



Sıçanlarda organik silikon enjeksiyonunun Aşil tendonu iyileşmesine etkisi

Arel GERELİ¹, Umut AKGÜN¹, Serap USLU², İsmail AĞIR³, Filiz ATEŞ⁴, Ufuk NALBANTOĞLU¹

¹Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul;

²Acıbadem Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İstanbul;

³Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Adıyaman;

⁴Boğaziçi Üniversitesi Biyomedikal Bilimler Enstitüsü, İstanbul

Amaç: Çalışmamızın amacı çözünür ve emilebilir bir organik silikon bileşiğinin Aşil tendonunun iyileşmesi üzerindeki etkinliğini değerlendirmektir.

Çalışma planı: Yirmi bir adet Wistar albino sıçanının Aşil tendonları kesildi ve onarıldı. Ameliyat sonrası 0.01 ml organik silikon solüsyonu (silanol) peri/intratendinöz olarak sıçanların sol bacaklarına ve aynı dozda salin solüsyonu sağ bacaklarına enjekte edildi. sıçanlar rastgele üç gruba ayrılarak (n=7) 10. ve 20. günde biyomekanik, 20. günde histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeye tabi tutuldular. Fibroblast hücre sayısı ve çapı, dokuda damarlanma ve damar çapları histomorfometrik olarak incelendi. Fibroblast büyüme faktörü (bFGF) immünoaktivitesi 20. günde immünohistokimya ile değerlendirildi. Onarılan tendonların kopma kuvveti ve sertlikleri 10. ve 20. günlerde ölçüldü.

Bulgular: Birim alanda görülen fibroblast sayısı, ortalama fibroblast çapı, birim alandaki kollajen liflerine paralel damar sayısı ve damar çapları kontrol grubuna kıyasla organik silikon grubunda anlamlı düzeyde daha yüksekti (p<0.05). Silikon grubunda bFGF'nin artmış immünoaktivitesi saptandı. Onuncu günde silikon grubunda tendonların kopma kuvvetleri kontrol grubuna kıyasla daha iyi bulundu (p=0.041). Yirminci gündeki kopma kuvvetleri arasında da fark saptanırken, bu fark anlamlı bulunmadı. Silikon enjeksiyonunun iyileşen tendonların sertliklerine etki etmediği görüldü.

Çıkarımlar: Elde ettiğimiz veriler, organik silikonun tendon iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu ve tendon iyileşme yanıtı üzerine daha ileri çalışmalar için uygun olduğunu göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Aşil tendonu; organik silikon; tendon iyileşmesi.

Tendon yaralanmaları sık görülen klinik durumdur. Yaralanan bir tendon onarılsa dahi iyileşme süreci uzun zaman almakta ve bu yaralanmalar kalıcı bozukluklara yol açabilmektedir. İyileşmenin erken döneminde başlanan kontrollü hareket tendonda gerilme gücü ve kayma işlevinin artmasını sağlayarak kalıcı bozukluk ihtimalini azaltır.^[1-4] Onarılan tendon erken dönemde baş-

lanan yüklenmelere dayanmak durumunda olduğu için, iyileşme dokusunun başlangıç dayanıklılığı önemlidir. Bu nedenle, birçok araştırma tendon iyileşmesinin erken dönemde uyarılmasına odaklanmıştır.

Tendonun iyileşme mekanizmalarını daha iyi anlayabilme ve iyileşmeyi daha hızlı hale getirmek amacıyla araştırmacılar birçok faktörü incelemiştir. Büyüme

Yazışma adresi: Dr. Arel Gereli, Acıbadem Kadıköy Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği Tekin Sok., No: 8, Acıbadem, 34718 İstanbul.

Tel: +90 216 – 544 43 17 e-posta: arelgereli@gmail.com

Başvuru tarihi: 12.01. 2013 **Kabul tarihi:** 20.12.2013

©2014 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği

Bu yazının çevrimiçi İngilizce versiyonu
www.aott.org.tr adresinde
doi: 10.3944/AOTT.2014.3162
Karekod (Quick Response Code)



faktörleri, mezenkimal kök hücreler, sitokinler,^[2,5] gen terapisi yaklaşımları,^[6] sodyum hiyaluronat,^[7,8] trombosit konsantreleri,^[9] antikoagülanlar^[10] ve hiperbarik oksijen^[11] bu faktörler arasında yer alır. Bununla birlikte, günümüzde dışarıdan uygulanan maddeler ile tendon iyileşmesini arttıracak bir altın standart hala elde edilememiştir.

Günümüzde silikon bileşikleri protez uygulamaları ve yara tedavisi gibi medikal amaçlarla kullanılmaktadır.^[12-14] Bu bileşikler hem cilt dokusu/fibroblastlarda^[15-19] hem de kemik dokusu/kıkırdaklarda^[12-15,18-21] kollajen sentezindeki önemi ile ilişkilendirilmektedir. Çözünbilir silikon (organik silikon) insan osteoblast benzeri hücrelerde ve cilt fibroblastlarında kollajen üretimi için önemli bir katalizör olan prolil hidroksilaz aktivitesini uyararak Tip 1 kollajen sentezini uyarır.^[18] Serum silikon konsantrasyonu ile kıkırdak kollajen konsantrasyonu arasında silikonun hücre dışı matris bileşenlerinin oluşmasında rol oynadığını düşündüren pozitif korelasyon mevcuttur.^[15] Buna ek olarak, silikonun fibroblast büyüme faktörü (bFGF) seviyesini arttırdığı bildirilmiştir.^[16] bFGF'nin ise hücre proliferasyonunu, damarlanmayı ve kollajen sentezini arttırdığı bilinmektedir.^[3,22-24] Bildiğimiz kadarıyla, bugüne kadar silikonun tendon iyileşmesine etkilerini inceleyen herhangi bir çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmanın amacı, çözünür ve emilebilir silikonun etkinliğini iyileşmekte olan tendonda fibroblast sayısı ve çapı, kan damarı sayısı ve damar çapı, bFGF immünoreaktivitesi ve tendon kopma kuvveti ile sertliği yönünden incelemektir.

Gereç ve yöntem

Çalışmamızda 21 adet, 8 aylık, dişi ve her biri yaklaşık 350-450 gram olan Wistar albino sıçanı kullanıldı. Tüm sol bacaklar silikon grubu (21 tendon) tüm sağ bacaklar (21 tendon) kontrol grubu olarak hazırlandı. Yapılan kuvvet analizinde α hata ihtimali 0.05, β hata ihtimali 0.20 kabul edildiğinde ve çalışmanın gücü 0.80 iken, gruplar arasında anlamlı fark bulabilmek için her gruptaki en az örneklem miktarı 6 sıçan olarak belirlendi.^[25] Sıçanlar 10. ve 20. günlerde biyomekanik testler, 20. günde de histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme yapılmak üzere 7'şer sıçandan rastgele 3 gruba ayrıldı. Laboratuvar hayvanlarının kullanımı onamı, Hayvan Deneyleri Araştırma ve Etik Komisyonu tarafından verildi (Marmara Üniversitesi, no. 17.12.2009-60.2009.mar). Tüm hayvanların bakımları laboratuvar hayvan bakımı prensipleri ve uluslararası laboratuvar hayvan bakım ve kullanımı yasalarıyla uyumlu olarak yapıldı.

Sıçanlar intraperitoneal sodyum tiopental (50 mg/kg Pentothal; Laboratories, Abbott Park, IL, ABD) enjeksiyonu ile anestetik hale getirildikten sonra enfeksiyon profilaksisi için cerrahi öncesi bir doz intramusküler sefazolin sodyum (0.1 mg/kg Cefozin; Bilim İlaç, İstanbul, Türkiye) uygulandı. Sıçanlar ameliyat masasına sırtüstü yatırıldı ve arka bacakları steril olarak povidon-iyodin (Betadine®) solüsyon ile hazırlandı. Her iki bacağına 2 cm'lik posterior uzunlama insizyon uygulandı. Aşil ve plantaris tendonları ortaya konduktan sonra 15 numara bistüri kullanılarak tendonların distal yapışma yerine 0.5 cm mesafeden tam kat transvers tenotomi uygulandı. Aşil tendonu Kessler tekniği ile 5/0 monofilaman polipropilen (Prolene®; Ethicon Inc., Bridgewater, NJ, ABD) kullanılarak onarıldı. Hiçbir sıçanda tendon kılıfı onarımı yapılmadı. Ardından, cilt 4/0 monofilaman polipropilen sütür kullanılarak dikildi. Onarım seviyesini işaretlemek ve silikon enjeksiyonu bölgesini standardize etmek için ayrı bir dikiş atıldı. Sıçanlara ameliyat sonrası pansuman veya alçı uygulanmadı. Analjezi için sularına parasetamol tablet ilave edildi.

Tüm hayvanlar suya ve laboratuvar besinine serbestçe ulaşabildiler. Sıçanlar çalışma süresi boyunca 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık döngüsü içinde tel çatılı kafeslerde dörderli gruplar halinde tutuldular. Silikon ve kontrol grubu tendonlarının karşılaştırmasını aynı sıçan üzerinde yapabilmek için tüm sol bacaklar silikon grubu (n=21) tüm sağ bacaklar kontrol grubu (n=21) olarak hazırlandı. Silikon enjeksiyonuna tendon iyileşmesinde enflamatuvar dönemin sonu olan 3. günde başlandı.^[26] 0.01 ml steril, çözünbilir, emilebilir silanol solüsyonu (Conjonctyl®; Sédifa Laboratoire, Monaco) ciltte işaretli seviyeden 26G enjektör ile peri/intratendinöz olarak ameliyat sonrası 3., 5., 7., 9., 11., 13., 16. ve 19. günlerde silikon grubu sıçanların sol bacaklarına enjekte edildi. Aynı dozda steril salin solüsyonu aynı günlerde ve aynı şekilde kontrol grubu sıçanların sağ bacaklarına enjekte edildi. Sıçanlar her bir grupta 7 sıçan ve 14 tendon olacak şekilde rastgele 3 gruba ayrıldı. Sakrifiye işlemi ameliyat sonrası 10. ve 20. günde biyomekanik test için ve 20. günde histolojik ve immünohistokimyasal değerlendirme için planlandı. Sıçanlarda çalışma dönemi boyunca sistemik toksisite ya da enjeksiyon bölgesi enfeksiyonuna rastlanmadı.

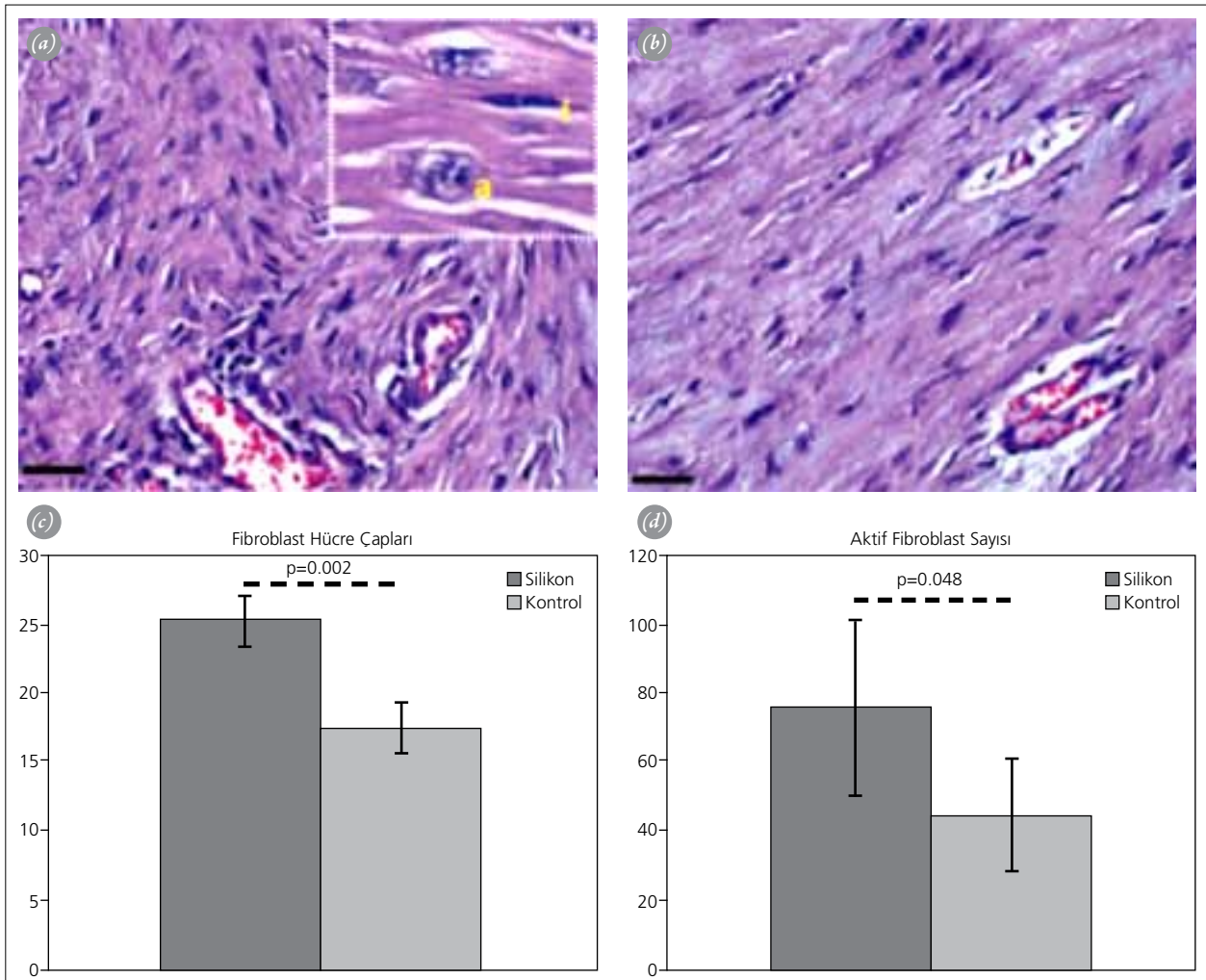
Histoloji grubundaki hayvanlara intraperitoneal 50 mg/kg sodyum tiopental enjeksiyonu ile anestezi uygulandı. Sıçanlar canlı ve anestezi altında iken iyileşmekte olan tendonlar her iki ucundan transvers keskin disseksiyon ile çıkarıldı. Tendonların çıkarılmasından sonra hayvanlar letal dozda pentobarbital (150 mg/kg) ile sakrifiye edildi. Taze tendonlar %10'luk nötr tamponlu formaldehit ile tespit edilip oda sıcaklığında 24 saat bek-

letildikten sonra parafine gömüldü. Mikrotom (Thermo Scientific Shandon; Fisher Scientific UK Ltd., Leicester, Birleşik Krallık) yardımı ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Tüm kesitler histolojik analiz için hematoksilin-eozin, kollajen tespiti için ise Masson trikrom ile boyandı.

Histomorfometrik analiz hematoksilin-eozin ve aktin ile boyanmış kesitlerle UTHSCSA (The University of Texas Health Science Center at San Antonio) Image Tool for Windows v1.28 yazılımı kullanılarak yapıldı. Her parafin bloktan 5 seri kesit örnekleme için alındı. Alınan her histolojik kesitte onarım/enjeksiyon bölgesinin komşuluğunda 5 mikroskopik alan değerlendirildi. Histomorfometrik çalışma alanının standardizasyonu açısından damarlanması çok olan ve periferinde ince

bir damar içeren mikroskopik alanlar değerlendirmeye alındı. Fibroblast sayısı, fibroblast çapı, kollajen liflerine paralel giden kan damarlarının sayısı ve damarların çapı ölçülerek kaydedildi ve sonuçlar silikon ve kontrol grupları için birbirleri ile karşılaştırıldı.^[27,28] Ölçümler çalışma gruplarından habersiz olan iki bağımsız araştırmacı tarafından yapıldı. Kollajen lifleri arasına yerleşmiş, bolca ve düzensiz dallanan ovoid sitoplazmalı, çekirdeği büyük ve soluk boyanan, ince kromatinleri ve belirgin nükleolusları olan fibroblastlar aktif kabul edildi.^[27]

İmmünohistokimyasal çalışmalar için Parafin bloklardan mikrotom kullanılarak 2 µm kalınlığındaki seri kesitler örneklem olarak alındı. Tüm histolojik kesitlerden onarım/enjeksiyon alanına yakın olanlar değerlendirildi. İmmünohistokimya çalışma alanının standardizasyo-

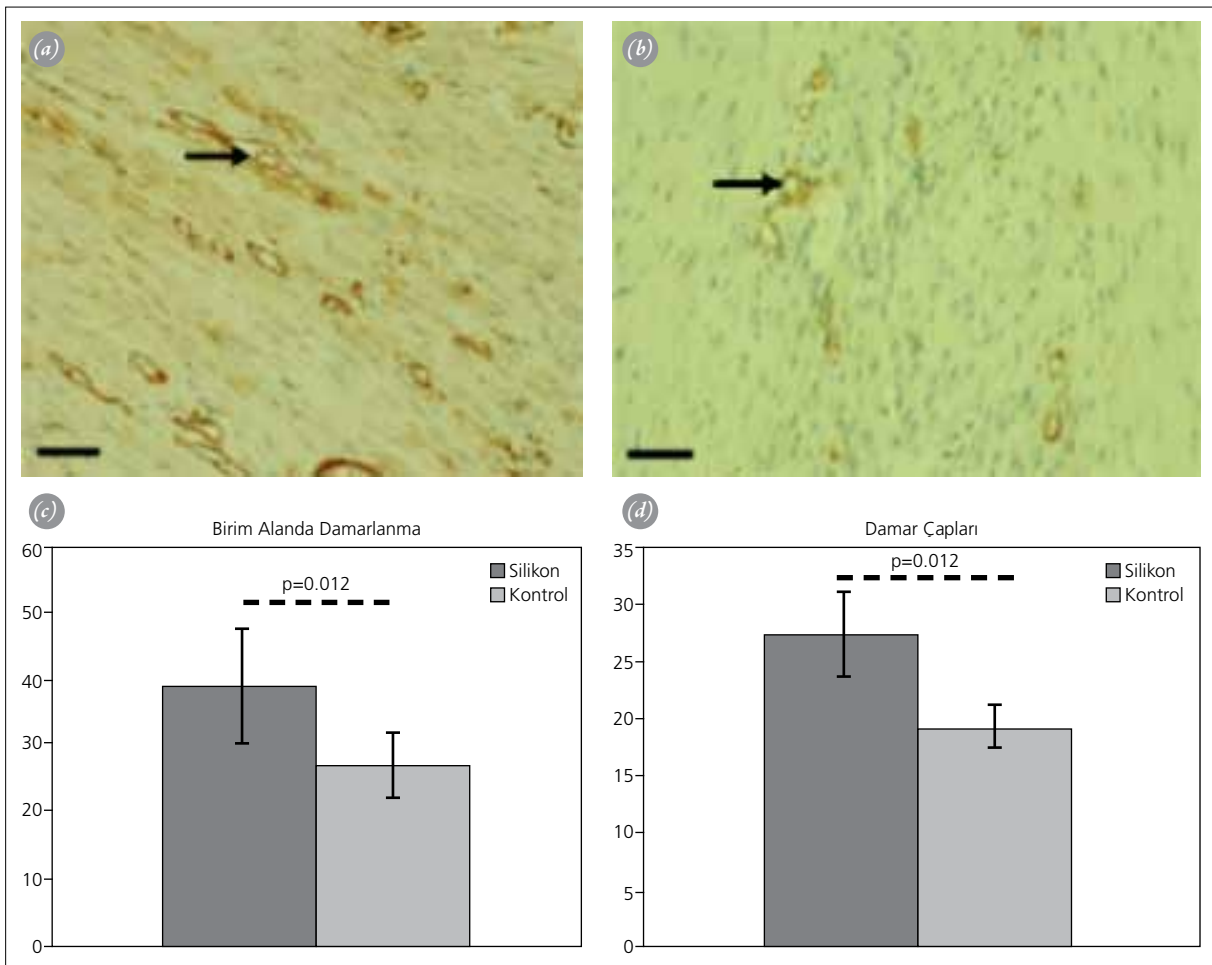


Sekil 1. Tendon onarım bölgesinde 20. gündeki histomorfometrik ölçümlerde aktif fibroblastların (a) silikon grubunda (b) kontrol grubuna kıyasla daha belirgin infiltrasyonu saptandı (HE, x200). Sekil 1a'da aktif (a) ve inaktif (i) fibroblastların büyütülmüş görüntüsü verilmektedir (HE, x400). Her iki grupta (c) fibroblast hücre çaplarını ve (d) aktif fibroblast sayısını gösteren sonuç grafikleri. Fibroblast hücre çapı değerleri: silikon: 25.3±1.6 Å, kontrol: 17.49±1.8 Å. Aktif fibroblast sayısı; silikon: 76.5±25.4, kontrol: 45.5±16.1. Her iki ölçümde de gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülüyor. (Ölçü çubuğu, 100 Å). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

nu açısından damarlanması çok olan ve periferinde ince bir damar içeren alanlar değerlendirmeye alındı. Tam otomatik BenchMarkXT (Ventana Medical Systems Inc., Tucson, AZ, ABD) platformu kullanılarak streptavidin-biotin yöntemi ile immünohistokimya işlemleri gerçekleştirildi. Kesitler, düz kas aktini primer antikorunu (Novocastra; 1:100) ve bFGF antikorunu (primer antikor: bFGF Abcam; 1:100) ile 24°C'de 40 dakika inkübe edildi. Ardından kesitler tekrar biyotinlenmiş sekonder antikor (iVIEW DAB Detection Kit; Ventana Medical Systems Inc., Tucson, AZ, ABD) ile 4 dakika, yaban turbu peroksidazi ile konjüğe streptavidin (iVIEW DAB Detection Kit) ile 8 dakika inkübe edildi. Diaminobenzidin (iVIEW DAB Detection Kit) ile 8 dakikalık inkübasyonun ardından, renk sabitlemesi için bakır (iVIEW DAB Detection Kit) kullanıldı. Tüm kesitler Hematoksilin II (Ventana Medical Systems Inc., Tucson, AZ, ABD) ile 12 dakika boyandı. Musluk suyu ile

yıkandıktan sonra, kesitler derecelendirilmiş etanol ile dehidrate edildi, ksilen ile temizlendi ve gömme maddesi Consul-Mount (Fisher Scientific UK Ltd., Leicester, Birleşik Krallık) ile yerleştirildi. Kesitler konvansiyonel ışık mikroskobu (Olympus BX51; Olympus America Inc., Center Valley, PA, ABD) ile incelendi. Onarım dokusundaki bFGF immünoreaktivitesi yok, az, orta ve kuvvetli olarak derecelendirildi. Değerlendirme deney gruplarından habersiz iki bağımsız araştırmacı tarafından yapıldı.

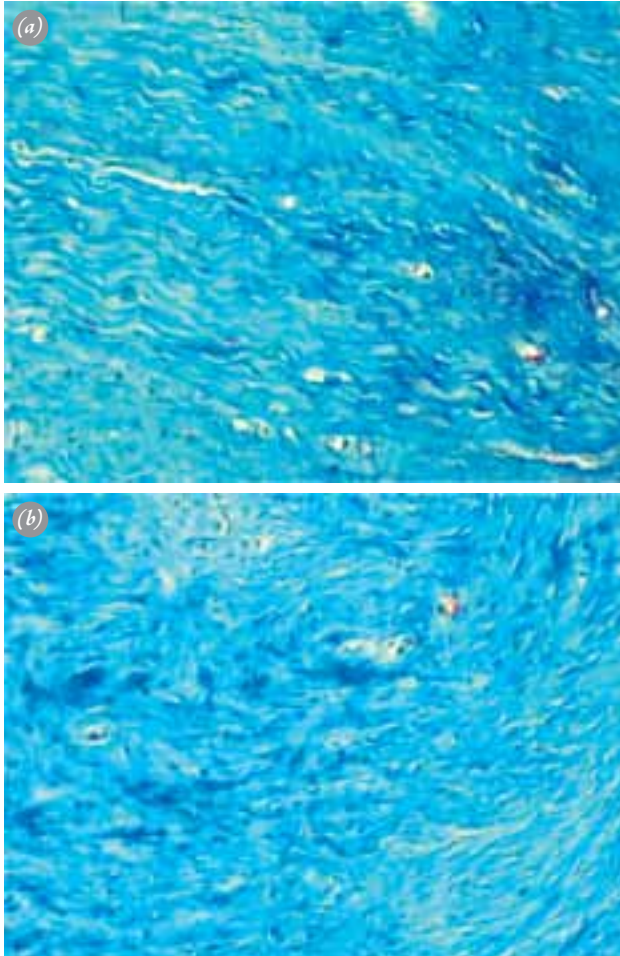
Mekanik ölçümler için tendonlar bir uça kalkaneus ile diğer uça kasın bir parçası ile alındı. Aşil tendon çapları dijital kumpas ile ölçülüp kaydedildi. Tendonlar salin emdirilmiş gazlı beze sarılarak bir kutuya kondu ve test edilene kadar -10°C'de saklandı. Tendonlar test edilmeden önce oda sıcaklığında çözüldü ve tüm dikişler alındı. Tendonların proksimal ve distal uçları iki adet



Sekil 2. (a) Silikon uygulanan tendonlarda 20. gündeki ölçümlerde birim alanda damar sayısı ve damar çapları (b) kontrol grubuna oranla anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Her iki grupta (c) birim alanda damar sayısı ve (d) damar çapını gösteren sonuç grafikleri (düz kas aktin immünohistokimya, x200). Birim alanda damarlanma; silikon: 39±8.7, kontrol: 27.2±4.9. Damar çapı; silikon: 27.3±3.7 Å, kontrol: 19.4±1.8 Å. Her iki ölçümde de gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülüyor. (Ölçü çubuğu, 100 Å). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

zımpara kağıdı arasına hızlı sertleşen yapıştırıcı (UHU Super Glue; UHU GmbH & Co. KG, Bühl, Almanya) ile yapıştırıldıktan sonra çekme/koparma cihazının (LF Plus; Lloyd Materials Testing, West Sussex, Birleşik Krallık) tutucularına tespit edildi. Makine tüm denemelerde aynı uzunluktaki tendonları test edebilmesi için ayarlandı. Tendonlar 10 mm/dakikalık gerilme ile yüklendi. Tendonun kopma kuvveti ve sertlik değerleri kaydedildi. Ölçümler silikon ve kontrol gruplarında istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

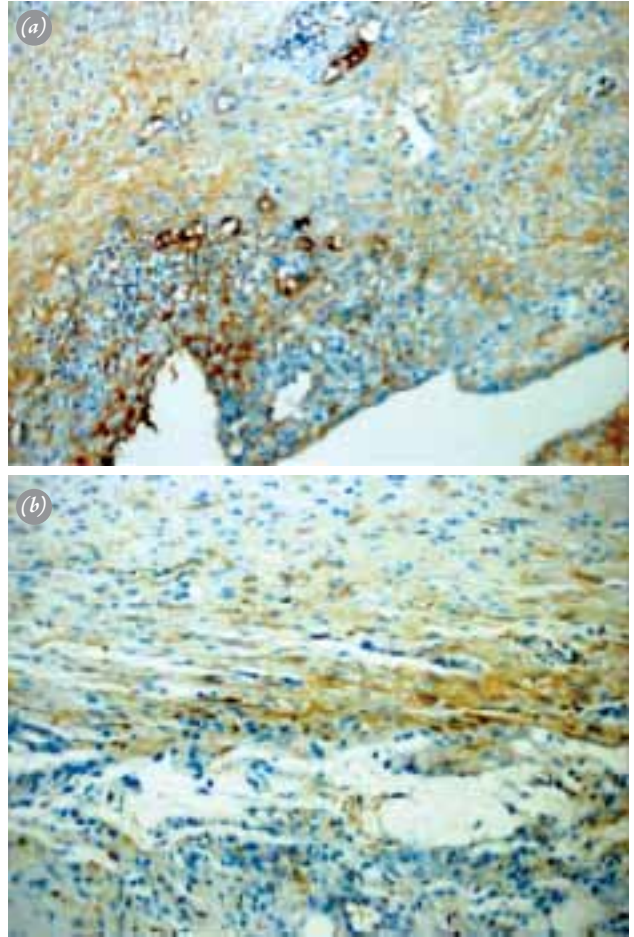
Ölçümler NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 ve PASS 2008 İstatistik Yazılımı (Utah, ABD) paketleri kullanılarak analiz edildi. Farklılıkların anlam derecelerinin değerlendirilmesinde Mann-Whitney U-testi ve Student t-testinden yararlanıldı. Değerlendirmede $p < 0.05$ ve $p < 0.01$ düzeyindeki farklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 3. (a) Silikon uygulanan tendonlarda aktif fibroblastların çevresindeki kollajen fibrilleri (b) kontrol grubundakilerle göre daha dalgalı ve paralel bir yapı göstermekteydi (Masson trikrom, x100). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

Bulgular

Histomorfometrik değerlendirmede 20. günde silikon grubundaki tendonların onarım alanındaki aktif fibroblast sayısında anlamlı düzeyde artış saptandı (silikon: 76.5 ± 25.4 , kontrol: 45.5 ± 16.1 ; $p = 0.048$). Fibroblast hücre çapları da silikon grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu (silikon: 25.3 ± 1.6 Å, kontrol: 17.49 ± 1.8 Å; $p = 0.002$) (Şekil 1). Aktif fibroblastlar kollajen liflerine yakın ve liflerin uzun eksenine paralel bulunurken, inaktif fibroblastlar daha küçük ve elonge idiler (Şekil 1a). Değerlendirilen alanlardaki damar sayısı (silikon: 39 ± 8.7 , kontrol: 27.2 ± 4.9 ; $p = 0.012$) ve damar çapları da (silikon: 27.3 ± 3.7 Å, kontrol: 19.4 ± 1.8 Å; $p = 0.002$) silikon grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu (Şekil 2). Silikon grubundaki tendonlarda kollajen fibrilleri kontrol grubu tendonlarına göre daha iyi organizasyon göstermekteydi (Şekil 3). Hiçbir tendonda enjeksiyon

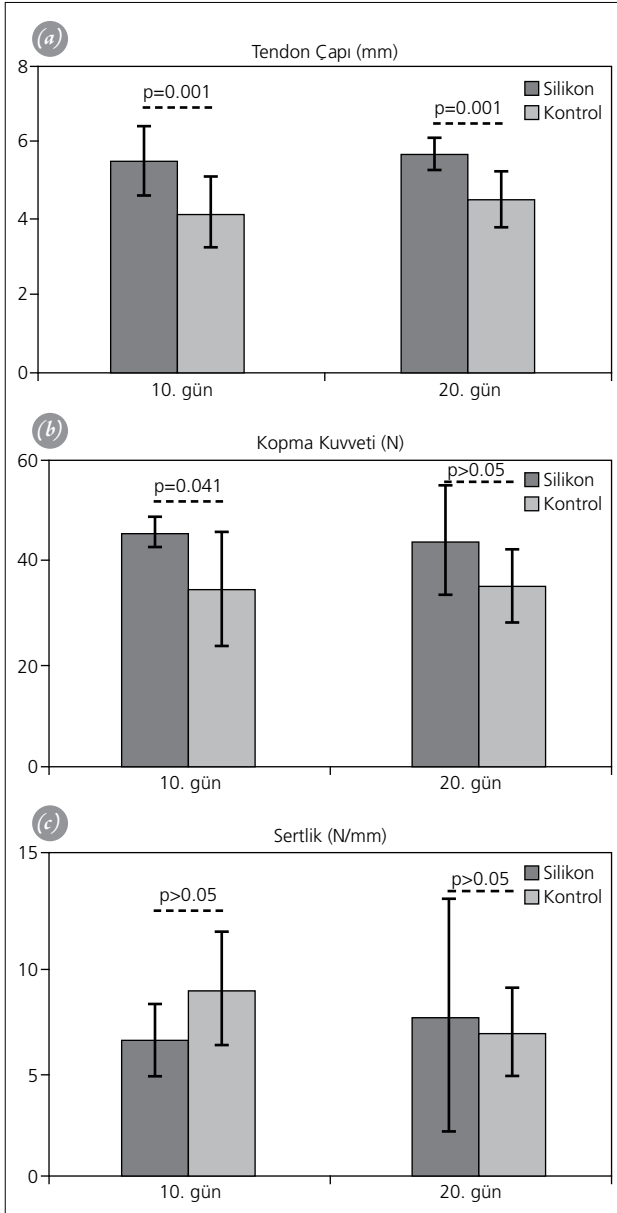


Şekil 4. (a) Silikon uygulanan tendonlarda fibroblast büyüme faktörü (bFGF) kuvvetli immünoreaktivite gösterirken, (b) kontrol grubu tendonlarında az immünoreaktivite saptandı (primer antikor: bFGF Abcam; 1:100. HE, x200). [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

bölgesinde granülom oluşumu gözlenmedi.

Yirminci günde silikon grubu tendonlarda bFGF için kuvvetli immünoaktivite gözlenirken, kontrol grubu tendonlarda immünoaktivitenin az olduğu görüldü (Şekil 4).

Silikon grubunda tendonun çapları kontrol grubuna göre 10. günde (silikon: 5.5 ± 0.9 mm, kontrol: 4.2 ± 0.9 mm; $p=0.001$) ve 20. günde (silikon: 5.7 ± 0.4 mm, kontrol: 4.5 ± 0.7 mm; $p=0.001$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazlaydı (Şekil 5a ve 6). Silikon grubundaki tendonların 10. gündeki kopma kuvvetleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha iyi bulundu (silikon: 45.4 ± 5.7 N, dağılım: 33.6-50.7 N; kontrol: 34.7 ± 10.8



Şekil 5. (a-c) Onuncu ve yirminci günlerde mekanik yüklenme bulguları.



Şekil 6. Aynı sıçanın Aşil tendonları. Silikon uygulanan tendonların kontrol grubu tendonlarına göre daha kalın olduğu görülüyor. [Bu şekil, derginin www.aott.org.tr adresindeki çevrimiçi versiyonunda renkli görülebilir.]

N, dağılım: 17.7-47.6 N; $p=0.041$). Yirminci günde kopma kuvvetlerinde ise iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamadı (silikon: 44 ± 22.9 N, dağılım: 28.1-94.2 N; kontrol: 35.4 ± 14.7 N, dağılım: 13.9-60.9 N; $p=0.42$) (Şekil 5b). Tüm örneklerde kopma bölgesi iyileşen tendonun gövde kısmındaydı. İki grup arasında ise sertlik açısından 10. günde (silikon: 6.4 ± 1.6 N/mm, kontrol: 8.7 ± 2.6 N/mm; $p>0.05$) ve 20. günde (silikon: 7.5 ± 5.4 N/mm, kontrol: 6.8 ± 2 N/mm; $p>0.05$) istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 5c).

Tartışma

Silikon bileşikler tıbbi amaçlar için geniş bir kullanım alanına sahiptir. Biyolojik uyumları nedeniyle protez uygulamalarında ve yara tedavisinde yaygın şekilde kullanılmaktadırlar. Silikon (Si) atomları bağ dokusundaki temel köprüleyici yapılardan olan siloksanik (Si-O-Si) bağların temel taşıdır.^[12-14,29,30] Organik silikon grubu bileşikler ise yapısındaki silisyum-karbon bağları ve içerdiği metil grubu nedeniyle diğer silikon bileşiklerinden farklı olarak sınıflanırlar. Özellikleri nedeniyle organik silikon bileşikler suda çözünebilirler, vücut tarafından emilebilirler, dolaşıma katılabilir ve hücre içine girebilirler.^[12,13,15,18] Bu grupta üzerinde en çok çalışılan bileşiklerden biri ise silanoldür. Bu bileşikler biyolojik açıdan aktiftirler ve silikon emilimi silanol şeklinde uygulandığında ciddi anlamda artmaktadır.^[12,17]

Tendon iyileşmesinin proliferasyon/iyileşme aşaması boyunca fibroblast proliferasyonunda belirgin bir artış olur. Bu hücreler kollajen döngüsünü sağlarlar.^[26] Çalışmamızda fibroblast sayısı ve büyüklüğünün silikon uy-

gularan tendonlarda anlamlı şekilde fazla olduğu ve bu fibroblastların histolojik görüntüsünün de aktif olduğu gözlenmiştir. Buna ek olarak, artmış kan akımının iyileşme sürecini hızlandırdığı da bilinmektedir.^[28] Çalışmamızda silikon uygulanan tendonlarda damar sayısı ve damar çaplarının da anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir. Bu bulgular, tendon iyileşmesine erken dönemde olumlu katkı olarak değerlendirilebilir.

Büyüme faktörlerinin tendon iyileşmesindeki rolü literatürde net bir şekilde tanımlanmıştır.^[24,26] Çalışmalar bFGF'nin yeni damar oluşumunu güçlü bir şekilde uyardığını ve fibroblast migrasyonu ile proliferasyonunda düzenleyici bir rol oynadığını göstermiştir.^[22-24] Hanasono ve ark.'nın çalışmasında silikon uygulanan hücre kültürlerinde bFGF üretiminin arttığı gösterilmiştir.^[16] Çalışmamızda da, silikon grubundaki iyileşme dokusunda bFGF immünoaktivitesi yeni damar oluşumu ve hücre proliferasyonu arttıracak şekilde güçlü bulunmuştur. Silikon grubunda fibroblastların artması ve aktifleşmesine ek olarak yeni damar oluşumu, bFGF immünoaktivitesindeki artış ile kollajen liflerin birbirine, fibroblast ve damarlara paralel organizasyonu reaktif fibrotik yanıtta çok artmış iyileşmeye işaret etmektedir (Şekil 3).^[31] Tüm bu bulgular, iyileşme işleminin erken dönemde uyarıldığının göstergesi olarak değerlendirilebilir. Görünüşe göre silikonun doku iyileşmesine etkisi, bFGF üzerinden hücre proliferasyonu ve yeni damar oluşumu ile gerçekleşmektedir.

Çalışmamızda erken dönemdeki mekanik yüklenmelere karşı uyarılan tendonun direncini değerlendirebilmek için ölçütlerin onarım sonrası 10. ve 20. günlerde ölçülmesi tercih edildi. Ayrıca, ölçütlerin 20. günde henüz optimal seviyelere ulaşmamış olması silikon etkilerinin daha belirgin gözlenmesine imkan vermişti. Organik silikon, uygulandığı tendonlarda 10. günde anlamlı düzeyde daha iyi bir kopma kuvveti sağlamış ve literatürde tarif edilen normal tendon değerlerine yaklaşmıştı.^[25] Yirminci günde ise silikon uygulanan tendonların kopma kuvveti hala yüksek olmakla birlikte kontrol grubundaki tendonların kopma kuvvetlerinin yükselmesiyle iki grup arasındaki farkın azalmaya başladığı görüldü. Değerlerdeki bu yaklaşmanın ilerleyen iyileşme süreci ile birlikte kontrol grubu tendonlarında daha iyi mekanik sonuçların alınmaya başlamasına bağlı olduğu düşünülebilir. Diğer taraftan, çalışmamızda organik silikonun uygulamasının tendon sertliği üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisine rastlamadık. Tendon çapının artması ile kopma kuvvetinin de arttığı bilinmektedir.^[32,33] Görünüşe göre silikon uygulaması tendon çapını arttırarak tendonu daha kuvvetli bir hale getirmektedir (Şekil 6). Bununla birlikte, 10. ve 20. günlerde kopma kuvvetinin

artmasına rağmen tendonun mekanik özelliklerinin anlamlı ölçüde iyileşmekte olduğu yargısına varılamamıştır. İyileşme süreci boyunca tendonun kollajen kompozisyonundaki değişiklikler mekanik özelliklerini de değiştirebilmektedir.^[33,34] Farklı günlerde, kontrol grubu ile silikon grubu arasında alınan sonuçların birbirine yakın olduğu ve arasında anlamlı fark olmadığı düşünüldüğünde organik silikon uygulamasının tendon sertliği üzerine en azından olumsuz bir etkisinin olmadığı söylenebilir. Deney süresince tendonlarda gözlenen değişikliklerin tamamı ümit vericidir, ancak, yeni çalışmalarda silikon uygulamasının bu etkileri daha uzun sürelerde incelenmelidir.

Tendonlarda kesit yüzey alanı ölçümü halen tartışmalı olsa da, mekanik ölçümlerin detaylı ve tam olarak yapılabilmesi, incelenen tendonların malzeme özelliklerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Kollajen içeriğinin artması tendonun mekanik dayanıklılığının artmasına olanak veren bir faktördür. Geniş çaplı kollajen fibrilleri yüksek sayıdaki çapraz bağlantıları nedeniyle tendon biyomekaniğine olumlu etkide bulunabilirler. Elektron mikroskopisi ile fibril çapının ölçümü tendon fibril morfolojisinin değerlendirilmesinde değerli bir yöntemdir.^[33] Bu bilgiler ışığında, organik silikonun kollajen fibriller üzerine etkilerinin daha ileri çalışmalarda elektron mikroskopisi ile değerlendirilmesi gerektiğini düşünüyoruz.

Organik silikon bileşikler karsinogenik değildir, antijenik özellikleri çok azdır ve bakteri kolonizasyonu için uygun bir ortam hazırlamazlar. Bununla birlikte, farklı silikon bileşiklerinin farklı komplikasyon potansiyelleri mevcuttur. Lokal enflamatuar reaksiyon ve granülom oluşumu ise silikon enjeksiyonları sonrası karşılaşılan komplikasyonlardır.^[35] Biz, çalışmamızda granülom oluşumuna rastlamadık. Silikonun saflaştırılarak, mikro damla tekniği ile enjekte edilmesi ile bu komplikasyonları engelleyebilir.^[35]

Çalışmamızın bazı zayıf noktaları mevcuttur. Organik silikon bileşiklerinin iyileşme üzerine olumlu etkilerinin gösterilmesine rağmen, kesin mekanizma bilinmemektedir ve organik silikonun doku iyileşmesine etkisi üzerine çalışmalar sınırlıdır. Çalışmamızda tek bir organik silikon doz miktarı uygulanmıştır. Farklı doz miktarlarının tendon iyileşmesi üzerine etkisi ise net değildir ve uygulamanın uzun dönem etkileri bilinmemektedir. Tendonun düzensiz yapısı nedeniyle kesit yüzey alanı ölçümünün net olarak yapılamamış olmasından dolayı tendonun mekanik özelliklerini tanımlayan tipik ölçütler belirlenememiştir. Kollajen organizasyonunun değerlendirilmesine yönelik daha objektif yöntemlerle daha kesin sonuçlar elde edilebilir.

Sonuç olarak, çalışmamız literatürde organik silikon bileşiklerinin tendon dokusunun iyileşme yanıtı üzerindeki etkilerini inceleyen ilk çalışmadır. Silikonun bFGF üzerine etkileri literatürde *in vitro* olarak gösterilmekle birlikte, çalışmamız tendon dokusu üzerinde benzer etkileri *in vivo* olarak sunmaktadır. Organik silikon tendon iyileşme yanıtının uyarılması amacıyla yapılacak daha ileri deneysel çalışmalar için uygun bir maddedir. Onarım sürecindeki histolojik ve biyomekanik iyileşmenin organik silikon uygulaması ile erken dönemde görülen artmış bFGF üretimi, fibroblast proliferasyonu ve yeni damar oluşumuna bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Çıkar örtüşmesi: Çıkar örtüşmesi bulunmadığı belirtilmiştir.

Teşekkür: Yazarlar çalışmaya katkılarından dolayı Prof. Dr. Metin Türkmen, Prof. Dr. Mustafa Karahan ve Prof. Dr. Gülçin Başdemir'e teşekkür ederler.

Kaynaklar

- Ertem K, Elmali N, Kaygusuz MA, Inan M, Ayan I, Güner G, et al. The effect of continuous passive motion after repair of Achilles tendon ruptures: an experimental study in rabbits. [Article in Turkish] Acta Orthop Traumatol Turc 2002;36:141-6.
- Aspenberg P. Stimulation of tendon repair: mechanical loading, GDFs and platelets. A mini-review. Int Orthop 2007;31:783-9.
- Gabra N, Khayat A, Calabresi P, Khiat A [corrected to Khayat A]. Detection of elevated basic fibroblast growth factor during early hours of *in vitro* angiogenesis using a fast ELISA immunoassay. Biochem Biophys Res Commun 1994;205:1423-30.
- Virchenko O, Fahlgren A, Rundgren M, Aspenberg P. Early Achilles tendon healing in sheep. Arch Orthop Trauma Surg 2008;128:1001-6.
- Forslund C, Aspenberg P. Improved healing of transected rabbit Achilles tendon after a single injection of cartilage-derived morphogenetic protein-2. Am J Sports Med 2003;31:555-9.
- Hoffmann A, Gross G. Tendon and ligament engineering in the adult organism: mesenchymal stem cells and gene-therapeutic approaches. Int Orthop 2007;31:791-7.
- Halici M, Karaoglu S, Canoz O, Kabak S, Baktir A. Sodium hyaluronate regulating angiogenesis during Achilles tendon healing. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2004;12:562-7.
- Derelioğlu N, Noyan S, Sarisözen B, Gedikoğlu O. The effects of hyaluronic acid, vitamin A and E on tendon healing and adhesion formation. [Article in Turkish] Acta Orthop Traumatol Turc 1999;33:221-4.
- Hapa O, Cakıcı H, Kükner A, Aygün H, Sarkalan N, Bay-sal G. Effect of platelet-rich plasma on tendon-to-bone healing after rotator cuff repair in rats: an *in vivo* experimental study. Acta Orthop Traumatol Turc 2012;46:301-7.
- Esen E, Cila E, Ozoğul C, Taşçı AG, Sipahioğlu S, Gemalmaz HC, et al. The effect of low-molecular-weight heparin on rat tendon healing. [Article in Turkish] Acta Orthop Traumatol Turc 2009;43:54-61.
- Kuran FD, Pekedis M, Yıldız H, Aydın F, Eliyatkin N. Effect of hyperbaric oxygen treatment on tendon healing after Achilles tendon repair: an experimental study on rats. Acta Orthop Traumatol Turc 2012;46:293-300.
- Hott M, de Pollak C, Modrowski D, Marie PJ. Short-term effects of organic silicon on trabecular bone in mature ovariectomized rats. Calcif Tissue Int 1993;53:174-9.
- Jugdaohsingh R. Silicon and bone health. J Nutr Health Aging 2007;11:99-110.
- Jugdaohsingh R, Tucker KL, Qiao N, Cupples LA, Kiel DP, Powell JJ. Dietary silicon intake is positively associated with bone mineral density in men and premenopausal women of the Framingham Offspring cohort. J Bone Miner Res 2004;19:297-307.
- Calomme MR, Vanden Berghe DA. Supplementation of calves with stabilized orthosilicic acid. Effect on the Si, Ca, Mg, and P concentrations in serum and the collagen concentration in skin and cartilage. Biol Trace Elem Res 1997;56:153-65.
- Hanasono MM, Lum J, Carroll LA, Mikulec AA, Koch RJ. The effect of silicone gel on basic fibroblast growth factor levels in fibroblast cell culture. Arch Facial Plast Surg 2004;6:88-93.
- Nielsen FH. A novel silicon complex is as effective as sodium metasilicate in enhancing the collagen-induced inflammatory response of silicon-deprived rats. J Trace Elem Med Biol 2008;22:39-49.
- Reffitt DM, Ogston N, Jugdaohsingh R, Cheung HF, Evans BA, Thompson RP, et al. Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells *in vitro*. Bone 2003;32:127-35.
- Seaborn CD, Nielsen FH. Silicon deprivation decreases collagen formation in wounds and bone, and ornithine transaminase enzyme activity in liver. Biol Trace Elem Res 2002;89:251-61.
- Carlisle EM. Silicon: an essential element for the chick. Science 1972;178:619-21.
- Eisinger J, Clairet D. Effects of silicon, fluoride, etidronate and magnesium on bone mineral density: a retrospective study. Magnes Res 1993;6:247-9.
- Chan BP, Fu S, Qin L, Lee K, Rolf CG, Chan K. Effects of basic fibroblast growth factor (bFGF) on early stages of tendon healing: a rat patellar tendon model. Acta Orthop Scand 2000;71:513-8.
- Chan BP, Chan KM, Maffulli N, Webb S, Lee KK. Effect of basic fibroblast growth factor. An *in vitro* study of tendon healing. Clin Orthop Relat Res 1997;342:239-47.

24. Panossian V, Liu SH, Lane JM, Finerman GA. Fibroblast growth factor and epidermal growth factor receptors in ligament healing. *Clin Orthop Relat Res* 1997;342:173-80.
25. Otoshi K, Kikuchi S, Ohi G, Numazaki H, Sekiguchi M, Konno S. The process of tendon regeneration in an achilles tendon resection rat model as a model for hamstring regeneration after harvesting for anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy* 2011;27:218-27.
26. Sharma P, Maffulli N. Tendon injury and tendinopathy: healing and repair. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:187-202.
27. Gartner LP, Hiatt JL. *Color textbook of histology*. 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2001. p. 111-2.
28. Fenwick SA, Hazleman BL, Riley GP. The vasculature and its role in the damaged and healing tendon. *Arthritis Res* 2002;4:252-60.
29. Schwarz K, Milne DB. Growth-promoting effects of silicon in rats. *Nature* 1972;239:333-4.
30. Rico H, Gallego-Lago JL, Hernández ER, Villa LF, Sanchez-Atrio A, Seco C, et al. Effect of silicon supplement on osteopenia induced by ovariectomy in rats. *Calcif Tissue Int* 2000;66:53-5.
31. Miyashita H, Ochi M, Ikuta Y. Histological and biomechanical observations of the rabbit patellar tendon after removal of its central one-third. *Arch Orthop Trauma Surg* 1997;116:454-62.
32. Lin TW, Cardenas L, Soslowsky LJ. Biomechanics of tendon injury and repair. *J Biomech* 2004;37:865-77.
33. Heinemeier KM, Kjaer M. In vivo investigation of tendon responses to mechanical loading. *J Musculoskelet Neural Interact* 2011;11:115-23.
34. Virchenko O, Aspenberg P. How can one platelet injection after tendon injury lead to a stronger tendon after 4 weeks? Interplay between early regeneration and mechanical stimulation. *Acta Orthop* 2006;77:806-12.
35. Narins RS, Beer K. Liquid injectable silicone: a review of its history, immunology, technical considerations, complications, and potential. *Plast Reconstr Surg* 2006;118(3 Suppl):77S-84S.