda (TEM) incelemişlerdir. Hastalar 7 ayrı yaş grubuna ayrılmıştır. Kollajen liflerin transvers çapları ince kesitlerden ölçülmüş ve sonuçlar istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Kollajen liflerin çapları 20-29 yaş grubunda istatistiksel olarak en yüksek bulunmuş (ortalama çap; $222 \pm 63.04\text{nm}$), 30-39 yaş grubunda çap daha düşüktür (ortalama çap; $159 \pm 47.23\text{nm}$). 50-59 yaş grubuyla 60 yaş üstü grupta kollajen lif çaplarında belirgin fark saptanamamıştır.

Araştırmacılar; 30-45 yaş arası hastaların kollajen lif çaplarındaki azalmanın, yaşamlarının aktif periodunda olmalarına ve aşıl tendon rüptürlerinin diğer etyolojik faktörlerinin bu yaş grubunda artmış sıklığına bağlı olduğunu düşünmüşlerdir.⁸¹ İnsan aşıl tendonunda yapılan bir başka çalışmada, gelişim döneminde yaşın artması ile kollajen fibril çaplarında artış görülmüştür.⁹⁵

İnsanda erişkin yaş grubunda kollajen lif çapının azalması, kollajen sentezinin de azaldığını gösterir. Bu açıdan, çalışmamızda ergin yaş grubu sıçanlarda da kollajen sentezini sağlayan tenosit sayılarında istatistiksel açıdan azaldığını gösteren benzer bulgular saptanmıştır ($p<0,05$). Yine ergin grupta prepubertal gruba karşın kollajen liflerinin azaldığı ve ara maddenin arttığı görülmüştür.

Maffulli ve ark. yırtılmış, tendinopatik, normal ve fötal insan aşıl tendonu örneklerinde yaralanmadan önce ve sonraki kollajen tip I ve tip III tutulumlarını immunohistokimyasal olarak araştırmışlardır. Buna göre yaralanmadan sonra aşıl tendonundaki tenositlerde tip III kollajen aktivitesinin arttığını, yaralanmamış tendondaki tenositlerin ürettiğinden çok daha fazla tip III kollajen ürettiğini göstermişlerdir. Tip I kollajen tutulumunun beklendiği gibi normal aşıl tendon hücrelerindeki yaralanmamış tenositlerde; yırtılmış ve tendinopatik olanlardan daha güçlü olduğu da gösterilmiştir.⁵⁸

Bu çalışmada ise sıçanlarda immunohistokimyasal kollajen tip I antikor boyama sonuçları, (fötal ya da yaralanmış aşıl tendonu olmadığı için) yaşlılığa koşut tip I kollajen tutulumu olması açısından insandaki çalışmaya uygunluk göstermektedir.

Jozsa ve ark. sağlam ve rüptüre olmuş insan aşıl ve m. biceps brachii tendonlarında yaptıkları karşılaştırmalı çalışmalarını polarize ışık mikroskobu, TEM ve SEM ile değerlendirmişlerdir. Buna göre; pikrik asit-sirius kırmızısı polarizasyon metodu kullanıldığında yoğun olarak dizilim gösteren kalın, güçlü turuncu boyanan lifler, tip I

kollajen lifleri için karakteristiktir. Dejenere tendonda ise bu turuncu boyanan kalın lifler arasında ince yeşilimsi tip III kollajen liflerinin görüldüğü bazı bölgeler dikkat çekicidir. TEM’de dejenere tendonda kesin olarak ayrılabilen iki grup lif bulunmaktadır. Bunlardan kalın olan, tip I kollajen lifleri; daha ince olan ve gevşekçe yerleşen tip III kollajen lifleridir.³⁸

Eriksen ve ark. operasyon sırasında insan aşil tendonunun yırtılan kenarından, aynı tendonun diğer kenarlarından ve kadavralardan örnekler almışlardır. Yeni sentezlenen tip I ve III prokollajenler, çözülmüş propeptitlerine bakılarak değerlendirilmiştir. Hidroksiprolin, tip I kollajen’in çapraz bağlı telopeptitleri ve tip III kollajen ürünleri biyokimyasal olarak ölçülmüştür. Tip III kollajen ürünleri sağlam kenarla kıyaslandığında yırtık kenarlarında ve kadavralarda artış göstermektedir. Yeni sentezlenen tip I ve III prokollajenlerin miktarında değişiklik saptanmamıştır. Yaşla tip I kollajen’in çapraz bağlı telopeptit içeriklerindeki azalma, tip I kollajenin karboksiterminal telopeptit çapraz bağlantı tiplerindeki yapısal değişikliği göstermektedir. Böylece tendonun esnekliği azalmaktadır. Artan tip III kollajen içeriği de daha ince kollajen liflerinin olmasına neden olur ve gerginlik kuvvetini azaltarak tendonun tamamen kopmasına neden olmaktadır.²⁰ İnsan tendonunda yapılan bir başka çalışmada yine yaşla kollajen dönüşümünde azalma saptanmıştır.^{41, 44}

Pikrik asit-sirius kırmızısı boyama yöntemiyle boyanmış ışık mikroskopik incelemelerimizde normal sıçan aşil tendonu olduğu için, tip I kollajen liflerinin yoğun olarak boyandığı izlendi. Tip III kollajen fetal ve yaralanma sonrası hızlı yapılanma döneminde belirgin olarak saptanırken, sağlam ve olgunlaşmış tendonda yaptığımız çalışmamızda tip I kollajenin pikrik asit-sirius kırmızısı ile ışık mikroskopunda boyandığı

ayrıt edilmektedir. İmmunohistokimyasal çalışmamızda da bu yüzden tip I kollajen antikoru tercih edilmiştir.

Kannus ve Jozsa'nın spontan yırtık sonucu 397 aşıl tendonundan elde edilen histopatolojik çalışma sonucunda %97'sinde dejeneratif değişiklikler saptanmıştır. Bu değişiklikler özellikle 35 yaş üstü insanlarda daha fazla bulunmuş ve spontan tendon yırtılmasıyla olduğu gösterilmiştir.⁴⁰

Aström ve Rausing'in insanlarda yaptığı klinik çalışmada histopatolojik değişikliklerin artan yaşla ilgili olduğu görülmüştür.⁷

Çalışmamızda da özellikle geç ergin grup sıçanların aşıl tendonunda da ara madde artışı, kollajen yapımının azalması yanında çekirdeğin biraz daha yuvarlaklaştığı, sitoplazmada yoğun lipid benzeri maddelerin birikimi gibi yaşa bağlı dejeneratif değişikliklerin arttığı gözlenmiştir. Yine ışık mikroskopik olarak yaşla kollajen liflerde ondülasyonun azaldığı, tenositlerin iğ şeklinde veya ovalimsi yapıda olduğu, kollajen liflerin azaldığı, ara maddenin arttığı ve kollajen lifler arasında da kan damarı artışı gözlemlendi.

Maffulli ve ark. kardiyovasküler nedenlerle ölen kişilerden alınan sağlam aşıl tendonları (9 adet), kopmuş insan aşıl tendonları (38 adet) ve sağlam aşıl tendonu olan ampute bacadan alınan (37 adet) örneklerle yaptıkları histolojik çalışmalarında; renkli kesitlerde yarı sayısal derecelendirme skalasına göre, ışık mikroskobu ile lif yapısı, düzeni, tenosit çekirdeği, hücre içeriğindeki bölgesel değişiklikler, damarlanma artışı, azalmış kollajen boyanması, hyalinizasyon ve glikozaminoglikan içeriğini incelemişlerdir. Operasyona giden kopma olmuş aşıl tendonlarında görülen dejeneratif değişiklikler, herhangi bir patolojisi olmayan sağlam tendona sahip ancak yaşlı bireylerde de kısmen görülebilmektedir.⁵⁷

Çalışmamızda da geç ergin grupta ışık mikrokobik olarak tenositlerin çekirdeklerinin diğer gruplara karşı daha az ve çoğunlukla da oval şekilli ve yan yana yerleşmeleri gibi özellikler dikkat çekiyordu. Kas lifi ile tendonunun birleşme bölgesinde çekirdek yoğunluğu ve kas lifleri arasında bağ dokusu ara madde ve damarlanma artışı saptandı. Tenosit hücre sayısının istatistiksel olarak azaldığı ($p < 0,05$) gözlemlendi.

Cetta ve ark. fetal, yenidoğan, genç erişkin ve yaşlı tavşan aşıl tendonlarını morfolojik, biyokimyasal ve elektron mikroskobik olarak incelemiştir. Yaş artışıyla kollajen liflerin ortalama çapları ve içerikleri, dokunun olgunlaşması ile bağlantılı olarak yaşla artış göstermiştir.¹⁷

Çalışmamızda olgunlaşma döneminde olan prepubertal grupta da kollajen liflerin yoğun olarak boyandığı ve bu dönemde tenositlerin aktif olduğu izlendi.

Cetta ve ark. fetal ve yenidoğan tavşanlarda kollajen lifleri grup içinde aynı boyutlarda bulmuşlardır. Genç erişkin hayvan grubunda kollajen lif çapları çok değişken olup ancak daha sıkı dizilim göstermektedir.¹⁷

Çalışmamızda da prepubertal yaş grubunda kollajen lif düzenlenmesinin sıkı olup tenositlere koşut olarak yer yer enine çizgilenmeler gösterdiği belirlendi.

Moore ve ark. sıçanın kuyruk tendonunda ve aynı hayvanın m. extensor digitorum longus tendonunda yaptığı çalışmada; değişik yaş gruplarında doğumdan olgunlaşana değin stereolojik bazı analizler yapmışlardır. Örneğin tenoblastlardaki granüllü endoplazmik retikulum'un sitoplazmik hacim yoğunluğu ve kollajen lif çaplarının dağılımı incelenmiştir. Yenidoğandan 12 haftalığa kadar olan denekler arasında ortalama kollajen fibril çapında düzenli artış izlenmiştir. Büyüyen tendonda tenoblast azalırken kollajen miktarının arttığı saptanmıştır.⁶⁶

Çalışmamızda, prepubertal gruptan ergin yaş gruplarına doğru gelişim aşamasında elektron mikroskopik olarak tenositlerin son derece aktif olduğu, GER'in tubuluslarının genişlediği ve içinde salgı materyali birikimi olduğu görüldü. Ayrıca tenositlerin hücre zarından yeni oluşan kollajen liflerin salındığı ve hücre sitoplazmasında ribozomların bulunduğu gözlemlendi.

Provenzano ve ark. fõtal sıçan, inek, kedilerin ve olgun sıçanların tendon ve ligamentlerindeki kollajen fibril yapısı ve düzenlenimini elektron mikroskopik olarak araştırmışlardır. Fõtal gelişimin erken döneminde; kollajen liflerinin üstüste binmesi, karışması ve liflerin uçlarının değişik şekillerde dizilim gösterirken; geç fõtal gelişim döneminde ise kollajen liflerinin uçları ve demetleri belirginleşmiştir. Olgun dokuların kollajen lifleri iyi düzenlenmiş alanlar gösterirken, liflerin karıştığı ve rasgele dizilim gösteren alanlar bulunmaktadır.⁷⁶

Çalışmamızda prepubertal gruplarda ondülasyon izlenirken, ileri yaşlarda lif diziliminin düzleştiği görüldü. Lif çaplarının azalırken araya bağ dokusu bölmelerin girdiği ve ara madde miktarının arttığı saptandı.

Zhou ve ark. tavşan aşıl tendonlarında yaptıkları çalışmada, hareketsizlik sonucu zayıflamış tendon ve sağlam yarı tendonları ışık ve elektron mikroskopik olarak karşılaştırılmıştır. Işık mikroskopik olarak tendonun kesit alanı, tenosit, adipozit ve kan damarı sayısı, çekirdek yuvarlaklığı, kollajen liflerin belirginleştiği alanlar değerlendirilmiştir. TEM'de kollajen lif çapı ve yoğunluğuna bakılmıştır. Her iki incelemede de hareketsiz ve sağlam yarı tendonlarda istatistiksel fark bulunamamıştır.¹⁰¹

Çalışmamızda da ışık mikroskopik olarak yaşla çekirdeklerin yuvarlaklaştığı, tenosit sayısının azaldığı, damarlanmanın ve yağ hücrelerinin arttığı izlendi.

Kas yaralanmaları genellikle kas-tendon bileşkesi yakınlarında olmaktadır. Hareketsizlik, miyotendinöz bileşke yerindeki gerilim kuvvetini azaltır. Kas-tendon bileşkesindeki kanlanma muhtemel patolojik durumlara karşı koruyucu olan portal sistem (kapiller-arteriol-kapiller sistem) ile sağlanmaktadır. Gittikçe artan fiziksel egzersiz yeniden damarlanma artışı ile yaralanan ve hareketsiz kası yeniden zedelenmeden korur.⁵¹

Çalışmamızda da kas-tendon bileşkesinde çekirdekler sayıca artarak yuvarlaklaşıyordu. Yaşla kas lifleri ve tendonda kollajen lifler arasında bağ dokusunda ara madde artışı ve bu bölgelerde kan damarlanmasında artış görüldü.

Archambault ve ark. yaptıkları biyomekanik bir çalışmada kronik tekrarlayıcı yüklenmeye karşı tavşan aşıl tendonunda histolojik olarak hücre yoğunluğu, damarlanma, dejenerasyon ve inflamatuvar hücrelerin varlığı açısından karşı taraf tendonla karşılaştırmışlar; yapısal ve istatistiksel olarak önemli değişiklik saptanmamıştır. Dolayısıyla mekanik etkiye ek olarak yaş, hastalık, stresin patoloji oluşumundaki önemi vurgulanmıştır.⁴

Hadjicostas ve ark. 20 kadavranın patella ve hamstring grubu kasların tendonlarını immunohistokimyasal, ışık ve elektron mikroskopik olarak kollajen fibrillerinin kalınlığı, lif/interstisyum oranı, kan damar ve fibroblast yoğunluğu, kollajen liflerin dağılımı gibi parametrelere bakarak karşılaştırmışlardır. Lif/interstisyum oranı, fibroblast yoğunluğu hamstring grubu kasların tendonlarında daha yüksek bulunmuştur. Kollajen liflerin dağılımı, kan damar yoğunluğu açısından fark görülmemiştir.³¹

Yaşa koşut yaptığımız çalışmamızda, kollajen lifler yaşla azalırken ara madde ve interstisyumun arttığı belirgin olarak gözlemlendi.

Fenwick ve ark. kronik aşıl tendinopatisi olan ve operasyona alınan 7 hastadan (29-49 yaş) ve kontrol grubu olarak normal tendona sahip 4 kadavradan örnek alıp, bunlarda TGF β izoformlarını ve reseptörlerini araştırmışlardır. Patolojik lezyonlardan alınan tendon dokularında hücre sayısı ve TGF β 2 yüzdesi yüksek bulunmuştur. Benzer olarak kadavra tendonundaki TGF β 2 ekspresyonunun da arttığı görülmüştür. Sebebi kadavraların yaşlı olmasına bağlanmıştır.²¹

Çalışmamızda ise TGF β antikoruyla yapılan immunohistokimyasal boyamada, TGF β immunreaktivitesinin patolojik herhangi bir lezyon olmadan prepubertal grup sıçanlarda sadece tenosit çevresinde, ergin grupta yine tenosit çevresinde yoğun, kollajen lifler de zayıf dereceli iken geç ergin grupta hem tenositlerde hem de kollajen liflerde fazla olduğu görülmüştür.

Galatz ve ark. sıçan supraspinatus tendonunda akut yaralanma sonrası erken dönemde kollajen yapılanmasını araştırmak için immunohistokimyasal olarak kollajen tip I, III ve TGF β 1- β 3 antikorları kullanmışlardır. Kollajen tip I, 10.günde anlamlı artış gösterirken, 28 ve 56. günlerde bir platoya ulaşmıştır. Kollajen tip III de yine erken dönemde artış gösterip, 56.güne kadar yüksek kalmaktadır. TGF β izotipleri dokuyu tamir etmek için lokalize olmakta ve en yüksek düzeye hücre proliferasyonu ve hücre artışı ile gelmektedir.²⁶

Çalışmamızda da dejenerasyonun başladığı geç ergin grupta kollajen tip I ve TGF β immunreaktivitesinin arttığı görüldü.

Heinemeier ve ark. insan (ortalama 26 yaş) aşıl tendonunda egzersizin tip I kollajen sentezini arttırmasında TGF β 1'in rolünü araştırmışlardır. Aşıl tendonu peritendinöz dokusunda mekanik yüklenme, lokal kollajen sentezini arttırır. Egzersiz sırasında mekanik yüklenmeye bağlı olarak tip I kollajen üretiminde artış görülür. Tip I

kollajen sentezinin güçlü bir uyarıcısı olan TGF β 1 tendon fibroblastlarından salınır. Çalışmada altı gönüllünün koşu bandı testi öncesi ve sonrası mikrodializ ile TGF β 1 düzeyleri ve tip I kollajen metabolizma ürünleri ölçülmüştür. Yine bunların kan düzeylerine de bakılmıştır. TGF β 1’de artış saptanmıştır.³²

Bizim çalışmamızda da yaşa bağlı olarak TGF β ve tip I kollajen tutulumunda artış izlenmiştir.

Kanazawa ve ark. yaptığı immunohistokimyasal çalışmada 20 tavşanın lig. cruciatum anterius’u, m. semitendinosus tendonuyla onarılmıştır. Operasyondan 1, 2, 4, ve 8 hafta sonra immunohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. CD31 (trombosit endotelial hücre adezyon molekülü), VEGF, bFGF, S-100 protein ve kollajen tip I, II, III antikorları kullanılmıştır. Kemik–tendon ara yüzünün encondral kemikleşmeye çok benzediği görülmüştür. Anti-CD31 antikoru periostun damar endotelinde; anti-VEGF antikoru damar endoteli, osteoblast, kondrosit, fibroblast benzeri hücrelerde; anti-bFGF antikoru damar endoteli, osteoblast ve osteositte, anti-S100 antikoru eklem kıkırdağı, kemik yüzey çevresindeki kıkırdak materyalde; anti-kollajen tip I antikoru tendonda, lameller kemikte; anti-kollajen tip II antikoru ise kıkırdak büyüme tabakasında, hücrelerarası matrikste ve eklem kıkırdağı etrafında görülür. Operasyon sonrası ilk dönemlerde kemik ile tendon grefti arası fazla miktarda tip III kollajen içeren granulasyon dokusuyla dolar. Granulasyon dokusunda açığa çıkan VEGF ve bFGF genişlemiş fibroblastların göçüne, damar endoteli ve makrofajların görülmesine neden olur.³⁹

Sağlam sıçan aşil tendonunda yaptığımız çalışmamızda; immunohistokimyasal olarak tip I kollajen antikorunun tendonun kollajen liflerinin kenar bölgelerinde daha fazla olmak üzere tutulduğu gözlemlendi. Tenositte tutulum yoktu. Kollajen lifler arasındaki dokuda yer yer ortadan aza değişen immunreaktivite dikkat çekiyordu. Geç ergin grupta ise

tenositlerde boyanma daha fazla iken kollajen liflerde tutulumun daha az olduğu izlendi. TGF β immunohistokimyasal boyamalarında, tendon hücre sitoplazmasında ve kollajen liflerde yaşa göre değişen tutulum görüldü. S-100 immunreaktivitesinin ise tenositlerde yaşla arttığı gözlemlendi.

Chuen ve ark. insan patellar tendonundaki hücreleri immunhistokimyasal olarak incelemişlerdir. Tendonlardaki hücreler genel olarak uzamış tenositler ve yuvarlak tenoblastlardan oluşmaktadır. Ancak bunların özgün işaretleyicileri bulunmamaktadır. Bu hücrelerin tendon büyümesinde, yenilenmesinde, iyileşmesindeki rolleri ve karşılıklı etkileşimleri tam olarak bilinmemektedir. Araştırmacılara göre bu hücreler, hücre dönüşümünde, ekstrasellüler matriks metabolizmasında ve büyüme faktörlerinin açığa çıkmasında rolleri olabileceği düşünülmüştür. 14 sağlıklı patellar tendon örneğindeki tenoblast ve tenositteki değişik proteinlere bakılmıştır. Bunlar; matriks metalloproteinaz 1 (MMP1), procollajen tip1 (procol 1), heat shock protein 47 (hsp47), kemik morfogenetik protein 12,13 (BMP12) (BMP13), TGF β 1'dir.. Yine immunohistokimyasal olarak proliferasyon hücre çekirdek antijeni (PCNA) ve apoptotik hücrelere de bakılmıştır. Tenoblastlarda procol 1, hsp47, MMP1, BMP12, BMP13 ve TGF β 1 tenositlerdekinden daha yüksek düzeylerde açığa çıkmıştır. Tenoblastlarda proliferasyon ve apoptoz indeksi tenositlerden daha yüksektir.¹⁹

Tsubone ve ark. fare fleksor tendon iyileşmesinde TGF β 'nın etkilerini araştırmışlardır. TGF β kollajen sentezini, anjiyogenezisi artırır; adezyon formasyonunu, hücre fonksiyonları etkiler.⁹⁴ Başka bir çalışmada; yara iyileşmesinin önemli bileşenleri olan büyüme faktörleri (TGF β , EGF, PDGF, IGF-1, bFGF, VEGF)'nin normal köpek fleksor tendon iyileşmesinde açığa çıkıp çıkmadığı incelenmiştir. Immunohistokimyasal inceleme ile TGF β 'nin onarım yapılan kenarda ve proksimalde

bulunmuştur. EGF, IGF, bFGF tenositlerde görülmezken, onarılan kenarda inflamatuvar hücreler çevresinde saptanmıştır.⁹³

Heinemeier ve ark. antrenmanın tüm tiplerinde kas ve tendondaki TGF β 1, kollajen tip I ve III'ün arttığını göstermişlerdir. Akut egzersiz hem tendonda hem de kasta kollajen sentezini artırır.³³

Arnesen ve Lawson yaşlanma ile tendondaki kollajen çapraz bağlarındaki artış ve total kollajen içeriğinin hem esneklik hem de yaralanma sonrası iyileşmeyi azalttığını savunmuşlardır. Fibroblastlar tendon dokusunu oluşturan makromoleküllerin sentezinden sorumludur. İskelet-kas sisteminin yaşa bağlı patolojilerinin çoğunda olduğu gibi fibroblastlar artan yaşla beraber doku homeostazisini koruma yeteneğine sahiptir. Bu çalışmada yaşlı fare tenositlerinin yapılarının değiştiği, fonksiyonlarının azaldığı, protein transportunda değişiklikler meydana geldiği gösterilmiş ve genç farelerle karşılaştırılmıştır. Yaşlı farelerden alınan aşıl tenositleri düşük hareketlilik ve proliferasyona sahip olup, genç fareyle karşılaştırıldığında, aktin hücre yapılanması zayıf ve anahtar fokal adezyon moleküllerinin yerleşimi farklıdır. Bu sonuçlar tendon iyileşmesindeki yaşa bağlı azalmanın, tendon fibroblast fonksiyonundaki değişikliklerden kaynaklandığını göstermektedir.⁶

Ippolito ve ark. yaptığı çalışmada yenidoğan tendonu çok yüksek hücre/matriks oranına sahiptir. Tenoblastlar uzun paralel zincirler şeklinde görülür. Tenoblastlar değişik şekil ve boyutlarda bulunmaktadır. Bazıları uzun, yuvarlak ya da poligonaldır. Gençlerde hücre/matriks oranında azalma olur ve tenoblastlar birbirine benzeyerek iğ şeklini alır. Yetişkinlerde hücre/matriks oranı daha da azalır ve hücreler uzar. Tenoblastların uzunlukları değişkendir. Çekirdek şekli ovalden, uzun iğsi şekle değişir. Düz endoplazmik retikulum ve golgi kompleksi iyi gelişmiştir. Ancak sitoplazmada birkaç mitokondriyon

görülmektedir. Yaşlanma ile insan tendonlarında fonksiyonel ve yapısal değişiklikler görülür. Yaşlanan tendonda metabolizma azalır, elastisite ve gerilme kuvveti ilerleyici olarak azalır.³⁵

Çalışmamızda elektron mikroskopik olarak, yaşla tenositlerde genişlemiş GER tubulusları, ara maddenin artışı, kollajen yapımında azalma, çekirdekte yuvarlaklaşma, sitoplazmada yoğun lipid depolanması gözlemlendi. Aktif olan tenositlerin yaşla azaldığı görüldü. Tenositlerden salınan kollajen lifleri yaşla azalmaktaydı.

Son yıllardaki ilerlemelere karşın, aşıl tendon yaralanmalarının en iyi hangi yolla tedavi edilecekleri konusunda halen tam bir görüş birliği yoktur. Tedavi hastanın yaşına ve fiziksel aktivitesine göre planlanmaktadır. Ancak son yirmi yıldır özellikle sporcular, genç yetişkinler ve tedavisi gecikmiş aşıl tendon kopması olan hastalarda cerrahi yöntemler tercih edilmektedir.^{2, 37}

Tendon patolojilerinin ultrastrüktürel çalışmalarının normal yapıyla karşılaştırmaya gereksinimi vardır. Yaşa bağlı değişikliklerin bu bağlamda yararlı olabileceği düşünülmüştür.³⁵

VI. SONUÇ

Sağlam sıçan aşil tendonunda ışık mikroskopik, immunohistokimyasal ve elektron mikroskopik olarak yaptığımız çalışmada, yaşın ilerlemesine bağlı olarak tendonda histolojik değişiklikler saptandı. Pikrik asit-sirius kırmızısı boyaması ile yapılan ışık mikroskopik incelemede, yaşın artmasıyla yoğun kırmızı renkte boyanan kollajen liflerin ondulasyonunda azalmaya bağlı elastikiyette azalma, tenosit çekirdeklerinde yuvarlaklaşma, ara madde ve kan damarı artışı, tenosit sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görülmüştür. Ergin yaş grubunda başlayan bu dejeneratif değişikliklerin, özellikle bu yaş grubunda, diğer faktörlerin etkisiyle de aşil tendon lezyonlarının sıklığındaki artışı düşündürmektedir. İmmunohistokimyasal olarak kollajen tip I, TGF β ve S-100 antikor tutulumları, yaşla belirgin artış göstermektedir. TGF β 'nın kollajen sentezini arttırdığı dolayısıyla tendonun fazla kullanılması, çalışmamızdaki yaş artışıyla artan kollajen sentezini uyardığı bulgularımızı desteklemektedir. FGF-1 tutulumunun ergin yaş grubunda diğer yaş gruplarından biraz daha fazla olması, azalan tenosit miktarı açığının kapatılması yönünde olabilir kanısındayız. Elektron mikroskopik olarak artan yaşla tenositlerin aktivitesinde azalmaya koşut kollajen sentezinde azalma, GER'de salgı materyali, sitoplazmada artmış lipid birikimi, çekirdeklerin yuvarlaklaşması ve kümelenmesi gibi bulgular, yaşlanan tendonda dokunun fonksiyonel olarak esnekliğinin azalmasına neden olduğunu düşündürmektedir.

Aşil tendonunda yaşa bağlı oluşan yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin, tendonda yaralanma ve yırtılma ile sonuçlanmaması ve normal durumunun yaşam boyu korunması için, özellikle egzersiz öncesi aşil tendon ve bacak kaslarını germe egzersizi yapılması önerilebilir.

Sonuç olarak çalışmamızdaki yaşa bağlı tendon yapısındaki değişim bulgularının, kliniğe katkıda bulunabileceği, belirgin açılımlar getireceği ve bu konuda yararlı olabileceği inancındayız.

VII. ÖZET

Aşıl tendonu insan vücudundaki en güçlü tendon olmasına rağmen; fazla kullanıma, yaşa, mekanik etkilere, çeşitli sistemik hastalıklara ve dışarıdan alınan çeşitli ilaçlara bağlı olarak yırtılma riski en yüksek olan tendondur. Yaş, diğer tendonlara oranla aşıl tendonu lezyonlarında önemli bir hazırlayıcı faktördür. Bu nedenle tendon yaşlanması üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada sağlam sıçan aşıl tendonundaki yaşa bağlı oluşan değişikliklerin, herhangi bir etyolojik faktör olmaksızın morfolojik, ince yapı düzeyinde ve immunohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Prepubertal (2-3 haftalık), ergin (6-7 aylık) ve geç ergin (1 yaş) gruplarının her birinden onar adet olmak üzere toplam 30 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Genel anestezi altında her iki aşıl tendonları alınan sıçanlara daha sonra ötenazi uygulandı. Pikrik asit-sirius kırmızısı ışık mikroskopik incelemesinde, yaşın artmasıyla yoğun kırmızı renkte boyanan kollajen liflerin ondulasyonunda azalma, tenosit çekirdeklerinde yuvarlaklaşma, ara madde ve kan damarı artışı, tenosit sayısında istatistiksel olarak da anlamlı azalma olduğu görülmüştür. İmmunohistokimyasal olarak kollajen tip I ve TGF β ve S-100 antikor tutulumları, yaşla belirgin artış gösterirken FGF-1 tutulumunun ergin yaş grubunda diğer yaş gruplarından biraz daha fazla olduğu izlenmiştir. Elektron mikroskopik olarak artan yaşla tenositlerin aktivitesinde azalma, kollajen sentezinde azalma, GER'de salgı materyali birikimi ve sitoplazmada lipid birikimi artarken çekirdeklerin de yuvarlaklaştığı görülmüştür.

Ergin yaş grubunda başlayan dejeneratif değişiklikler, fonksiyonel olarak tendonun esnekliğinin azalmasıyla lezyonlara neden olabileceğini düşündürmektedir.

VIII. KAYNAKLAR

1. Ahmed IM, Lagopoulos M, McConnell P, Soames RW, Sefton GK: Blood supply of the Achilles tendon. *Orthop Res* 16(5): 591-596, 1998
2. Akgun U, Erol B, Karahan M: Primary surgical repair with the Krackow technique combined with plantaris tendon augmentation in the treatment of acute Achilles tendon ruptures. *Acta Orthop Traumatol* 40(3): 228-233, 2006
3. Amiel D, Kuiper SD, Wallace CD, Harwood FL, VandeBerg JS: Age-related properties of medial collateral ligament and anterior cruciate ligament: a morphologic and collagen maturation study in the rabbit. *J Gerontol* 46(4): B159-165, 1991
4. Archambault JM, Hart DA, Herzog W: Response of Rabbit Achilles Tendon to Chronic Repetitive Loading. *Connective Tissue Research* 42(1): 13-23, 2001
5. Arıncı K, Elhan A: *Anatomi 2. Cilt, 3. Baskı (Güneş Kitabevi, Ankara) 2001.S: 131, 213-216*
6. Arnesen SM, Lawson MA: Age-related changes in focal adhesions lead to altered cell behavior in tendon fibroblasts. *Mech Ageing Dev* 127(9): 726-732, 2006
7. Aström M, Rausing A: Chronic Achilles tendinopathy. A survey of surgical and histopathologic findings. *Clin Orthop Relat Res* (316): 151-164, 1995
8. Aström M, Westlin N: Blood flow in the human Achilles tendon assessed by laser Doppler flowmetry. *J Orthop Res* 12(2): 246-252, 1994
9. Bailey AJ, Paul RG, Knott L: Mechanisms of maturation and ageing of collagen. *Mech Ageing Dev* 1 106(1-2): 1-56, 1998
10. Battista V, Combs J, Warme W: Asynchronous Bilateral Achilles Tendon Ruptures and Androstenediol Use. *Am J Sports Med* 31(6): 1007-1009, 2003

11. Benjamin M, Tyers RN, Ralphs JR: Age-related changes in tendon fibrocartilage. *J Anat* 179: 127-136, 1991
12. Burdett RG: Forces predicted at the ankle during running. *Med Sci Sports Exerc* 14(4): 308-316, 1982
13. Carden DG, Noble J, Chalmers J, Lunn P, Ellis J: Rupture of the calcaneal tendon. The early and late management. *J Bone Joint Surg Br* 69(3): 416-420, 1987
14. Carlstedt CA: Mechanical and chemical factors in tendon healing. Effects of indomethacin and surgery in the rabbit. *Acta Orthop Scand Suppl* 224: 1-75, 1987
15. Carr AJ, Norris SH: The blood supply of the calcaneal tendon. *J Bone Joint Surg Br* 71(1): 100-101; 1989
16. Casparian JM, Luchi M, Moffat RE, Hinthorn D: Quinolones and Tendon Ruptures. *Southern Medical Journal* 93(5): 488-491, 2000
17. Cetta G, Tenni R, Zanaboni G, De Luca G, Ippolito E, De Martino C, Castellani AA: Biochemical and morphological modifications in rabbit Achilles tendon during maturation and ageing. *Biochem J* 204(1): 61-67, 1982
18. Chowdhury P, Matyas JR, Frank CB: The "epiligament" of the rabbit medial collateral ligament: a quantitative morphological study. *Connect Tissue Res* 27(1): 33-50, 1991
19. Chuen FS, Chuk CY, Ping WY, Nar WW, Kim HL, Ming CK: Immunohistochemical characterization of cells in adult human patellar tendons. *J Histochem Cytochem* 52(9): 1151-1157, 2004
20. Eriksen HA, Pajala A, Leppilahti J, Risteli J: Increased content of type III collagen at the rupture site of human Achilles tendon. *J Orthop Res* 20(6):1352-1357, 2002

21. Fenwick SA, Curry V, Harrall RL, Hazleman BL, Hackney R, Riley GP: Expression of transforming growth factor-beta isoforms and their receptors in chronic tendinosis. *J Anat* 199(Pt 3): 231-240, 2001
22. Fenwick SA, Hazleman BL, Riley GP: The vasculature and its role in the damaged and healing tendon. *Arthritis Res* 4(4): 252-260, 2002
23. Floridi A, Ippolito E, Postacchini F: Age-related changes in the metabolism of tendon cells. *Connect Tissue Res* 9(2): 95-97, 1981
24. Franchi M, Fini M, Quaranta M, De Pasquale V, Raspanti M, Giavaresi G, Ottani V, Ruggeri A: Crimp morphology in relaxed and stretched rat Achilles tendon. *J Anat* 210(1): 1-7, 2007
25. Fukuta S, Oyama M, Kavalkovich K, Fu FH, Niyibizi C: Identification of types II, IX and X collagens at the insertion site of the bovine achilles tendon. *Matrix Biol* 17(1): 65-73, 1998
26. Galatz LM, Sandell LJ, Rothermich SY, Das R, Mastny A, Havlioglu N, Silva MJ, Thomopoulos S: Characteristics of the rat supraspinatus tendon during tendon-to-bone healing after acute injury. *J Orthop Res* 24(3): 541-550, 2006
27. Gartner LP, Hiatt JL: *Color Textbook of Histology Third edition International Edition.* (Elsevier USA). 2007.S: 126-127
28. Gökmen FG (Editör): *Sistematik Anatomi (Güven Kitabevi, İzmir).* 2003.S: 215-216, 236-239
29. Gutsman T, Hassenkam T, Cutroni JA, Hansma PK: Sacrificial bonds in polymer brushes from rat tail tendon functioning as nanoscale velcro. *Biophys J* 89(1): 536-542, 2005

30. Guyton AC, Hall JE: Textbook of Medical Physiology (WB Saunders Company, Philadelphia) 2006.S: 675-681
31. Hadjicostas PT, Soucacos PN, Paessler HH, Koleganova N, Berger I: Morphologic and histologic comparison between the patella and hamstring tendons grafts: a descriptive and anatomic study. *Arthroscopy* 23(7): 751-756, 2007
32. Heinemeier K, Langberg H, Olesen JL, Kjaer M: Role of TGF-beta1 in relation to exercise-induced type I collagen synthesis in human tendinous tissue. *J Appl Physiol* 95(6): 2390-2397, 2003
33. Heinemeier KM, Olesen JL, Haddad F, Langberg H, Kjaer M, Baldwin KM, Schjerling P: Expression of collagen and related growth factors in rat tendon and skeletal muscle in response to specific contraction types. *J Physiol* 582(Pt 3):1303-1316, 2007
34. Huang T, Perry S, Soslowsky L: The Effect of Overuse Activity on Achilles Tendon in an Animal Model: A Biomechanical Study. *Ann Biomed Eng* 32(3): 336-341, 2004
35. Ippolito E, Natali PG, Postacchini F, Accinni L, De Martino C: Morphological, immunochemical, and biochemical study of rabbit achilles tendon at various ages. *J Bone Joint Surg Am* 62(4): 583-598, 1980
36. Ippolito E, Postacchini F, Ricciardi-Pollini PT: Biochemical variations in the matrix of human tendons in relation to age and pathological conditions. *Ital J Orthop Traumatol* 1(1): 133-139, 1975
37. Jarvinen TA, Kannus P, Paavola M, Jarvinen TL, Jozsa L, Jarvinen M: Achilles tendon injuries. *Current Opinion in Rheumatology* 13: 150-155, 2001
38. Jozsa L, Reffy A, Balint J: Polarization and electron microscopic studies on the collagen of intact and ruptured human tendons. *Acta histochem* 74: 209-215, 1984

39. Kanazawa T, Soejima T, Murakami H, Inoue T, Katouda M, Nagata K: An immunohistological study of the integration at the bone-tendon interface after reconstruction of the anterior cruciate ligament in rabbits. *Bone Joint Surg Br* 88(5): 682-687; 2006. Erratum in: *J Bone Joint Surg Br* 88(10): 1406; 2006
40. Kannus P, Jozsa L: Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients. *J Bone Joint Surg Am* 73(10): 1507-1525, 1991
41. Kannus P: Structure of the tendon connective tissue. *Scand J Med Sci Sports* 10(6): 312-320, 2000
42. Kirkendall DT, Garrett WE: Function and biomechanics of tendons. *Scand J Med Sci Sports* 7(2): 62-66, 1997
43. Kissel CG, Sundareson AS, Unroe BJ: Spontaneous Achilles Tendon Rupture in a patient with Systemic Lupus Erythematosus. *J Foot Surg* 30: 390-397, 1991
44. Kjaer M: Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev* 84(2): 649-698, 2004
45. Krolo I, Visković K, Ikić D, Klarić-Custović R, Marotti M, Cicvara T: The risk of sports activities - the injuries of the Achilles tendon in sportsmen. *Coll Antropol* 31(1): 275-278, 2007
46. Komi PV: Relevance of in vivo force measurements to human biomechanics. *J Biomech* 23 Suppl 1: 23-34, 1990
47. Kong A, Cassumbhoy R, Subramaniam RM: Magnetic resonance imaging of ankle tendons and ligaments: part I – anatomy. *Australas Radiol* 51(4): 315-323, 2007

48. Kubo K, Kanehisa H, Miyatani M, Tachi M, Fukunaga T: Effect of low-load resistance training on the tendon properties in middle-aged and elderly women. *Acta Physiol Scand* 178(1): 25-32, 2003
49. Kubo K, Morimoto M, Komuro T, Tsunoda N, Kanehisa H, Fukunaga T: Age-related differences in the properties of the plantar flexor muscles and tendons. *Med Sci Sports Exerc* 39(3): 541-547, 2007
50. Kumar M, Rajasekaran S: Spontaneous tendon ruptures in alkaptonuria. *J Bone Joint Surg (Br)* 85-B: 883-886, 2003
51. Kvist M, Hurme T, Kannus P, Jarvinen T, Maunu VM, Jozsa L, Jarvinen M: Vascular density at the myotendinous junction of the rat gastrocnemius muscle after immobilization and remobilization. *Am J Sports Med* 23(3): 359-364, 1995
52. Kvist M, Jozsa L, Jarvinen M: Vascular changes in the ruptured Achilles tendon and paratenon. *Int Orthop* 16(4): 377-382, 1992
53. Lee CC, Jacobs RL: Achilles (the man, the myth, the tendon). *Iowa Orthop J* 22: 108-109, 2002
54. Lephart SM, Pincivero DM, Giraldo JL, Fu FH: The role of proprioception in the management and rehabilitation of athletic injuries. *Am J Sports Med* 25(1): 130-137, 1997
55. Leppilahti J, Puranen J, Orava S: Incidence of Achilles tendon rupture. *Acta Orthop Scand* 67(3): 277-279, 1996
56. Lin TW, Cardenas L, Soslowsky LJ: Biomechanics of tendon injury and repair. *J Biomech* 37(6): 865-877, 2004
57. Maffulli N, Barrass V, Ewen S: Light Microscopic Histology of Achilles Tendon Ruptures. *Am J Sports Med* 28(6): 857-863, 2000

58. Maffulli N, Ewen S, Waterston S, Reaper J and Barrass V: Tenocytes from Ruptured and Tendinopathic Achilles Tendons Produce Greater Quantities of Type III Collagen than Tenocytes from Normal Achilles Tendons. *Am J Sports Med* 28(4): 499-505, 2000
59. Maffulli N: Rupture of the Achilles tendon. *J Bone Joint Surg Am* 81(7): 1019-1036, 1999
60. Magnusson SP, Qvortrup K, Larsen JO, Rosager S, Hanson P, Aagard P, Krogsaard M, Kjaer M: Collagen fibril size and crimp morphology in ruptured and intact Achilles tendons. *Matrix Biology* 21: 369-377, 2002
61. Martinelli B, Cimarosti V, Valentini R: Stabilometric analysis after percutaneous repair of ruptured Achilles tendon. *Foot and Ankle Surg* 8: 255-260, 2002
62. Mazzone M, McCue T: Common Conditions of the Achilles Tendon. *American Family Physician* 65(9): 1805-1810, 2002
63. Molloy T, Wang Y, Murrell G: The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med* 33(5): 381-394, 2003
64. Moore KL, Dalley AF: Clinically Oriented Anatomy(Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia). 1999. S: 587
65. Moore KL, Perseud TVN: Klinik Yönleri ile İnsan Embryolojisi. 6. İngilizce Baskıdan çeviri. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Çeviri editörleri) 2002. S: 407-411, 420-421, 434-437
66. Moore MJ, De Beaux A: A quantitative ultrastructural study of rat tendon from birth to maturity. *J Anat* 153: 163-169, 1987
67. Mow VC, Huiskes R: Structure and function of ligaments and tendons:Basic Orthopaedic Biomechanics and Mechano-Biology (Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia). 2005.S:301-341

68. Nakagawa Y, Hayashi K, Yamamoto N, Nagashima K: Age-related changes in biomechanical properties of the Achilles tendon in rabbits. *Eur J Appl Physiol* 73: 7-10, 1996
69. Nakagawa Y, Majima T, Nagashima K: Effect of ageing on ultrastructure of slow and fast skeletal muscle tendon in rabbit Achilles tendons. *Acta Physiol Scand* 152(3): 307-313, 1994
70. Nordin M, Frankel VH: *Biomechanics of tendons and ligaments: Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System* (Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia). 2001.S: 103-123
71. Nordin M, Frankel VH: *Biomechanics of the foot and ankle: Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System*. (Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia). 2001.S: 223-255
72. Oakes BW: *Tissue healing and repair: tendons and ligaments* (Blackwell Science, Boston). 2003. S: 56-98
73. O'Brien M: Functional anatomy and physiology of tendons. *Clin Sports Med* 11(3): 505-520, 1992
74. O'Brien M: Structure and metabolism of tendons. *Scand J Med Sci Sports* 7(2): 55-61, 1997
75. O'Brien M: The anatomy of the Achilles tendon. *Foot Ankle Clin* 10(2): 225-238, 2005.
76. Provenzano PP, Vanderby JR: Collagen fibril morphology and organization: implications for force transmission in ligament and tendon. *Matrix Biol* 25(2): 71-84, 2006
77. Ralphs JR, Benjamin M, Thornett A: Cell and Matrix Biology of the Suprapatella in the Rat: A Structural and Immunocytochemical Study of Fibrocartilage in a Tendon Subject to Compression. *The Anatomical Record* 231: 167-177, 1991

78. Raspanti M, Manelli A, Franchi M, Ruggeri A: The 3D structure of crimps in the rat Achilles tendon. *Matrix Biol* 24(7): 503-507, 2005 Comment in: *Matrix Biol* 25(3): 132-3; author reply 134, 2006
79. Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS: Glycation-induced matrix stability in the rabbit achilles tendon. *Arch Biochem Biophys* 399(2):174-180, 2002
80. Sadler TW: Langman's Medikal Embryoloji. Dokuzuncu baskıdan çeviri. Başaklar AC (Çeviri editörü) Palme Yayıncılık, Ankara 2005, S.175-183
81. Sargon MF, Ozlu K, Oken F: Age-related changes in human tendo calcaneus collagen fibrils. *Saudi Med J* 26(3): 425-428, 2005
82. Schmidt-Rohlfing B, Graf J, Schneider U, Niethard FU: The blood supply of the Achilles tendon. *Int Orthop* 16(1): 29-31, 1992
83. Schünke M, Schulte E, Schumacher U: Prometheus Anatomi Atlası. Almanca ve İngilizce 1. Baskıdan çeviri. Yıldırım M., Marur T(Çeviri editörleri) Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2007, S. 410-411, 434-435, 503
84. Scott JE: Collagen--proteoglycan interactions. Localization of proteoglycans in tendon by electron microscopy. *Biochem J* 187(3): 887-891, 1980
85. Shadwick RE: Elastic energy storage in tendons: mechanical differences related to function and age. *J Appl Physiol* 68(3): 1033-1040, 1990
86. Shakibaei M, Pfister K, Schwabe R, Vormann J, Stahlmann R: Ultrastructure of Achilles tendons of rats treated with ofloxacin and fed a normal or magnesium-deficient diet. *Antimicrob Agents Chemother* 44(2): 261-266, 2000
87. Shampo MA, Kyle RA: Medical mythology: Achilles. *Mayo Clin Proc* 67(7): 651, 1992

88. Sharma P, Maffulli N: Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *J Bone Joint Surg Am* 87(1): 187-202, 2005
89. Steindler A: *Kinesiology of the human body* (Thomas,USA). 1977.S: 55-57
90. Strocchi R, De Pasquale V, Guizzardi S, Govoni P, Facchini A, Raspanti M, Girolami M, Giannini S: Human Achilles tendon: morphological and morphometric variations as a function of age. *Foot Ankle* 12(2): 100-104; 1991
91. Susan S, Collins P, Wigley C: *Gray's Anatomy* (Elsevier, Philadelphia). 2005.S :62, 1531-1536
92. Tozer S, Duprez D: Tendon and ligament: development, repair and disease. *Birth Defects Res C Embryo Today* 75(3): 226-236, 2005
93. Tsubone T, Moran SL, Amadio PC, Zhao C, An KN: Expression of growth factors in canine flexor tendon after laceration in vivo. *Ann Plast Surg* 53(4): 393-397, 2004
94. Tsubone T, Moran SL, Subramaniam M, Amadio PC, Spelsberg TC, An KN: Effect of TGF-beta inducible early gene deficiency on flexor tendon healing; *J Orthop Res* 24(3): 569-575, 2006
95. Tuite DJ, Renström PA, O'Brien M: The aging tendon. *Scand J Med Sci Sports* 7(2): 72-77, 1997
96. Urlando A, Hawkins D: Achilles Tendon Adaptation during Strength Training in Young Adults. *Med Sci Sports Exerc* 39(7):1147-1152, 2007
97. Wang JH: Mechanobiology of tendo. *J Biomech* 39(9): 1563-1582, 2006
98. Williams JG: Achilles tendon lesions in sport. *Sports Med* 3(2): 114-135; 1986
99. www-ermm.cbcu.cam.ac.uk/fig001grc.gif

100. Zantop T, Tillmann B, Petersen W: Quantitative assessment of blood vessels of the human Achilles tendon: an immunohistochemical cadaver study. Arch Orthop Trauma Surg 123(9): 501-504, 2003
101. Zhou J, Koike Y, Uhthoff HK, Trudel G: Quantitative histology and ultrastructure fail to explain weakness of immobilized rabbit Achilles' tendons. Arch Phys Med Rehabil 88(9): 1177-1184, 2007