

172013

T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

FLOROKİNOLONLARIN TENDON İYİLEŞMESİNE

ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

DR. TUĞCAN DEMİR

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. E. ERTUĞRUL ŞENER

ANKARA 2006

TEŞEKKÜR

Ortopedi ve Travmatoloji asistanlığım süresince bilgi ve becerilerimin her geçen gün atmasında, mesleğim ile ilgili olan veya olmayan tüm konularda kılavuzluklarına ihtiyaç duyduğumda bunu esirgemeyen, etik ve bilimsel açıdan örnek aldığım başta tez danışmanım Prof. Dr. E. Ertuğrul Şener olmak üzere değerli hocalarım Prof. Dr. Selçuk Bölükbaşı, Prof. Dr. Şahap Atik, Prof. Dr. Haluk Yetkin, Prof. Dr. Özcan Kaymak, Prof. Dr. Necdet Altun, Prof. Dr. Erdal Cila, Prof. Dr. Sacit Turanlı, Doç. Dr. Aykın Şimşek, Doç. Dr. Ulunay Kanatlı, Yard. Doç. Dr. Alpaslan Şenköylü, Uzm. Dr. Hakan Selek, Uzm. Dr. Hamza Özer' e;

Beş seneye yaklaşan asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım, başta Dr. Emre Aldinç, Dr. Murat Songür, Dr. Can Gemalmaz, Dr. Engin Çetin ve Dr. Onur Ünal olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma ve bana bu kliniğe ilk geldiğimden beri abilik yapan, başım sıkıştığında fikirlerinden yararlanabildiğim Uzm. Dr. Erdinç Esen ve Uzm. Dr. Ali Öztürk' e;

Tez çalışmam süresince bana çeşitli aşamalarda yardımcı olan Histoloji A.D başkanı Prof. Dr. Deniz Erdoğan, öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Gülnur Take, araştırma görevlisi Dr. Fulya Mendeş'e, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Metin Gürü, araştırma görevlisi Yüksel Akyüz ve başta Vet. Dr. Ceyda Diker olmak üzere tüm Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Laboratuvarı çalışanlarına;

Bu zor asistanlık sürecini sıkıntısız bir şekilde atlatmamda bana her türlü desteği sağlayan ailem Nesibe Demir, İsmahan Yancar, Adem Demir, Mehmet Yancar ve Mertcan Demir'e;

İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
GİRİŞ —————	1 – 2
GENEL BİLGİLER —————	3 – 18
MATERYAL-METOD —————	19 – 27
BULGULAR —————	28 – 39
TARTIŞMA —————	40 – 45
ÖZET —————	46 – 47
ÖZET (İNGİLİZCE) —————	48 – 49
KAYNAKLAR —————	50 – 60

GİRİŞ:

Tendonlar kasların oluşturdıkları kuvvetleri iskelet sistemine aktaran, kollajen lifleri, matriks materyalleri ve değişik tipte hücrelerden oluşan esnek dokulardır.

Tendinopatiler, klinikte oldukça sık rastlanan ve hem hastalar, hem de klinisyenler için rahatsız edici bir durum oluşturan sorunlardır. Bununla beraber tedavileri oldukça zordur ve zaman zaman tendon rüptürleri ile birlikte olabilirler ⁽⁶⁰⁾.

Son 20 yılda, önemli bir antibiyotik grubu olan florokinolonlara bağlı tendinopatiler artan oranda bildirilmektedir^(17,24,28,80). Bu nedenle araştırmalar, florokinolonların hangi patofizyolojik mekanizmayla tendinopati yaptıkları üzerine yoğunlaşmaktadır.

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar bu antibiyotik grubunun tendon üzerine birçok etkileri olduğunu göstermiştir. İnflamasyon bulguları olabilecek mononükleer hücre infiltrasyonu, sitokinlerde artış, bu sitokinlerin tetiklediği veya onlardan bağımsız olarak oluşan ekstrasellüler matriks üzerine etkili metalloproteinazlarda dengesizlik ve direkt tenositlerin ve fibroblastların üzerine toksik etki göstererek, bu hücrelerin proliferasyonu ve kollajen sentezi üzerine negatif etkileri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir^(6,23,56,64,65,86,87). Bununla birlikte, bu patofizyolojik veya kimyasal olaylardan hangisinin gerçekten tendinopatiye neden olduğu tam olarak anlaşılamamıştır.

Tendon iyileşmesi üç evreden oluşmaktadır. Sırasıyla inflamasyon, proliferasyon ve remodelizasyon evreleri. Florokinolonların, daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında, bu evrelerin her birine etki edebilecek patofizyolojik mekanizmaların tetiklenmesine neden olduğu görülmektedir. Günümüzde pek üzerinde durulmayan inflamatuvar etkileri, inflamasyon fazını güçlendirerek tendon iyileşmesini olumlu yönde etkileyebilir. Bununla birlikte, tenotoksik ve matriks proteinleri üzerine etkileri, proliferasyon evresini inibe ederek tendon iyileşmesini olumsuz yönde etkileyebilir.

Bu çalışmada, rat aşıl tendonlarına cerrahi kesi uygulandıktan sonra, florokinolonların, iyileşmenin değişik evrelerine olan etkileri histolojik ve biyomekanik yönden incelenmiştir.

Sağlam tendonlar üzerine kinolonların etkisi konusunda literatürde birçok çalışma yayınlanmış olmasına rağmen, yaralı tendonlar üzerinde kinolonların etkisi konusunda herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada amaçlanan florokinolonların tendon iyileşmesi üzerine olan etkisini inceleyerek buradan tendinopati yapıcı etkilerinin hangi mekanizma üzerinden olabileceğini araştırmaktır.



GENEL BİLGİLER

Tendon yapısı

Tendonlar, ekstrasellüler matriks içine yerleştirilmiş, paralel kollajen liflerinden oluşan yumuşak bağ dokularıdır. Bu organize yapıları sayesinde, tendonlar, kemik ve yumuşak doku arasındaki yüksek güçlere dayanırlar ve bu güçleri iletirler.

Tendonlar, kas ve kemik arasında muskulotendinöz bir ünite oluşturarak, kasların oluşturduğu gerilme kuvvetlerini kemiğe aktarırlar ve eklemlerin hareket etmesini sağladıkları gibi aynı zamanda bu eklemlerin stabilizasyonuna da katkıda bulunurlar. Normal yükler altında, eklem hareket sınırları boyunca yumuşak fizyolojik bir mekaniğe sahiptirler. Daha büyük kuvvetlere maruz kaldıklarında ise tendonlar, eklemlerin anatomik yapının dışına çıkmasını engelleyerek yaralanmalarını engeller.

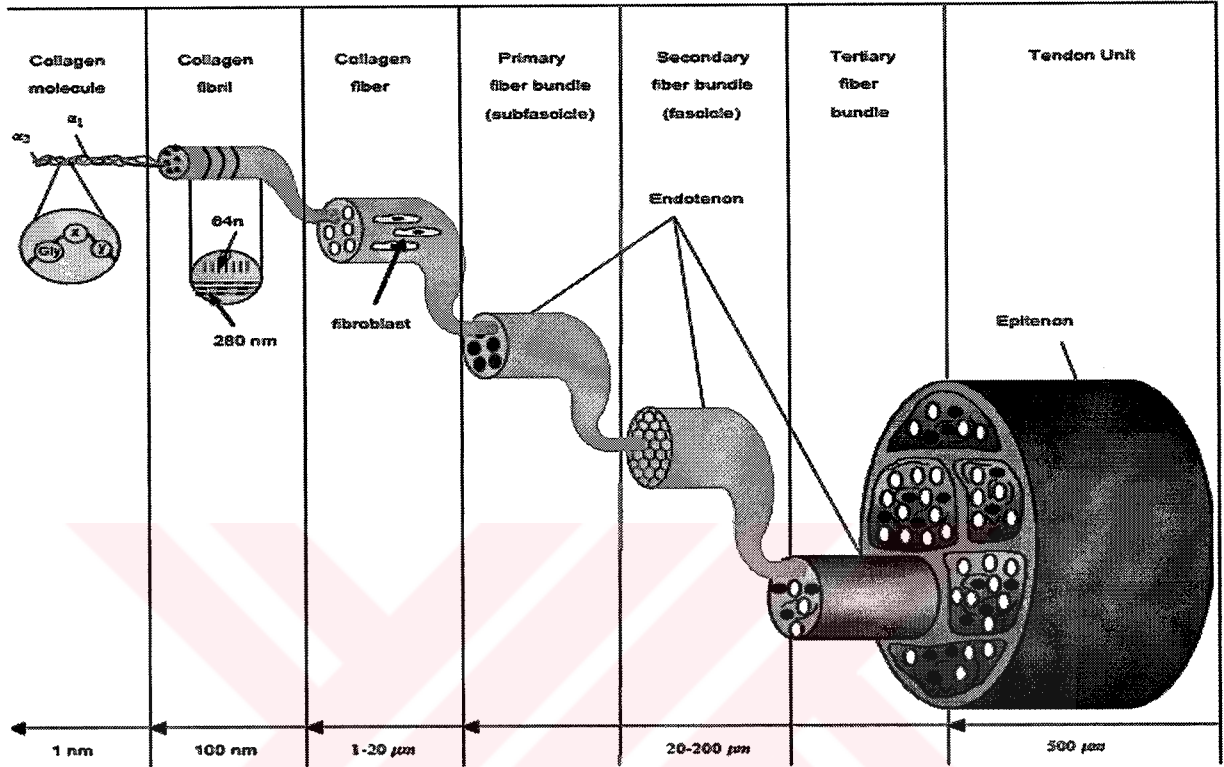
Sağlıklı tendonlar beyaz renklidir ve fibroelastik bir yapıları vardır. Şekil olarak çok farklılıklar gösterirler; yuvarlak, yassı vb. Ekstrasellüler matriks iskeleti içerisinde tenoblastlar ve tenositler tendonların hücresel içeriğinin % 90 – 95' ini oluştururlar. Tenoblastlar olgunlaşmamış tendon hücreleridir^(10,21,66). 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. 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^(34,66,82). Tenositler, aerobik Krebs siklusu, anaerobik glikoliz ve pentoz fosfat yolu ile enerjilerini sağlarlar ve kollajen ile ekstrasellüler matriks yapısının içeriğinin senteziyle görevlidirler⁽⁴⁹⁾.

Yaşlanma ile beraber, tenositlerin enerji sağlama yolları aerobikten anaerobik yollara kayar⁽²⁰⁾.

Tendon ve bağların oksijen tüketimi, iskelet kaslarının oksijen tüketiminden yaklaşık 7,5 kat daha azdır. Düşük metabolik aktivite ve gelişmiş anaerobik enerji üretim mekanizmaları olması tendonların iskemi ve nekroz riski olmaksızın, büyük gerilme kuvvetlerini taşımaları ve uzun süreli gerilmelere dayanmaları için son derece önemlidir⁽⁶⁶⁾. Fakat bu düşük metabolik aktivitenin elbette bir dezavantajı bulunmaktadır. Düşük metabolik aktivite, tendonların yaralanma sonrası iyileşmelerinin, diğer yumuşak dokulara göre daha yavaş olmasına sebep olmaktadır⁽⁸⁷⁾.

İnsan tendonlarının toplam ağırlığının % 70' ini su oluşturur⁽²⁶⁾. Kalan % 30' luk kuru tendon ağırlığının % 65 – 80' ini kollajen, % 2' si elastin ve % 2 – 5' i de glikoproteinden oluşur. Kollajenin % 90' ı tip 1 kalan % 10' u ise tip 3 kollajendir. Tenoblastlar ve tenositler kollajen liflerinin arasında uzun eksene paralel olarak sıkışık biçimde yerleşirler^(10,21,34,66,82).

Kollajen kompleksliği artan hiyerarşik aşamalar halinde düzenlenmiştir. Bu hiyerarşik yapının en küçük birimi üçlü sarmal polipeptid zincir olan tropokollajendir. Bu tropokollajen molekülleri, aralarında çapraz bağlar meydana getirerek çözünemeyen kollajen moleküllerini oluştururlar ki, bu moleküllerde biraraya gelerek kollajen lifçiklerini (fibril) oluştururlar. Fibriller de biraraya gelerek lifleri (fiber), diğer adıyla birincil demetleri meydana getirirler. Kollajen lifleri mekanik olarak test edilebilen ve ışık mikroskobunda gözlenebilen en küçük tendon birimidir. Kollajen lifleri genelde uzunlamasına yerleşseler de horizontal ve enlemesine de yerleşerek sarmallar ve örgüler oluşturabilirler. Kollajen liflerinin biraraya gelmesi fasikülleri (ikincil demetler), fasiküllerde üçüncül demetleri oluştururlar^(34,66,82) (Resim – 1).



Resim – 1

Kollajen ve tenositleri çevreleyen ekstrasellüler matriks yapısının ana maddeleri proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar, glikoproteinlerdir ve bunlara ek olarak diğer bazı küçük moleküller bulunmaktadır. Proteoglikanlar güçlü hidrofiliktirler ve suda çözünebilen moleküllerin difüzyonuna ve hücre göçünde rol oynarlar. Fibronektin ve trombospodin gibi adheziv glikoproteinler, hücre tamiri ve rejenerasyon işlemlerine katkı yaparlar. Tendon ekstrasellüler matriksinde önemli bir madde olan ve tendon gövdesi, kas - tendon ve kas – kemik bileşkesinde bolca bulunan Tenascin – C ise elastik protein olarak görev yapar. Yapımı mekanik gerilme ile düzenlenir ve tendinopatilerde arttığı belirtilmektedir. Tenascin – C’ nin kollajen liflerinin düzenlenmesinde rolü olduğu düşünülmektedir (38,57,66).

Epitenon tüm tendonu çevreleyen ve üçüncül demetlerden birincil demetlere kadar endotenon olarak uzanan ve üzerinde tendonun damarsal, lenfatik ve sinir yapılarını barındıran gevşek bir bağ dokusudur^(10,34,66). Endotenon ise kollajen liflerini saran ince gevşek bir bağ dokusudur ve bu liflerinin birbiri üzerinde kaymasına olanak verir. Epitenon yüzeysel olarak paratenon ile çevrenmiştir. Paratenon tip 1 ve 3 kollajen, bazı elastik lifler ve iç yüzeyi sinoviyal hücreler tarafından döşenmiş gevşek bir bağ dokusudur. El ve ayak gibi mekanik stresin fazla olduğu ve etkin bir lubrikasyona ihtiyaç duyulan bölgelerde tendonları çevreleyen sinoviyal bir kılıf bulunur^(34,66,82). Sinoviyal kılıflar, iç sinoviyal ve dış fibrotik olmak üzere 2 kattan oluşur. İç sinoviyal 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⁽⁶⁶⁾.

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 membranlarıyla geniş temas alanı sağlarlar ve kas hücrelerinin hücre içi kontraktil proteinlerinin oluşturduğu gerilme stresini distale iletirler. Bu kompleks yapılanma, kas kasılması sırasında tendona yüklenen gerilme kuvvetinin azalmasını sağlar. Bununla birlikte miyotendinöz bileşke bölgesi kas - tendon yapısının en zayıf bölgesidir^(10,48,66).

Kemik – tendon birleşkesi dört bölgeye ayrılır. Bu geçiş bölgesi 1 mm' lik bir mesafede olur. Bu dört bölge:

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

4-) Kemik

Tendon – kemik bileşkesinde keskin sınır, ikinci ve üçüncü tabakalar arasındadır. Bu bölge çimento çizgisi (cement line veya tidemark) olarak bilinir ve avülsiyon kırıkları bu noktadan gerçekleşir^(10,48,66).

Tendon kanlanması:

Tendonlar, beslenmelerini sağlayan kan akımlarını üç ana kaynaktan sağlarlar^(30,66):

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

Bu kaynaklardan ilk ikisi intrinsik beslenme sistemini, üçüncüsü ise ekstrinsik beslenme sistemini oluştururlar. Beslenmek için kullanılan ana kaynak genelde ekstrinsik sistemden gelirken tendonlar arasında farklılık gösterebilir. Örneğin tavşan aşıl tendonları üzerine yapılan çalışmada tendon gövdesinin orta 1/3' ünün kanlanmasının sadece % 35' ini ekstrensek sistemden sağladığı gösterilmiştir^(31,66).

Tendonun damarlanması torsiyona, sürtünmeye ve basıya maruz kaldığı yerlerde artış gösterir. Yapılan anjiyografik çalışmalarda, tendonun kalkaneusa yapışma yerinden 2-7 santimetre (cm) proksimalinde bir avasküler bölge olduğu gösterilmiştir. Yaşlanmayla ve mekanik yüklenmeyle beraber tendon damarlanması azalır.

Tendon inervasyonu:

Tendon inervasyonunu kutanöz, musküler ve peritendinöz sinir köklerinden alırlar. Sinir lifleri kas – tendon bileşkesinden geçerek paratenona endotenon girerler. Paratenon üzerinde zengin sinir yumakları oluştururlar ve dalları epitenona geçerler. Sinir dallarının çoğu esas tendon gövdesine çoğu zaman geçmezler ve tendon yüzeyinde sinir uçları

olarak sonlanırlar. Miyelinli sinir uçları, mekanoreseptörler olarak işlev görürler, tendon yapışma noktalarında yoğunlaşmışlardır. Basınç ve gerilme hislerini iletirler. Miyelinsiz sinir uçları ise nosiseptörler olarak işlev görürler ve duyu ve ağrı hislerinin algılanmasına katkıda bulunurlar^(33,34,66).

Tendon biyomekaniği:

Kollajen liferinin mekanik özellikleri intramoleküler ve intermoleküler bağların sayısı ve çeşitleri ile doğrudan orantılıdır. İstirahat halindeyken kollajen lifleri kıvrıcıklaşmış halde bulunurlar. Tendon gerildikçe önce bu kıvrıcıklık düzelir. Daha sonra intramoleküler kollajen yapısının longitudinal olarak kayması sonucu lifler daha paralel hale gelir.

Tendonların gerilim kuvvetleri kalınlıklarına ve kollajen içerikleri ile doğru orantılıdır. Tendonlar cm² ye 500 – 1000 kg kuvvete karşı koyabilirler⁽⁴⁶⁾. Zıplama ve ağırlık kaldırma ağır sporlar sırasında tendonlara aşırı yük biner. Koşu sırasında insan aşıl tendonunun üzerine, 9 kilonewton (kN), yani vücut ağırlığının 12,5 katı yük bindiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir⁽²⁷⁾. Tendonların kopma olasılıkları kuvvet oblik ve hızlı bir şekilde uygulandığı ve kuvvet ekzantrik kas kasılması sırasında uygulandığında en yüksektir⁽⁶⁶⁾.

Tendon yaralanması:

Aşıl tendon rüptürlerinin % 90' nından fazlasının, akselerasyon-deselerasyon mekanizmasıyla ilişkili olduğu belirtilmektedir⁽⁷⁰⁾. Normal koruyucu mekanizmanın çalışmasında meydana gelen bir hatanın da rüptürlere neden olabileceği söylenmektedir. Bununla birlikte, aşıl tendon rüptürlerinin etyolojisi halen açıklığa kavuşmamıştır. Spontan tendon rüptürlerinde en çok rastlanan histolojik bulgu dejenerasyondur. Arner ve ark aşıl

tendon rüptürü olan 74 hastanın hepsinde rüptür öncesi intrinsik mekanizmalardaki bozukluklar nedeniyle dejenerasyon görüldüğünü bildirmişlerdir⁽⁶⁶⁾. Kanus ise spontan aşıl tendonu rüptürü olan hastalarının % 97' sinde dejenerasyon tespit etmiş ve buna karşın kontrol grubu olarak aldıkları sağlam tendonların sadece % 33' ünde dejenerasyon olduğunu bildirmişlerdir⁽²⁰⁾. Dejenerasyon muhtemelen tendon gerilim gücünü azaltmakta ve tendon rüptürlerine zemin hazırlamaktadır⁽⁶⁶⁾.

Tendon İyileşmesi:

Tendon yaralanması gerçekleştiği zaman, vücut derhal bir iyileşme ve skar oluşum süreci başlatır. Bu iyileşme süreci birbiri üzerine binen üç ana safhadan oluşur. Bu fazların süreleri, yaralanmanın şiddeti ve lokalizasyonuna bağlı olarak farklılıklar gösterebilir^(34,66,82).

1-) İnflamatuvar faz: Tendon iyileşmesinin başlangıç fazıdır ve yaralanma sonrası anında başlar. Tendonu saran damarların zarar görmesi sonucu eritrositler, yangısal hücreler ve özellikle nötrofiller yaralanma bölgesinde boy gösterir. İlk 24 saatte makrofajlar ve monositler baskın yangısal hücrelerdir ve nekrotik meteryalin fagositozu ile yaralanma bölgesinden uzaklaştırılmasını sağlarlar. Kemotaktik ve vazoaktif ajanların salınmasıyla vasküler permeabilite artar, angiogenez başlar ve bölgeye tenositler akın eder^(16,42). Tenositlerin gelişile kollajen tip 3 başta olmak üzere fibronektin ve glikozaminoglikan gibi ekstrasellüler matriksi stabilize eden moleküllerin sentezi artar⁽⁴⁸⁾. Bu fazın şiddetinin azalması iyileşmeyi etkileyebilir⁽³⁵⁾.

2-) Çoğalma (proliferasyon) fazı: Yangısal fazın başlamasından birkaç gün sonra çoğalma fazı başlar. Bu fazda yaralanma bölgesinde granülasyon dokusunun organize olmayan bir matriksi mevcuttur. Histolojik olarak temel hücre tipleri fibroblastlardır. Tip

3 kollajen sentezi bu safhada maksimum düzeye ulaşır. Aynı zamanda su ve glikozaminoglikan sentezide bu süreçte devam eder^(34,47,66).

3-) Remodelizasyon: Yaralanmadan yaklaşık 6 hafta sonra hücrelerin, kollajen ve glikozaminoglikan sentezinin azalmasıyla remodelizasyon fazı başlar. Bu faz 2 evreye ayrılabilir; konsolidasyon evresi ve olgunlaşma (matürasyon) evresi⁽⁷⁶⁾. Konsolidasyon evresi 6. haftada başlayarak 10. haftaya kadar sürebilir. Bu dönemde iyileşme dokusu hücresel yapıdan fibröz bir yapıya dönüşür. Tenosit metabolizması bu evrede halen yüksektir ve kollajenlerle beraber stres doğrultusunda bir dizilim göstermeye başlarlar. Konsolidasyon evresinde artan oranda tip 1 kollajen sentezi olur. 10. haftadan sonra olgunlaşma evresi başlar ve tendon bir sene içerisinde fibröz dokudan, tendon benzeri skar dokusuna dönüşür. Bu evrenin sonraki aşamalarında, tendon tenosit metabolizması ve vaskülaritesi azalır^(2,34,66).

İçsel (intrinsik) ve Dışsal (ekstrinsik) iyileşme:

Tendon; epitenon ve endotenon tenositlerinin çoğalması sonucu, yani içsel olarak iyileşebildiği gibi çevre tendon kılıfı ve sinoviyal dokulardan hücre göçü ile dışsal olarak da iyileşebilir. Bu iki mekanizmanın doğruluğu ve yanlışlığı hakkında literatürde birçok yayın mevcuttur . İçsel mekanizmayı ortaya koyanlar, tendon iyileşmesinin epitenon ve endotenon hücrelerinin çoğalmasıyla gerçekleştiğini ve vasküler veya hücresel desteğe ihtiyaç duymadığını belirtmişlerdir⁽³⁷⁾. Dışsal mekanizmayı savunanlar ise, tendonun kendisinin iyileşme dokusunu oluşturmak için yeterli bir potansiyele sahip olmadığını ve tendon kılıfından ve sinoviyal dokudan hücre adezyonuna ve ekstratendinöz kan akımına ihtiyaç duyduğunu belirtmektedirler⁽⁶⁶⁾.

Her iki teori için inandırıcı çalışmalar olsa da herhangi birisi için kesin kanıt yoktur. Bunun yerine her iki mekanizmanın da yaralanmanın lokalizasyonu, mobilizasyonu ve

travmanın şekline bağlı olarak baskın olabileceği veya ortak çalışabilecekler belirtilmektedir. Örneğin rotator kılıf yaralanmalarında ekstrinsik mekanizmanın etkin iyileştirme mekanizması olarak rol aldığı bildirilmektedir⁽⁷⁹⁾.

Hücresel ve Ekstrasellüler matriks cevabı:

Daha önce de tanımlanmış olduğu gibi, tendon tamir süreci, ekstrasellüler matriks (ESM) bileşenlerinin sentezleri, migrasyon ve parçalanmalarını içeren fizyolojik olayların karmaşık ve özenle düzenlenmiş bir serisidir. Travma sonrasında, ESM parçalanması tendon iyileşmesi için şarttır çünkü parçalanma ürünleri, fibroblastlar, lökositler ve endotel hücreleri için kemotaktik sinyaller sağlayarak, sitokinler için bir rezervuar görevi görür^(32,34).

Bir cilt ya da kas dokusundaki yaralanmada, hücrelerin ve ESM proteinlerinin daha aktif hale gelmesindeki benzerliğe rağmen, tendonlar iyileşmek için daha farklı bir yol izler. Bunun nedeni, tendonun intrinsek özellikleri, beslenmesi, yerleşim yeri ve çevresi gibi dış faktörlerdir^(1,67). Diğer yumuşak dokulardan farklı olarak, tendon iyileşmesini olumsuz etkileyen enfeksiyon, kronik dejeneratif olaylar, vasküler problemlerden dolayı doku hipoksisi ve yetersiz beslenme gibi birçok lokal faktör vardır. Ayrıca, uzun süren immobilizasyon gibi dış faktörlerin neden olduğu yetersiz bir iyileşme ortamı bulunmaktadır^(43,88).

Sonuç olarak, kollajen fibrillerin sürekliliğinin yeniden sağlanması ve tendonun kaygan yüzeyinin tekrar oluşturulması çoğu zaman zordur. Bu iki koşulun birden gerçekleşmesi her zaman mümkün olmaz. Bu durumda, yapışıklıklar iyileşmeye katkıda bulunabilir, aşırı skar oluşumu tendon kayganlığını sınırlayabilir. Ancak, yetersiz skar oluşumu da yaralanma bölgesinde yeniden rüptüre yol açabilir. Bu nedenle, fonksiyonel

olarak iyileşmiş bir tendon elde edebilmek için, birçok faktörün bileşimi eş zamanlı olarak dengelenmelidir ⁽³⁴⁾.

Matriks metalloproteinazlar (MMP) ekstrasellüler matriks yapısının önemli düzenleyicileridir ve tendon iyileşmesinde de rol alırlar ^(45,72,81). Yapılan çalışmalar MMP-9 ve MMP-13 ekspresyonunun tendon iyileşmesini 7. - 14. günleri arasında tepe noktasına ulaştığını gösterirken MMP-2 ve MMP-3 ve MMP-14 seviyelerindeki yükselmenin yaralanmadan hemen sonra başlayıp 28. güne kadar devam ettiğini göstermiştir ⁽⁵⁰⁾. Ayrıca bu sonuçlar, MMP-9 ve MMP-13' ün sadece kollajen degradasyonuna katkıda bulunduğunu gösterirken, MMP-2, MMP-3 ve MMP-14' ün hem kollajen degradasyonuna katkıda bulunduğunu hem de kollajen remodalizasyonunu sağladıklarını göstermiştir.

Yaralanma ve ardından gelen yangısal faz ayrıca trombositlerden sitokinlerin ve bazı büyüme faktörlerinin salınımına neden olur. Bu büyüme faktörleri ve sitokinler daha önce de belirtildiği gibi fibroblastların ve tenositlerin kemotaksisini ve neovaskülarizasyonunu sağlar. Tendon iyileşmesinde etkili olduğu kesinlikle kanıtlanmış 5 büyüme faktörü (GF) vardır; IGF-I, platelet-derived growth factor (PDGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF) ve transforming growth factor beta (TGF- β) ⁽⁴⁰⁾.

Tendon iyileşmesinin belirli aşamalarında rol oynadığı belirtilen yeni popülerize olmaya başlayan bir madde de nitrik oksittir (NO). NO kısa ömürlü bir radikaldir ve birçok biyolojik fonksiyonu olduğu bildirilmektedir. Bakterisidal etkisinin yanı sıra yangısal hücrelerin apoptozisine, anjiogeneze ve vazodilatasyona neden olduğu bildirilmektedir ^(55,92). L – arjininden NO sentezlenmesini sağlayan NO sentaz enziminin, tendon yaralanmasından sonra 7. günde maksimuma ulaştığı ve 14. günde normal

seviyelere döndüğü bildirilmektedir⁽⁴⁴⁾. NO sentaz enziminin inhibe edilmesi sonucu, fare aşillerinde, iyileşmenin ve yüke dayanıklılığın azaldığı belirtilmektedir⁽⁴⁴⁾.

Tendon iyileşmesinde remodelizasyon olmasına rağmen iyileşen tendon biyokimyasal ve biyomekanik açıdan hiçbir zaman normal tendonun özelliklerine ulaşamaz^(14,15).

Tendinopati:

Tendinopati genel olarak tendon çevresinde inflamatuvar olmayan hastalıkları ifade etmektedir. İnflamasyon ile beraber olan hastalıklar tanımlanırken ise “tendinosis” veya “tendinitis” terimleri kullanılmaktadır. Bununla beraber bu ayrımın yapılması için genellikle histopatolojik değerlendirmeler gerektirdiği için tendonda meydana gelen hastalıkların etyolojisi histopatolojik olarak kanıtlanana kadar genel terim olarak “tendinopati” terimi kullanılmasının uygun olduğu belirtilmektedir^(25,66,83).

Tendinopati oluşturan mekanizmalar halen tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Bu konuda öne sürülen birçok mekanizma vardır⁽⁶⁶⁾. İskemi sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri, hipoksi, aşırı kullanım sırasında ortaya çıkan ısı, artmış tenosit apoptozisi, artmış sitokinler ve inflamatuvar prostoglandinler, bozulan metalloproteinaz dengesi öne sürülen başlıca hipotezlerdir^(5,7,8,9,58,69,73,74,83,84,85). Bununla birlikte yukarıda sayılan hipotezlerin hiçbirinin tek başına etkin olmadığı ve birbiriyle bağlantılı karmaşık mekanizmalar sonucu tendinopati tablosunun ortaya çıktığı düşünülmektedir.

FLOROKİNOLONLAR

Kinolon grubu antibiyotiklerin ana hedefi, bakterilerde bulunan DNA topoizomerez II enzimidir. Bu enzim, insanda bulunan DNA topoizomerez I enzimi ile çok az homolog özellikler gösterdiğinden, insan hücrelerine bir zarar vermediği düşünülmektedir.

Florokinolon grubu antibiyotikler, yüksek gastrointestinal emilimleri, doku dağılımları ve yarı ömürleri nedeniyle geniş kullanım endikasyonlarına sahiptirler. Üriner enfeksiyonların yanı sıra bronkopulmoner, intestinal ve kas iskelet enfeksiyonlarında da kullanım alanları vardır.

Kinolonların kökeni, klorokinin antimalaryal bir ilaç olarak kullanılmasına dayanmaktadır. Klorokinin yapısından ayrıştırılan bir maddenin antibakteriyel etkinliği olduğu gözlenmiş ve üzerindeki çalışmalar bitirilerek, ilk kinolon olarak, “Nalidiksik Asit” adıyla 1962 yılında piyasaya sürülmüştür. Nalidiksik asidin çok düşük serum seviyeleri ve sadece orta düzeyde bir gram (-) etkinliği olmasından dolayı çok uygun bir ilaç olmadığı anlaşılmış ve kinolonlar üzerindeki çalışmalar devam etmiştir. Bununla birlikte, nalidiksik asidin 4-oxo-1,8-naphthyridin-3-carboxylic asit çekirdeği, daha sonra geliştirilen kinolonların temeli olarak kalmıştır. Bu yapının 7. pozisyonuna piperazinyll eklenerek pipedemik asit elde edilmiş ve gram (-) etkinlik artırılmıştır. Ayrıca bu piperazin halkası, bakterilerin hücre duvarının geçilmesini sağlamış ve bir miktar gram (+) etkinlik kazandırmıştır. Floro – grubunun ilk oluşturulması 1973 yılında 6. pozisyona eklenmesiyle flumequinin piyasaya sürülmesi ile olmuştur⁽³⁾.

Florokinolonların gelişiminde esas atılım, 7. pozisyondaki piperazin halkası ile 6. pozisyondaki floro – grubunun biraraya getirilmesi ile olmuştur. Norfloksasinin 1978 yılında bu şekilde piyasaya çıkmasından sonra florokinolonlarda hızlı bir gelişme olmuş ve 3 yıl içerisinde bugünde halen etkin olarak kullanılan florokinolonlar üretilmiştir; Pefloksasin (1979), Enoksasin (1980), Fleroksasin (1981), Siprofloksasin (1981), Ofloksasin (1982)⁽³⁾. Bununla beraber, aynı zamanda bu tezin çıkış kaynağı olan tendinopati vakaları, sadece bu ikinci kuşak kinolonlar olarak bahsedilen florokinolonlarla

görülmektedir⁽²²⁾. Ayrıca tendon toksisitesinin 7. pozisyondaki piperazin halkasının özelliğine bağlı olduğu da söylenmektedir⁽²²⁾.

Florokinolonların Tendon Biyolojisine Etkileri:

Florokinolonlar, geniş kullanım alanlarına karşın, oldukça nadir görülen yan etkilere sahiptirler. Artralji, artrit ve miyalji gibi romatolojik yan etkileri olabilir^(18,71). Bu yan etkilerden daha önemlisi literatürde çok sayıda rapor edilen ve sayıları gittikçe artan tendinopati ve tendon rüptürleridir. En çok etkilenen anatomik oluşumlar aşıl, patellar, kuadriseps tendonları ve rotator manşettir. Literatüre bakıldığında ortalama 59 yaşında, erkek cinsiyet ve beraberinde steroid kullanımının florokinolonlara bağlı aşıl tendon rüptürü için risk faktörü olduğu görülmektedir. En çok suçlanan ilaçlar pefloksasin ve siprofloksasindir. Böbrek nakli, böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, hiperparatiroidizm, romatizmal hastalıklar ve gut hastalığı diğer suçlanan predispozan etkenlerdir^(24,36,39,80,91).

Florokinolonlara bağlı tendinopati vakaları, tendon çevresinde ani başlayan tek veya çift taraflı ağrı, lokal ödem ve hareket zorluğu ile karakterizedir⁽⁶⁰⁾. Tendinit çok az gerilme kuvvetleri nedeniyle tendon kopması ile sonuçlanabilir. Aşıl tendonu çok yük alan bir bölgede olduğu için özellikle risk altındadır⁽⁵⁴⁾.

Florokinolonların tendinopati ve tendon rüptürüne neden oldukları literatürdeki yerini sağlam bir şekilde almış olmasına rağmen, bu durumlara neden olan hücresel olaylar ve ilişkiler henüz tam olarak açıklanamamıştır. Yapılan çalışmalar, florokinolonların memeli tendonları üzerine olumsuz etkileri konusunda birçok noktaya temas etmektedir. Paratenonda inflamasyon, tendon hücrelerinde dejenerasyon, inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda artma ve azalmalar, bazı ekstrasellüler matriks

proteinlerinin ekspresyonunda, mitokondriyal aktivitede, tenosit ve fibroblastların proliferasyonunda azalma öne sürülen bazı mekanizmalardır^(6,23,56,62,63,64,65,68,86,89).

Yukarıda belirtilen birçok mekanizmaya rağmen, halen florokinolonların tendon üzerine olumsuz etkilerini inflamatuvar bir mekanizmayla mı, yoksa non – inflamatuvar bir mekanizmayla direkt tenositler üzerinden veya bir oksidatif stres benzeri durum oluşturarak mı gösterdikleri konusu, henüz açıklığa kavuşmuş değildir. Bir diğer önemli hipotez de metalloproteinazların sentezlenmesinde meydana gelen dengesizliklerin tendinopatiye neden olabileceği şeklindedir^(12,61). Bütün bu mekanizmaları destekleyen yayınlar literatürde oldukça fazladır.

Kato ve arkadaşları, juvenil ratlarda, tek doz florokinolon kullanımı sonrası, aşıl tendonun kılıfının iç tarafında yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu tespit etmişlerdir. İki haftalık tekrarlayan dozlar sonrası, bu lezyonların, fibroblastların rejenerasyonu sonucu fibröz bir doku ile iyileştiklerini bildirmişlerdir⁽²³⁾. Ayrıca florokinolona bağlı tendinopatilerin biyopsi örneklerinde, aşırı kullanıma bağlı tendinopatilerdekine benzer bir inflamatuvar görüntü olduğu bildirilmiştir⁽⁴¹⁾. Ratlarda florokinolona bağlı tendinopatilerin histolojik olarak ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu ve genişlemiş kan damarları ile karakterize olduğu bildirilmektedir⁽²³⁾.

Aynı zamanda aşırı kullanıma bağlı tendinopatilerin oluşum mekanizmasında rolü olduğu bildirilen sitokinlerin, florokinolonlar tarafından aktive edilebildikleri görülmektedir. Siklik olarak gerilme kuvveti yüklenen insan patellar tenositlerinin PGE₂ sentezinde artış olduğu ve PGE₂' nin de insan fleksör tendonlarında IL1 gen ekspresyonunu arttırdığı belirtilmektedir^(69,77,84). IL1 – β ' da MMP-1, MMP-3 ve PGE₂' nin haberci RNA' sının (mRNA) üretimini arttırmaktadır^(4,78). Böylece aşırı kullanım ile

siklik olarak yüklenen tendonun, bu sitokinler ve sitokinler ile aktiviteleri artan metalloproteinazlar nedeniyle bozukluklar gösterebileceği bildirilmektedir.

Florokinolonlar, insan monositlerinden PGE₂ üretimini arttırırlar⁽⁷⁵⁾. Bununla birlikte, insan tendon fibroblastlarından IL1 β 'nın tetiklediği PGE₂ üretiminin florokinolonlar nedeniyle azaldığı da söylenmektedir. Buna karşın, ister PGE₂ üzerinden olsun, ister direkt etkiyle olsun, florokinolonlar MMP-3 ve MMP-1 sentezini arttırırlar ve aşırı kullanım tendinopatisine benzer bir dengesizlik oluşturlar^(11,12,13).

Nitrik oksit (NO), özellikle son yıllarda üzerinde çalışılan ve her türlü iyileşme mekanizmasında rolü olduğu belirtilen önemli bir moleküldür. Florokinolonlara bağlı tendinopatilerde, daha önce bahsedildiği gibi, histolojik olarak gözlenen damar dilatasyonları ve ödemin NO etkilerine bağlı olabileceği söylenmektedir. Ayrıca florokinolonlarla beraber, bir NO sentaz inhibitörü olan, N – nitro – L – arjinin metil ester (L - NAME) uygulandığında, florokinolonlara bağlı bu değişikliklerin görülmemesi, florokinolona bağlı tendinopatinin patofizyolojisinde NO' nun etkili olabileceğini göstermiştir. NO' nun tek başına damar dilatasyonuna neden olmaz, fakat PGE₂, PGI₂, lökotrienler ve IL1 gibi mediyatörler ile birlikte florokinolon tendinopatisinde etkili olabilir⁽²²⁾. Adı geçen mediyatörlerin hepsinin bir şekilde florokinolonlarla bağlantısı saptanmıştır.

Florokinolonların, reaktif oksijen ürünlerini (ROÜ) arttırdıkları belirtilmektedir. Artan ROÜ' ünün, metalloproteinazları aktive ederek tendinopatiye neden olabilecekleri, öne sürülen diğer bir mekanizmadır⁽⁵³⁾.

Florokinolonların tendon üzerindeki direkt toksik etkisi de yapılan in vitro çalışmalar ile gösterilmiştir^(6,53,63,86). Florokinolonların fizyolojik ve suprafizyolojik dozlarının hücre proliferasyonunu ve matriks sentezini azalttığı gösterilmiştir⁽⁸⁶⁾. Aynı

zamanda, matriks degradasyonunu arttırdıklarına dair kanıtlar vardır. Tendon fibroblastlarının tendonun makroskopik ve mikroskopik hasarına hücre proliferasyonu, hücre göçü ve matriks senteziyle cevap verdikleri düşünüldüğünde, bu fonksiyonların kinolonlar tarafından etkilenmesi, tendinopatilerin gelişme mekanizmalarından biri olabilir ⁽⁸⁶⁾.

Görüldüğü gibi birçok hipotez öne sürülmüş olmasına rağmen hangi mekanizmanın gerçekten etkin olduğu bilinmemektedir. Bu çalışmada değişik bir bakış açısıyla tendon iyileşmesi üzerine florokinolonların etkisi araştırılmış ve yukarıda belirtilen mekanizmalardan tendon iyileşmesi üzerine olumlu ve olumsuz etkisi olanlar ile bağlantı kurulması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi ve Cerrahi Deney Hayvanları Ünitesi, Cerrahi Araştırma Laboratuvar'ında gerçekleştirildi.

Çalışmada, ağırlıkları 250 ± 20 gram olan 39 adet Wistar tipi dişi rat kullanıldı. Deney grubundaki tüm hayvanlara, standart laboratuvar yemi ve suyu kullanılıp, ihtiyaçları düzenli olarak laboratuvar çalışanları tarafından sağlandı.

40 adet Wistar tipi rat dört gruba ayrıldı. Her grup 10 adet denekten oluştu. Denekler, onlu gruplar halinde, tel kafesler içinde muhafaza edildi. Çalışma sırasında ölüm ve otomutilasyon nedeniyle herhangi bir denek kaybı olmadı.

Çalışma grupları ve cerrahi teknik:

Cerrahi işlemler, aynı cerrah tarafından Ketamine-HCL (50 mg/ml)+Benzotonyum-Cl karışımının (Ketalar®-IM) parenteral (IM) yolla uygulandığı anestezi eşliğinde gerçekleştirildi. Bütün deneklerin her iki aşıl tendonlarına cerrahi olarak tam kat kesi uygulandı (Resim – 3). Daha sonra aynı seansta deneklerin her iki aşıl tendonu 6-0 ethilon monofilaman naylon dikişle 2 adet primer sütür ile tamir edildi (Resim – 4). 2 denek grubuna florokinolon olarak siprofloksasin (Ciproxin®) 900 mg/kg, 0.5 ml distile su içerisinde çözünerek, oral yolla 1 hafta boyunca uygulandı. 2 denek grubu ise kontrol grubu olarak kullanıldığından herhangi bir ilaç kullanılmadı. Çalışmanın uygulandığı dört grup şöyle oluştu:

1. grup (n = 10) : İlaç uygulanmadı. Kontrol grubu olarak kullanıldı.
2. grup (n = 10) : 900 mg / kg 1 hafta oral siprofloksasin uygulandı.
3. grup (n = 10) : İlaç uygulanmadı. Kontrol grubu olarak kullanıldı.
4. grup (n = 10) : 900 mg / kg 1 hafta oral siprofloksasin uygulandı.

Siprofloksasin, bütün denek gruplarına ameliyat sonrası 1. günde başlandı. 2. ve 4. gruplara standart olarak 1 hafta boyunca ilaç verildi.

Ameliyat sonrası herhangi bir örtü veya alçı kullanılmadı ve iyileşme süresi boyunca hayvanlara herhangi bir kısıtlama uygulanmadı. Deneklerin ameliyat sonrası 1. gün tüm ekstremitelerini kullanabildikleri gözlemlendi. Bu nedenle deneklerin beslenmelerinde bir problem olmadığı görüldü. Bu dönemde tüm deneklerin aynı standart laboratuvar yemi ve su ile beslenip, aynı özellikteki ortamda serbest olarak hareketleri sağlandı.

Ameliyat sonrası 1. haftada siprofloksasin uygulanan bir grup (2. grup) ile uygulanmayan diğer grup (1. grup) yüksek doz ketamin uygulanarak feda edildi. Deneklerin sol aşil tendonları proksimalde kas – tendon bileşkesinden, distalde ise kalkaneusa yapışma yerinden kesilerek histopatolojik inceleme amacıyla %10'luk nötral formalin solusyonuna konuldu. Sağ aşil tendonları ise proksimalde yine kas tendon bileşkesinden, distalde ise kalkaneusta dahil edilerek çıkarıldı ve % 0.9' luk NaCl izotonik solüsyon içerisine konularak 2 saat içerisinde biyomekanik incelemeye tabi tutuldu.

2. ve 4. gruplar da ameliyat sonrası 3. hafta yüksek doz ketamin uygulanarak feda edildi ve ilk 2 gruba uygulanan işlemlere tabi tutuldular.

1. ve 2. gruplardan birer adet deneğin insizyon bölgesinde enfeksiyon saptandığı bu denekler çalışmadan çıkarıldı ve histopatolojik ve biyomekanik incelemeye tabi tutulmadı.

Histolojik değerlendirme:

Işık mikroskopunda değerlendirme yapmak için, her grubun sol aşil tendon örneklerinden altışar tanesi, % 10' luk formaldehit solüsyonu ile 72 saat tespit edildi. Işık mikroskop incelemesi için, alıılmış takip işlemlerinden sonra, dokular parafin bloklar

haline getirildi. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin eosin ile boyandı. Boyanan kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi.

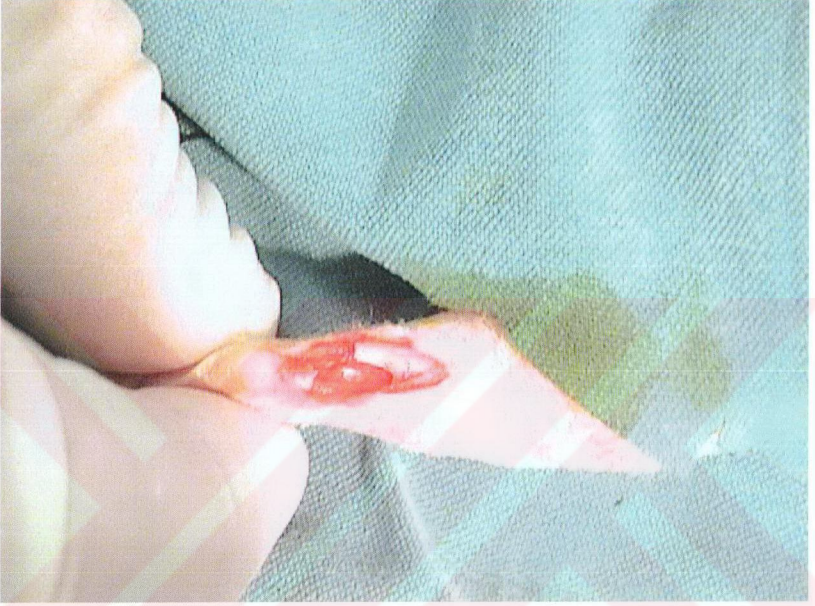
Biyomekanik değerlendirme:

Aşıl tendonların biyomekanik değerlendirilmesi Gazi Üniversitesi Mühendislik - Mimarlık Fakültesi ileri malzeme araştırma laboratuvarında Shimatsu AG – I 5 kN çekme cihazı kullanılarak yapıldı. 2 mm / dk hızla çekme uygulandı (Resim - 6).

Biyomekanik çalışma sırasında tendon uçlarının sabitlenmesi için Probst ve ark. tarif ettikleri yöntem kullanıldı⁽⁵²⁾. Tendonun proksimal ucu zımpara kağıdının arasına sıkıştırılarak çekme cihazının klempine tutturuldu. Distal ucunda bulunan kalkaneus kemiği, bir tahta parçasının içinde kendisine göre açılan oyuya yerleştirildi ve tahta parçası cihazın diğer klempine tutturuldu. Gerilme uygulandığı zaman distal uçtaki kalkaneus tahta parçasına sıkıştı ve tendonun distal ucunun sıyrılması engellendi⁽⁵²⁾ (Resim - 7).



Resim – 2: Aşil tendonu



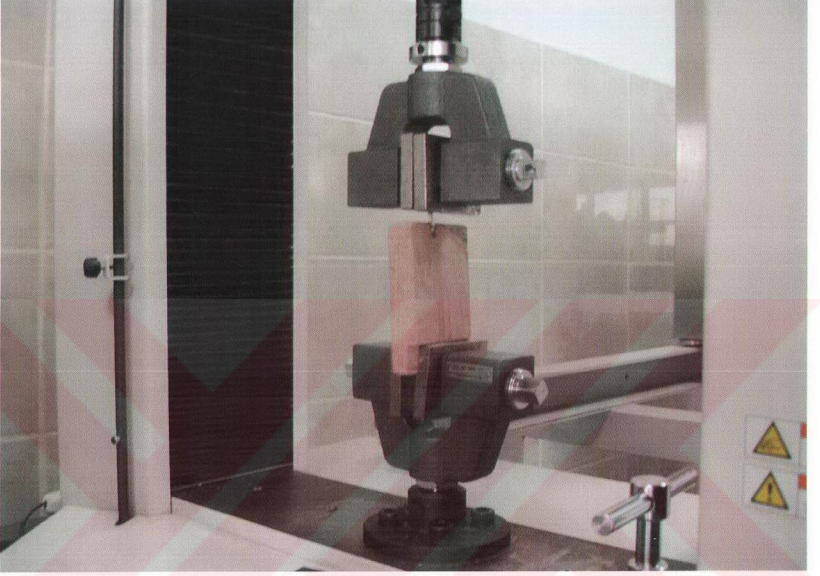
Resim – 3: Aşil tendonu ve plantaris tendonunun kesilmesi



Resim – 4: Aşil tendonları 6-0 ethilon monoflaman naylon dikiş ile 2 adet primer suture ile tamir edildi



Resim – 5: 3. hafta biyomekanik değerlendirme amaçlı alınan kalkaneus – aşil tendon kompleksi



Resim – 6: Biyomekanik değerlendirme; Probst yöntemi



Resim – 7: Biyomekanik değerlendirme; Probst yöntemi

BULGULAR

Biyomekanik Değerlendirme:

Biyomekanik değerlendirme sırasında kalkaneus - aşıl kompleklerinin maksimum gerilme kuvvetleri (Newton olarak) ölçüldü. 1. hafta kontrol ve siprofloksasin gruplarından dokuzar, 3. hafta gruplarından ise onar adet örnek test edildi. Bütün örneklerin, diğer tendon bölgelerinden daha zayıf olan iyileşme dokusunun olduğu bölgeden koptuğu görüldü.

Maksimum gerilme yükleri yönünden, 1. ve 3. hafta grupları, küçük grupların karşılaştırılmasında kullanılan, non-parametrik bir test olan Wilcoxon testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu, 1. hafta sonunda siprofloksasin kullanılan gruptaki tendonların maksimum gerilme kuvveti ortalama 11.1 N (min 7.8 – max 13.9), 1.hafta sonunda siprofloksasin verilmeyen kontrol grubunda ise maksimum gerilme kuvveti ortalama 5.2 N (min 2.9 – max 8.5) olarak saptanmıştır. İki grup arasında istatistiksel olarak farkın anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Bu sonuç, siprofloksasinin tendon iyileşmesini, 1. hafta sonunda, olumlu olarak etkilediğini göstermektedir (Tablo 1).

3. hafta sonunda yapılan biyomekanik değerlendirmede maksimum gerilme kuvveti siprofloksasin kullanılan grupta ortalama 28.7 N (min 22.1 – max 36.8), kontrol grubunda ise ortalama 20.7 N (min 14.3 – max 29.8) olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak bakıldığında, siprofloksasin kullanılan grupta, 3. hafta sonunda, kontrol grubuna göre maksimum gerilme kuvvetleri arasındaki fark anlamlıdır ($p\leq 0.05$). Bu sonuç, siprofloksasinin tendon iyileşmesini 3. hafta sonunda da olumlu olarak etkilediğini göstermektedir. Bununla birlikte 1. haftadaki fark belirgin bir şekilde azalmıştır (Tablo 2).

1.hafta	Kontrol (N)	Siprofloksasin (N)
1	8.5	12.6
2	3.2	13.2
3	6.7	11.4
4	6.2	12.9
5	4.8	8.5
6	6.0	13.2
7	3.5	7.5
8	2.9	13.9
9	5.1	7.3
Ortalama	5.2	11.1

Tablo – 1: Birinci hafta kontrol ve siprofloksasin kullanılan grupların maksimum gerilme kuvvetleri

3.hafta	Kontrol (N)	Siprofloksasin (N)
1	20.9	26.8
2	23.4	29.5
3	18.4	23.5
4	18.1	22.1
5	19.2	32.5
6	29.8	30.3
7	27.9	33.1
8	15.4	36.8
9	14.3	25.1
10	20.3	27.9
Ortalama	20.7	28.7

Tablo – 2 : Üçüncü hafta kontrol ve siprofloksasin kullanılan grupların maksimum gerilme kuvvetleri

Histolojik Değerlendirme:

Kontrol grubunda, kesi oluşumunu izleyen 1. haftada, küçük büyütmele incelemelerde kesi bölgesi belirgin olarak izlendi. Genel olarak yara dudaklarının kapandığı, ancak bazı alanlarda henüz kapanmanın gerçekleşmediği ilgi çekti (Resim –8). Büyük büyütmele incelemelerde, birleşen yara dudakları bölgesinde yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonu belirgindi. Dokunun alınma zamanına uygun anjiyogenezle paralel olarak bu bölgede damarlanmanın arttığı dikkati çekti (Resim – 9).

Kesi oluşumunu takiben siprofloksasin uygulanan grupta, 1. hafta alınan doku örneklerinde, küçük büyütmele incelemelerde, tüm hat boyunca yara dudaklarının kapandığı dikkati çekti. Yara bölgesinde yer yer kollajen lif sentezinin olduğu saptandı (Resim – 10). Büyük büyütmele incelemelerde, oldukça yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu dikkati çekti. İnflamasyonun, bu grupta kontrol grubuna göre çok daha belirgin olduğu saptandı (Resim - 11).

Kesi oluşumunu izleyen 3. hafta kontrol grubundan alınan doku örneklerinde, yara dudaklarına komşu alanlarda, yer yer inflamatuvar hücre adacıkları varlığını korurken doku genelinde inflamasyonun azaldığı yerini iyileşme sürecindeki granülasyon dokusuna bıraktığı izlendi (Resim – 12). Granülasyon dokusu içerisinde çok sayıda kapiller damar ve yeni sentezlenen kollajen lifler dikkati çekti. Kollajen liflerin düzenli sıkı bağ dokusu karakterini kazanmadığı belirlendi. 3. hafta kontrol grubu büyük büyütmele incelemede yapının 1. hafta ciprofloksasin uygulanan gruba eşdeğer olduğu dikkati çekti (Resim – 13).

Kesi oluşumunu izleyen 3. haftada siprofloksasin uygulanan gruptan alınan doku örneklerinde küçük büyütmele incelemede yara bölgesinin tamamen normal tendon görünümünü aldığı dikkati çekti. Ancak damarlanmanın henüz son derece yoğun olduğu saptandı (Resim – 14). Büyük büyütmele incelemede normal düzenli sıkı bağ doku yapısı

gösteren kollajen lifler ve liflerin arasındaki tendositler belirgin olarak izlenirken kapillerlerin son derece dilate olduğu ve lümenlerinde çok sayıda lökosit bulundurdıkları dikkati çekti ve bu lökositlerin yer yer kapiller damarların periferine infiltre oldukları saptandı (Resim – 15).

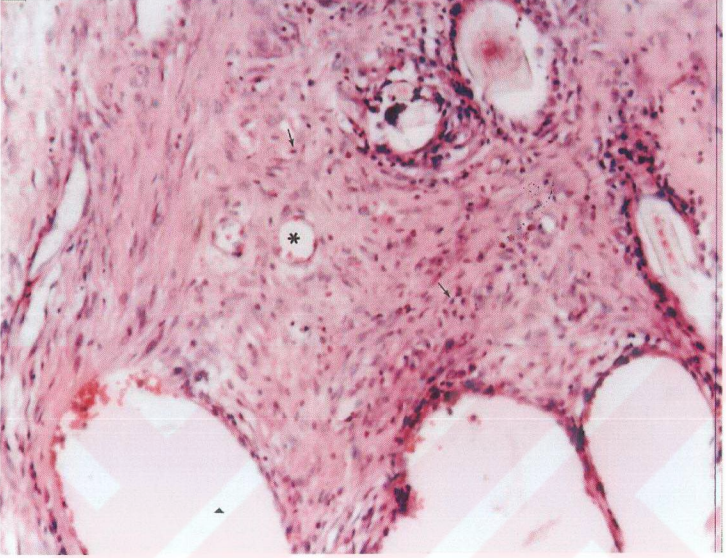
Sonuç olarak siprofloksasin uygulamasının özellikle normal yara iyileşme sürecinde 1. haftada gözlenen inflamasyonu kontrol grubuna göre belirgin derecede arttırdığı, 3. haftanın sonunda ise yara bölgesinin normal morfolojiye sahip olmasını sağladığı belirlendi. Bu bulgular ışığında, siprofloksasinin tendonda yara iyileşmesini hızlandırdığı belirlenirken, bu etkiyi tendon iyileşmesinin inflamatuvar dönemindeki inflamasyon ve anjiyogenezisi artırarak sağladığı kanısına varılmıştır.



Resim - 8: Kontrol grubu birinci hafta.

***: Kapanmış yara dudakları,**

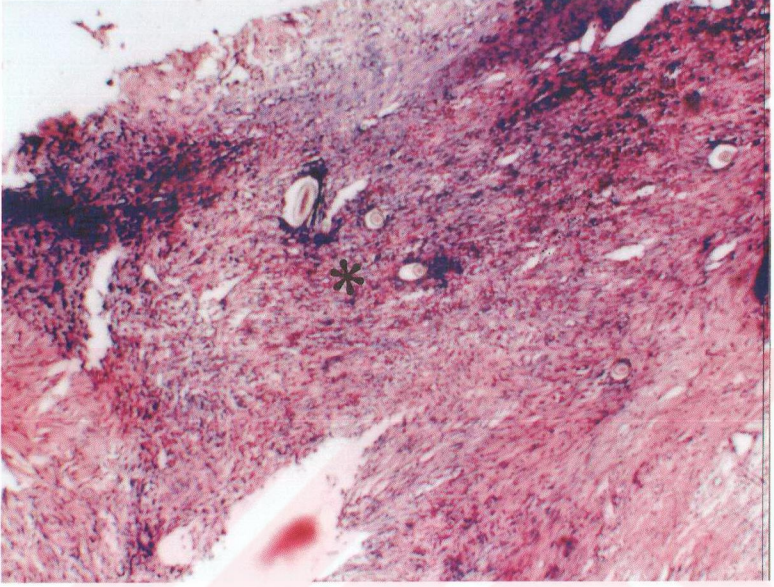
→: yara distalinde henüz kaynaşmamış olan dudaklar (HE X40).



Resim - 9: Kontrol grubu birinci hafta.

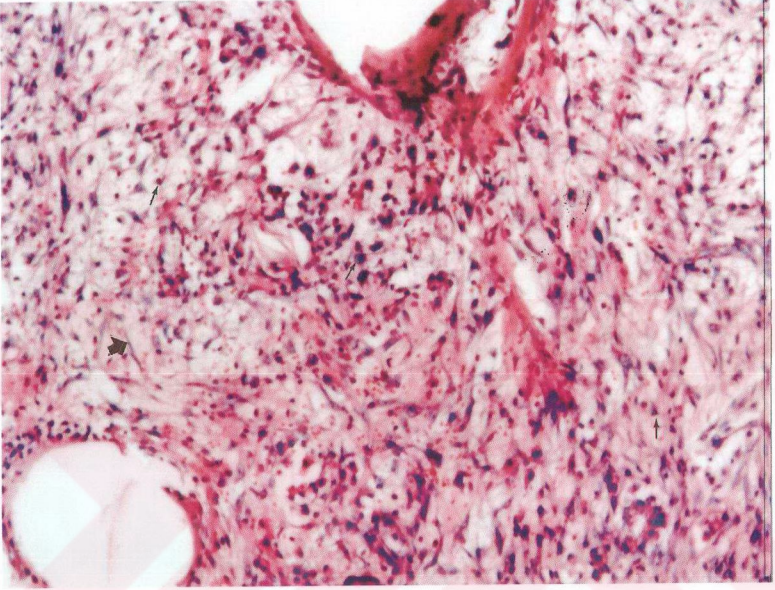
→: İnflamatuvar hücreler,

***: Kapillerler (HE X100)**



Resim - 10: Siprofloksasin grubu birinci hafta.

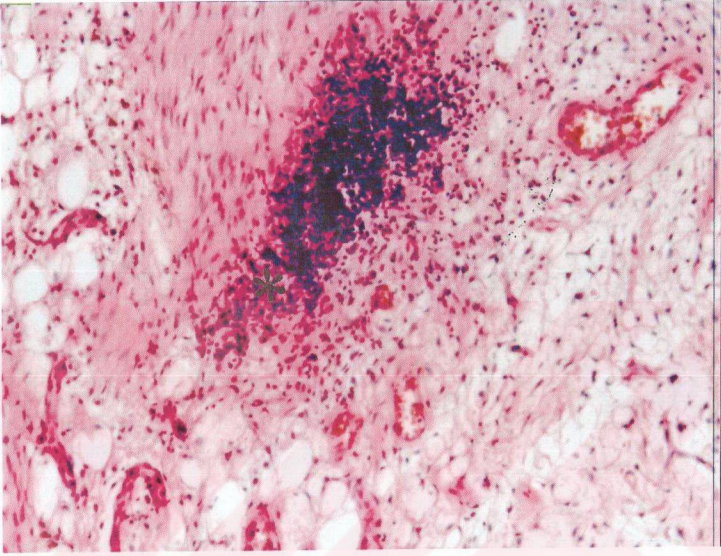
***: Yara bölgesi (HE X40)**



Resim 11: Siprofloksasin grubu birinci hafta.

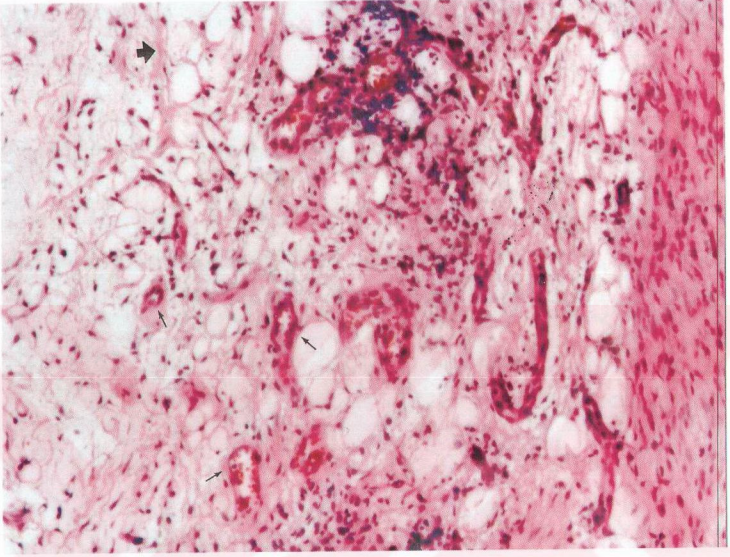
→: Yoğun inflamatuvar hücreler

⇒: Yeni sentezlenen kollajen lifler (HE X100)



Resim - 12: Siprofloksasin grubu birinci hafta.

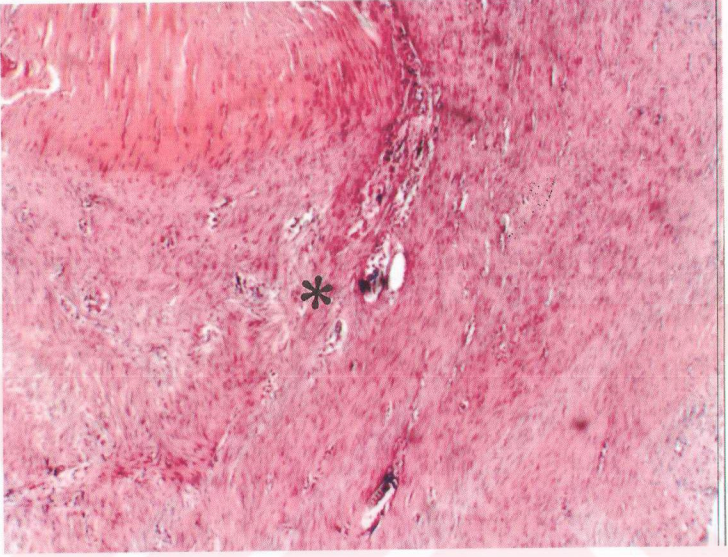
***: İnflamatuvar hücre odakları (HE X100)**



Resim - 13: Kontrol grubu üçüncü hafta.

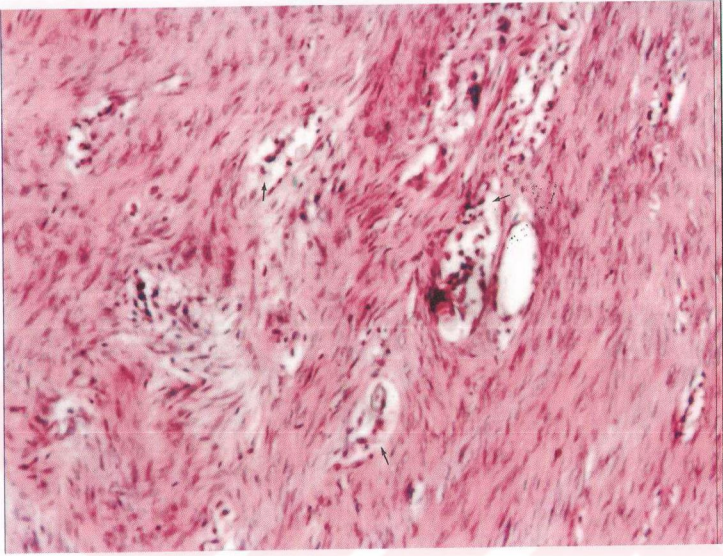
→: Çok sayıda kapiller damar

⇒: Yeni sentezlenen kollajen lifler (HE X100)



Resim - 14: Siprofloksasin grubu üçüncü hafta.

***: Normal tendon yapısı gösteren yara bölgesi (HE X40)**



Resim - 15: Siprofloksasin grubu üçüncü hafta.

→: Son derece dilate ve lümeni lökositlerle dolu kapillerler (HE X100)

TARTIŞMA

Florokinolon grubu antibiyotiklerin tendinopati yapıcı etkilerine değişik bir bakış açısı getirebilmek ve bu konudaki çok eşitli varsayımlardan hangisinin daha baskın olduğunu belirleyebilmek için planlanan bu çalışma maliyet düşüklüğü, etik sorunların ve değişkenlerin daha az olması nedeniyle hayvan modeli üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hayvanların insanlardan farklı biyolojik, hormonal ve anatomik özellikleri olduğu kabul edilmektedir. Bu duruma rağmen hayvan modelleri üzerinde yapılan, tendon yaralanma ve tamir mekanizmaları çalışmaları literatüre oldukça önemli bilgiler sağlamıştır. Bununla birlikte elde edilen sonuçların kliniğe uygulanması sırasında dikkatli olunmalıdır⁽⁶⁶⁾.

Hayvan tendonları üzerine yapılan çalışmalarda, biyomekanik testler önemli bilgiler vermektedir. Bununla birlikte tendonların her iki uçtan tendon yapısına zarar vermeden ve sıyrılmadan tutulması önemli bir sorun olmuştur. En sık kullanılan tendon sabitleme tekniği, tendonun her iki uçtan klemplenmesidir ⁽⁵²⁾. Bu teknikte karşılaşılan önemli sorun, tendon uçlarının gerilme kuvvetlerine karşı sıyrılmadan tutulabilmesi için klemplerin çok sıkılmasının gerekmesidir. Bu durumda, her iki tendon ucu ya ezilmekte ve kopmalar bu noktadan gerçekleşmekte veya yeterince sıkılmaması nedeniyle tendon uçları kaymaktadır. Bu sorunu aşmak için, tendon uçlarını dondurarak yapışmasını sağlayan teknikler geliştirilmeye çalışılmıştır. Sıvı nitrojen veya klemp etrafında buz hazneleri koyarak uygulanan kryoklemp teknikleri ve klemp – tendon arasına buz koyarak direk teması kesen kryofiksasyon teknikleri literatürde yerini almıştır ^(51,59). Ayrıca plastik çimento ve yapıştırıcı bir madde ile yapıştırma teknikleride tanımlanmıştır ^(19,43).

Yukarıda belirtilen tekniklerin hepsi koyun, tavuk ve köpek gibi uzun tendonları olan hayvan modellerinde başarılı olabilir. Fakat rat tendonları yalnızca birkaç milimetre uzunluğundadır ve kryoklepleme veya kryofiksasyon teknikleri kullanıldığında bütün

tendonun donması mümkündür. Ayrıca çimento veya yapıştırıcılarda uygulanırken bütün tendona yayılmaları engellenemeyebilir. Her iki durumda da tendonun biyomekanik özelliklerinin değişmesi olasıdır⁽⁵²⁾. Bu nedenle, biz bu çalışmada Probst ve ark tarif ettiği küçük deney hayvanlarının tendonları için kullanılabilecek klempleme yöntemini kullandık.

Bu çalışmada ratların her iki aşıl tendonu kesilerek tamir edilmiştir. Genel uygulama ratların tek tendonlarının kesilerek tamir edilmesi ve hayvanların diğer üç ekstremitelerini kullanarak mobilizasyonlarına izin verilmesi şeklindedir. Bu çalışmada uygulanan her iki aşıl tendonunun kesilerek tamir edilmesi hayvanların mobilizasyonunu etkilememiş ve beslenmelerini bozmamıştır. Ratların ameliyat sonrası birinci günden itibaren her iki alt ekstremiteleri üzerinde kalkarak hareket edebildikleri gözlemlenmiştir (Resim – 16).

Florokinolon tendinopatisi üzerine yapılan araştırmalar yoğunlaşmaktadır. Fakat daha öncede belirtildiği gibi, gerçekten sadece tendinopati mi veya tendinit mi olduğu bile henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu durum mekanizmanın düşünülenden çok daha karmaşık olduğunu ve olasılıkla belirtilen bütün mekanizmaların geçerli olabileceğini göstermektedir.

Biz bu çalışmada, florokinolonların tendon iyileşmesini, tahmin edilen aksine olumlu etkilediğini tespit ettik. Özellikle 1. hafta sonunda yapılan biyomekanik çalışmalarda iyileşme dokusunun florokinolon kullanılan grubda biyomekanik olarak, kullanılmayan gruba göre belirgin olarak daha sağlam olduğu görülmüştür. 3. hafta yapılan çalışmalarda da benzer bir durum söz konusudur. 3. hafta biyomekanik çalışmasında iki grup arasında yine florokinolon alan grubun lehine istatistiksel olarak anlamlı fark vardır fakat bu fark birinci haftadaki kadar fazla değildir.



Resim – 16: Ameliyat sonrası 1. gün; deneğin her iki ayağının üzerine rahatlıkla kalkabildiği görülmektedir.

Yapılan histolojik değerlendirmede 1.hafta sonunda, siprofloksasin verilen grupta, kontrol grubuna göre belirgin olarak artmış inflamatuvar görünüm mevcuttur. İnflamatuvar faz tendon iyileşmesinin ilk evresidir ve siprofloksasin tarafından tetiklenen inflamasyon tendon iyileşmesini attırmış olabilir.

Florokinolonların sitokinler üzerine etkileri gösterilmiştir. PGI_2 zerine stimüle edici etkisinin varlığı bilinmektedir⁽¹¹⁾. PGE_2 'nin, $IL1\beta$ üzerinden stimlasyonunun olumsuz etkilendiği ne sürülmektedir fakat Takashi ve ark siprofloksasin ile monositlerden endojen PGE_2 sentezinin arttırdığını göstermişlerdir⁽⁷⁵⁾. Ayrıca bu artışın selektif ve selektif olmayan COX – 2 inhibitörleriyle azaldığını da belirtmişlerdir⁽⁷⁵⁾.

Biz yaptığımız çalışma sonucunda, siprofloksasin alan grupta tendon iyileşmesinin daha iyi olmasının 2 olası mekanizmayla aıklanabilceğini düşündük.

Olası birinci mekanizma; tendon iyileşmesinin erken evresi olan inflamasyonun florokinolonlar tarafından arttırılmasıdır. Florokinolonlar tarafından tetiklenen PGE_2 , aşırı kullanım tendinopatisindekine benzer bir mekanizmayla, $IL - 1\beta$ üzerinden metalloproteinazların artışını tetikler^(69,77,84). Tendon iyileşmesinin erken evrelerinde bu enzimler zaten yükselmektedir. Yani teorik olarak, bu enzimlerin tendinopati mekanizmalarından biri olarak gösterilen dengesi zaten bozulmaktadır. Sonuçta yaralı tendonda bu dengesizliğin florokinolonlar tarafından arttırılması iyileşmenin erken dönemlerinde iyileşmeye katkıda bulunabilir. Ayrıca artan diğer sitokinler kemotaksis ve damar dilatasyonu, etkileriyle bölgeye inflamatuvar hücrelerin gelmesini arttırarak inflamatuvar süreci desteklemiş olabilirler.

Olası ikinci mekanizma; NO ile ilişkili olabilir. NO sentaz inhibitörlerinin florokinolonların oluşturduğu tendinopatiyi belirgin bir şekilde inhibe ettiği

bildirilmektedir. Bu durum NO' in florokinolon tendinopatisinde etkili olabileceğini göstermiştir⁽²²⁾. Bizim çalışmamızdan çıkan sonuç, NO' in katkısı dolaylı yoldan desteklemektedir. NO tendon iyileşmesinin yanısıra vücuttaki birçok iyileşme mekanizmasını olumlu yönde etkilemektedir^(55,92). NO' in ödemi tetiklediği de bildirilmektedir⁽²²⁾. NO bu etkilerini direkt olarak değil fakat diğer mediatörler ve sitokinler üzerinden göstermektedir⁽²²⁾. Normal tendon üzerinde bu etkiler bir tendinopati tablosu yaratabilir, fakat yaralı tendonun iyileşme evresinde, NO' in etkileri tendonun iyileşmesine katkıda bulunur. Bizim çalışmamızda 1. haftada siprofloksasin alan grupta görülen normale göre çok daha şiddetli görünen inflamasyonda sitokinler ile beraber NO' in de rol oynayabileceği düşünülmektedir.

3. hafta yapılan histolojik değerlendirme de biyomekanik değerlendirmeyle uyumlu görünmektedir. Bu sonuç inflamatuvar evrede iyileşme dokusunun kazandığı iyileşme ivmesinin 3. haftada sürdüğü şeklinde yorumlanabilir. Siprofloksasinin sadece inflamatuvar evre süresince verilmiş olması nedeniyle, daha önce değinilen kollajen sentezine ve hücre çoğalmasına karşı gösterilen olumsuz etkileri sonucu değiştirmemiştir^(6,53,86). Bu sayılan olumsuz etkilerin iyileşmeyi belirgin şekilde olumsuz etkileyebileceği dönem proliferasyon evresidir. Sadece proliferasyon evresinde siprofloksasin verilerek planlanan bir çalışmada, tendon iyileşmesi değerlendirildiğinde sonuçlar farklı olabilir.

Daha önce de belirtildiği gibi, bu çalışmanın amacı florokinolonların tendon iyileşmesi üzerine etkilerini belirleyerek, tendinopati etkilerine ışık tutmaktır. Sonuçta florokinolonların iyileşmeyi olumlu etkilemesi, tendon rüptürü olan hastalara florokinolon verilerek iyileşmenin güçlendirilmesinin önerilmesi anlamına gelmez. Bu sonuç, florokinolonun bir inflamasyona neden olduğunu ve florokinolon tendinopatisinde

inflamatuvar mekanizmaların gözardı edilmemesi gerektiğini göstermektedir. Son yıllarda tendinopatinin inflamatuvar olmayan mekanizmalarla oluştuğunu öne süren görüşler vardır ^(25,57).

Erken dönemde florokinolonların tendon iyileşmesini arttırdığı gösterilmekle birlikte, 3. haftaya gelindiğinde, sonuçlar arasındaki farkın gözle görünür bir şekilde kapandığı görülmektedir. Daha uzun dönemde florokinolon grubu antibiyotiklerin iyileşmeyi nasıl etkilediği bilinmemektedir. Zaman içerisinde florokinolonların tenotoksik etkilerinin ağır basarak tendonun biyomekaniğini olumsuz etkileyebileceği düşünülmektedir.

Ayrıca, florokinolonların tendon iyileşmesi üzerine etkilerinin NO sentaz inhibitörleri ve diğer non steroid anti inflamatuvar ilaçlar ile etkilenip etkilenmediği de ayrı bir araştırma konusu yapılabilir.

Sonuç olarak bu çalışma, florokinolonların inflamatuvar bir reaksiyonu güçlendirerek, tendon iyileşmesini olumlu yönde etkilediği düşündürmektedir. İnflamatuvar reaksiyon, florokinolonların tendinopati yapıcı etkisinde de önemli bir faktör olabilir. Tendinopatide son nokta non - inflamatuvar dejeneratif değişiklikler olarak görülse bile, florokinolona bağlı tendinopatide, başlangıcın bir inflamatuvar reaksiyon üzerinden geliştiği düşüncesindeyiz.

ÖZET

AMAÇ :

Florokinolon tendinopatisi, son 20 yılda gündeme gelen bir sorundur. Bu ilaçların kullanımının geniş etkinlikleri nedeniyle artması sorunu daha da güncel hale getirmektedir. Bununla birlikte, florokinolonların tetiklediği tendinopatiye neden olan patolojik mekanizmalar çok az anlaşılabilmektedir. İnflamasyon, tenotoksisite ve matriks proteinleri üzerine olan etkiler literatürde bildirilmektedir. Bu mekanizmalardan hangisinin esas rolü oynadığı bilinmemektedir. Biz bu çalışmada, siprofloksasinin tendon iyileşmesine olan etkisini inceleyerek, yukarıda sayılan mekanizmaların hangisinin daha önemli olabileceğini anlamaya çalıştık.

GEREÇ VE YÖNTEM:

Kırk adet rat, onarlı gruplar halinde dörde ayrıldı. Tüm gruplarda, aşıl tendonu kesildi ve primer tamir uygulandı. İki grup deneğe 1 hafta boyunca oral olarak siprofloksasin uygulandı. Diğer iki grup, kontrol grubu olarak kullanıldı ve tendon iyileşmeleri boyunca herhangi bir ilaç uygulanmadı. Siprofloksasin uygulanan ve uygulanmayan birer grup birinci haftada ve yine aynı şekilde birer grup üçüncü haftada feda edilerek aşıl tendonları çıkartıldı. Çıkarılan aşıl tendonları biyomekanik ve histolojik incelemeye tabi tutuldu.

BULGULAR:

Birinci hafta sonunda, iyileşen tendon dokusunun biyomekanik dayanıklılığı, siprofloksasin alan grup ve kontrol grubunda sırasıyla 5.2 N ve 11.2 N olarak saptandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$). Histolojik olarak, 1.hafta değerlendirmesinde, siprofloksasin alan grupta, kontrol grubuna göre inflamasyonun belirgin bir şekilde daha şiddetli olduğu tespit edildi. Üçüncü hafta sonunda, iyileşen

tendon dokusunun biyomekanik dayanıklılığı, siprofloksasin grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha fazlaydı (sırasıyla 28.7 N ve 20.7 N, $p \leq 0.05$). Histolojik değerlendirme de, 3. hafta sonunda siprofloksasin grubunda tendon iyileşmesinin kontrol grubuna göre daha iyi olduğunu gösterdi.

SONUÇ:

Bu çalışma, siprofloksasinin inflamatuvar evrenin şiddetini, olasılıkla sitokinler ve NO aracılığıyla arttırarak, tendon iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. Bu mekanizmaların, florokinolon tendinopatisinin en azından başlangıcında, etkili olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Florokinolonlar, tendon iyileşmesi, tendinopati, inflamasyon.

SUMMARY

Introduction:

Fluoroquinolone tendinopathy has going to be a problem in the last two decades. As these group of antibiotics are used increasingly because of their extensive effectiveness, this problem becomes more popular. However, the mechanisms underlying this problem is poorly understood. The main role of tendinopathy by inflammation, tenotoxicity and certain effects on matrix proteins which are pointed out in the literature is unclear. This study is planned to understand the main mechanism underlying the problem by investigating the effects of ciprofloxacin on tendon healing.

Materials and Method:

40 rats were divided into four groups, 10 in each. All rat achilles tendons were surgically transected bilateral and primary repair was applied. Two groups were administered ciprofloxacin orally for the first week of tendon healing and the other two groups received no medication during tendon healing. After the first week of tendon healing, one rat ciprofloxacin receiving group and one control group was sacrificed. The same procedure was carried on the third week and achilles tendons were excised after first and third weeks of healing process and were evaluated histologically and biomechanically.

Results:

At the end of the first week, the biomechanical strength of the healing tendon tissue in ciprofloxacin receiving and control groups were found 11.2 N and 5.2 N respectively. The difference was statistically significant ($p \leq 0.05$). Histologically, the inflammatory reaction was found to be more severe in ciprofloxacin group than the controls at the end of the first week. At the end of the third week, the tendon healing tissue was statistically stronger in ciprofloxacin receiving group than controls (28.7 N and 20.7 N respectively, $p \leq 0.05$). Histologic assesment also showed that the healing was better in ciprofloxacin given rats.

Conclusion:

This study demonstrated that ciprofloxacin, enhances the tendon healing by increasing the severity of inflammatory phase, possibly over the cytokines or nitrose oxide. Also these effects may play a role in flouroquinolone tendinopathy, at least on triggering the pathology.

Keywords: Flouroquinolones, tendon healing, tendinopathy, inflammation.

KAYNAKLAR:

- 1-) Almekinders L.C., Gilbert J.A.: Healing of experimental muscle strains and the effects of nonsteroidal antiinflammatory medication. *Am J Sports Med* 14 (4): 303-844. 1998
- 2-) Amiel D, Akeson W, Harwood FL, Frank CB. Stress deprivation effect on metabolite turnover of medial collateral ligament collagen. A comparison between nine- and 12-week immobilization. *Clin Orthop* 172: 265-70, 1983.
- 3-) Appelbaum PC, Hunter PA. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future Perspectives. *Int J Antimicrob Agents* 16: 5–15, 2000.
- 4-) Archambault J, Tsuzaki M, Herzog W, Banes AJ. Stretch and interleukin - 1 β induce matrix metalloproteinases in rabbit tendon cells in vitro. *J Orthop Res* 20: 36-9, 2002.
- 5-) Arnoczky SP, Tian T, Lavagnino M, Gardner K, Schuler P, Morse P. Activation of stress-activated protein kinases (SAPK) in tendon cells following cyclic strain: the effects of strain. *Orthop Res* 20: 947-52, 2002.
- 6-) Bernard-Beaubois K, Hecquet C, Hayem G, Rat P, and Adolphe M. In vitro study of cytotoxicity of quinolones on rabbit tenocytes. *Cell Biol Toxicol* 14: 283–292, 1998.
- 7-) Bestwick CS, Maffulli N. Reactive oxygen species and tendon problems: review and hypothesis. *Sports Med Arthroscopy Rev* 8: 6-16, 2000.
- 8-) Birch HL, Rutter GA, Goodship AE. Oxidative energy metabolism in equine tendon cells. *Res Vet Sci* 62: 93-97, 1997.
- 9-) Birch HL, Wilson AM, Goodship AE. The effect of exercise-induced localised hyperthermia on tendon cell survival. *J Exp Biol* 200: 1703-8, 1997.

- 10-) Buckwalter J.A.: Musculoskeletal Tissues and the Musculoskeletal System, In: Turek's Orthopaedics: Principles and Their Applications. Fifth Edition, edited by Stuart L Weinstein, Joseph A. Buckwalter. J.B Lipincott Company, Philadelphia; 1994. S: 13-61.
- 11-) Corps AN, Curry VA, Harrall RL, Dutt D, Hazleman BL, Riley GP. Ciprofloxacin reduces the stimulation of prostaglandin E2 output by interleukin-1 β in human tendon-derived cells. *Rheum* 42: 1306–1310, 2003.
- 12-) Corps AN, Harrall RL, Curry VA, Fenwick SA, Hazleman BL, Riley GP. Ciprofloxacin Enhances the Stimulation of Matrix Metalloproteinase 3 Expression by Interleukin-1 in Human Tendon-Derived Cells. *Arthrit Rheum* 46: 3034–3040, 2002.
- 13-) Corps AN, Harrall RL, Curry VA, Hazleman BL, Riley GP. Contrasting effects of fluoroquinolone antibiotics on the expression of the collagenases, matrix metalloproteinases (MMP)-1 and -13, in human tendon-derived cells. *Rheumatology* 44: 1514–1517, 2005.
- 14-) Frank C, Woo SL, Amiel D, Harwood F, Gomez M, Akeson W. Medial collateral ligament healing. A multidisciplinary assessment in rabbits. *Am J Sports Med* 11: 379–389, 1983.
- 15-) Frank C, McDonald D, Bray D, Bray R, Rangayyan R, Chimich D, Shrive N. Collagen fibril diameters in the healing adult rabbit medial collateral ligament. *Conn Tissue Res* 27, 251–263, 1992.
- 16-) Fenwick SA, Hazleman BL, Riley GP. The vasculature and its role in the damaged and healing tendon. *Arthritis Res* 4: 252–260, 2002.
- 17-) Gold L, Igra H. Levofloxacin-Induced Tendon Rupture: A Case Report and Review of the Literature. *JABFP* 16: 458–460, 2003.

- 18-) Hayem G and Carbon C. A reappraisal of quinolone tolerability. *Drug Saf* 13: 338–342, 1995.
- 19-) Huang T, Perry SM, Soslowsky L. The Effect of Overuse Activity on Achilles Tendon in an Animal Model: A Biomechanical Study. *Ann Biomed Engineer* 32: 336–341, 2004.
- 20-) Kannus P, Jozsa L. Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients. *J Bone Joint Surg Am* 73: 1507-25, 1991.
- 21-) Kannus P, Jozsa L, Jarvinnen M. Basic science of tendons. In: Garrett WE Jr, Speer KP, Kirkendall DT, editors. *Principles and practice of orthopaedic sports medicine*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2000. S: 21-37.
- 22-) Kashida Y, Kato M. Characterization of Fluoroquinolone-Induced Achilles Tendon Toxicity in Rats: Comparison of Toxicities of 10 Fluoroquinolones and Effects of Anti-Inflammatory Compounds. *Antimicrob Agents Chemother* 41: 2389-2393, 1997.
- 23-) Kato M, Takada S, Kashida Y, Nomura M. Histological examination on Achilles tendon lesions induced by quinolone antibacterial agents in juvenile rats. *Toxicol Pathol* 23: 385–92, 1995.
- 24-) Khaliq Y, Zhanel G. Fluoroquinolone-Associated Tendinopathy: A Critical Review of the Literature. *CID* 36: 1404-1410. 2003.
- 25-) Khan KM, Cook JL, Kannus P, Maffulli N, Bonar F. Time to abandon the ‘tendinitis’ myth. *Br Med J* 324: 626–7, 2002.
- 26-) Kirkendall DT, Garrett WE. Function and biomechanics of tendons. *Scand J Med Sci Sports* 7: 62-6, 1997.
- 27-) Komi PV. Relevance of in vivo force measurements to human biomechanics. *J Biomech* 23 Suppl1: 23-34, 1990.

- 28-) Kowatari K, Nakashima K, Ono A, Yoshihara M, Amano M, Toh S. Levofloxacin-induced bilateral Achilles tendon rupture: a case report and review of the literature. *J Orthop Sci* 9:186–190, 2004.
- 29-) Kuru I, Maralcan G, Inan U, Bozan ME, Altinel L, Tokyol C. Biomechanical and histologic comparison of Achilles tendon ruptures reinforced with intratendinous and peritendinous plantaris tendon grafts in rabbits: an experimental study. *Arch Orthop Trauma Surg* 124 : 608–613, 2004.
- 30-) 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: 359-364, 1995.
- 31-) Kvist M, Jozsa L, Jarvinen M. Vascular changes in the ruptured Achilles tendon and paratenon. *Int Orthop* 16: 377-382, 1992.
- 32-) Leadbetter WB: Cell–matrix response in tendon injury. *Clin Sports Med* 11: 533-578, 1992.
- 33-) Lephart SM, Pincivero DM, Giraldo JL, Fu FH. The role of proprioception in the management and rehabilitation of athletic injuries. *Am J Sports Med* 25:130-7, 1997.
- 34-) Lin TW, Cardenas L, Soslowsky LJ. Biomechanics of tendon injury and repair. *J Biomech* 37: 865–877, 2004.
- 35-) Lin TW, Cardenas L, Glaser DL, Soslowsky LJ. Tendon healing in interleukin-4 and interleukin-6 knockout mice . *Journal of Biomechanics* 39: 61–69, 2006.
- 36-) Luthje P, Nurmi I, Nyysönen T. Missed Achilles tendon rupture due to oral levofloxacin: surgical treatment and result. *Arch Orthop Trauma Surg* 125: 124–126, 2005.

- 37-) Mass, D.P., Tuel, R.J., 1991. Intrinsic healing of the laceration site in human superficialis flexor tendons in vitro. *J Hand Surg Am* 16: 24–30, 1991.
- 38-) Mehr D, Pardubsky PD, Martin JA, Buckwalter JA. Tenascin-C in tendon regions subjected to compression. *J Orthop Res* 18: 537-45, 2000.
- 39-) Melhus A, Apelqvist J, Larsson J, Eneroth M. Levofloxacin-associated Achilles Tendon Rupture and Tendinopathy. *Scand J Infect Dis* 768-769, 2003.
- 40-) Molloy T, Wang Y, Murrell G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Medicine* 33, 381–394, 2003.
- 41-) Movin T, Gad A, Guntner P, Foldhazy Z, Rolf C. Pathology of the Achilles tendon in association with ciprofloxacin treatment. *Foot Ankle Int* 18: 297–9, 1997.
- 42-) Murphy PG, Loitz BJ, Frank CB, Hart DA. Influence of exogenous growth factors on the synthesis and secretion of collagen types I and III by explants of normal and healing rabbit ligaments. *Biochem Cell Biol* 72: 403-9, 1994.
- 43-) Murrell GA, Lilly EG, Goldner RD, Seaber AV, Best TM. Effects of immobilization on Achilles tendon healing in a rat model. *J Orthop Res* 12:582–591, 1994.
- 44-) Murrell GA, Szabo C, Hannafin JA, Jang D, Dolan MM, Deng XH, Murrell DF, Warren RF. Modulation of tendon healing by nitric oxide. *Inflamm Res* 46: 19-27, 1997.
- 45-) Nagase H, Woessner JF. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 274 : 21491–4, 1999.
- 46-) Oakes BW. Tissue healing and repair: tendons and ligaments. In: Frontera WR, editor. *Rehabilitation of sports injuries: scientific basis*. Boston: Blackwell Science, 2003. S: 56-98.

- 47-) Oakes BW, Singleton C, Haut RC. Correlation of collagen fibril morphology and tensile modulus in the repairing and normal rabbit patella tendon. *Trans Orthop Res Soc* 23:24, 1998.
- 48-) O'Brien M. Functional anatomy and physiology of tendons. *Clin Sports Med* 11:505-20, 1992.
- 49-) O'Brien M. Structure and metabolism of tendons. *Scand J Med Sci Sports* 7: 55-61, 1997.
- 50-) Oshiro W, Lou J, Xing X, Tu Y, Manske PR. Flexor tendon healing in the rat: a histologic and gene expression study. *J Hand Surg Am* 28: 814-23, 2003.
- 51-) Pearsall AW, Hollis JM, Russell GV, Scheer Z. A Biomechanical Comparison of Three Lower Extremity Tendons for Ligamentous Reconstruction About the Knee. *Arthroscopy: J Arthros Rel Surg* 19: 1091-1096, 2003.
- 52-) Probst A, Palmes D, Freise H, Langer M, Joist A, Spiegel HU. A New Clamping Technique for Biomechanical Testing of Tendons in Small Animals. *J Invest Surg* 13: 313- 318, 2000.
- 53-) Pouzaud F, Bernard-Beaubois K, Thevenin M, Warnet JM, Hayem G, Rat P. In Vitro Discrimination of Fluoroquinolones Toxicity on Tendon Cells: Involvement of Oxidative Stress. *J Pharm Exp Ther* 308: 394-402, 2004.
- 54-) Ribard P, Audisio F, Kahn MF. Seven Achilles tendinitis including three complicated by rupture during fluoroquinolone therapy. *J Rheumatol* 19: 1479-81, 1992.
- 55-) Richter C, Gogvadze V, Laffranchi R, Schlapbach R, Schweizer M, Suter M, Walter P, Yaffee M. Oxidants in mitochondria: from physiology to diseases. *Biochim Biophys Acta* 1271:67-74, 1995.

- 56-) Riesbeck K, Sigvardsson M, Leanderson T, Forsgren A. Superinduction of cytokine gene transcription by ciprofloxacin. *J Immunol* 153:343–52, 1994.
- 57-) Riley GP, Harrall RL, Cawston TE, Hazleman BL, Mackie EJ. Tenascin-C and human tendon degeneration. *Am J Pathol* 149: 933–43, 1996.
- 58-) Riley GP, Goddard MJ, Hazleman BL. Histopathological assessment and pathological significance of matrix degeneration in supraspinatus tendons. *Rheumatology* 40:229–30, 2001.
- 59-) Rincon L, Schatzmanna L, Brunnera P, Staubli HU, Fergusona SJ, Oxland TR, Nolte LP. Design and evaluation of a cryogenic soft tissue fixation device - load tolerances and thermal aspects *J Biomech* 34: 393–397, 2001.
- 60-) Royer RJ, Pierfitte C, Netter P. Features of tendon disorders with fluoroquinolones. *Therapie* 49: 75–6, 1994.
- 61-) Sendzik J, Shakibaei M, Schafer-Korting M, Ralf Stahlmann R. Fluoroquinolones cause changes in extracellular matrix, signalling proteins, metalloproteinases and caspase-3 in cultured human tendon cells. *Toxicol* 212: 24–36., 2005
- 62-) Shakibaei M, Stahlmann R. Ultrastructure of achilles tendon from rats after treatment with fleroxacin. *Arch Toxic* 75: 97–102, 2001.
- 63-) 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: 261–266, 2000.
- 64-) Shakibaei M, Stahlmann R. Ultrastructural changes induced by the des-F(6)-quinolone garenoxacin (BMS-284756) and two fluoroquinolones in Achilles tendon from immature rats. *Arch Toxicol* 77: 521–6, 2003.

- 65-) Shakibaei M, de Souza P, van Sickle D, Stahlmann R. Biochemical changes in Achilles tendon from juvenile dogs after treatment with ciprofloxacin or feeding a magnesium-deficient diet. *Arch Toxicol*. 2001 75: 369-74, 2001.
- 66-) Sharma P, Maffulli N. Tendon Injury and Tendinopathy: Healing and Repair. *J Bone Joint Surg Am* 87-1: 187-202, 2005.
- 67-) Silfverskiold K.L., Andersson C.H.: Two new methods of tendon repair: An in vitro evaluation of tensile strength and gap formation. *J Hand Surg Am* 18: 58-65, 1993.
- 68-) Simonin MA, Gegout-Pottie P, Minn A, Gillet P, Netter P, Terlain B. Pefloxacin-Induced Achilles Tendon Toxicity in Rodents: Biochemical Changes in Proteoglycan Synthesis and Oxidative Damage to Collagen. *Antimicrob Agents Chem* 44: 867-872, 2000.
- 69-) Skutek M, van Griensven M, Zeichen J, Brauer N, Bosch U. Cyclic mechanical stretching of human patellar tendon fibroblasts: activation of JNK and modulation of apoptosis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 11: 122-9, 2003.
- 70-) Soldatis JJ, Goodfellow DB, Wilber JH. End-to-end operative repair of Achilles tendon rupture. *Am J Sports Med* 25: 90-5, 1997.
- 71-) Stahlmann R. Clinical toxicological aspects of FQ. *Toxicol Lett* 127:269–277, 2002.
- 72-) Stamenkovic I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol* 200: 448–464, 2003.
- 73-) Stone D, Green C, Rao U, Aizawa H, Yamaji T, Niyibizi C, Carlin G, Woo SL. Cytokine-induced tendinitis: a preliminary study in rabbits. *J Orthop Res* 17: 168-77, 1999.
- 74-) Sullo A, Maffulli N, Capasso G, Testa V. The effects of prolonged peritendinous

administration of PGE1 to the rat Achilles tendon: a possible animal model of chronic Achilles tendinopathy. *J Orthop Sci* 6: 349-57, 2001.

75-) Takahashi HK, Hiromi Iwagaki H, Xue D, Katsuno G, Sugita S, Mizuno K, Mori S, Saito S, Yoshino T, Tanaka N, Nishibori M. Effect of Ciprofloxacin-Induced Prostaglandin E2 on Interleukin-18-Treated Monocytes. *Antimicrob Agents Chem* 49: 3228-3233, 2005.

76-) Tillman LJ, Chasan NP. Properties of dense connective tissue and wound healing. In: Hertling D, Kessler RM, editors. *Management of common musculoskeletal disorders: physical therapy principles and methods*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott; 1996. S: 8-21.

77-) Tsuzaki M, Bynum D, Almekinders L, Yang X, Faber J, Banes AJ. ATP modulates load-inducible IL-1 β , COX 2, and MMP-3 gene expression in human tendon cells. *J Cell Biochem*. 89: 556-62, 2003.

78-) Tsuzaki M, Guyton G, Garrett W, Archambault JM, Herzog W, Almekinders L, Bynum D, Yang X, Banes AJ. IL-1 β induces COX2, MMP-1, -3 and -13, ADAMTS - 4, IL-1 β and IL-6 in human tendon cells. *J Orthop Res* 21: 256-64, 2003.

79-) Uhthoff HK, Sarkar K. Surgical repair of rotator cuff ruptures. The importance of the subacromial bursa. *J Bone Joint Surg Br* 73:399-401, 1991.

80-) Van der Linden PD, van Puijenbroek EP, Feenstra J. Tendon disorders attributed to fluoroquinolones: a study on 42 spontaneous reports in the period 1988 to 1998. *Arthritis Rheum* 45: 235-9, 2001.

81-) Vu TH, Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev* 14: 2123-33, 2000.

82-) Wang JHC. Mechanobiology of tendon. *J Biomech* Jul 4; [Epub ahead of print], 2005.

- 83-) Wang JH, Iosifidis MI, Fu FH. Biomechanical basis for tendinopathy. Clin Orthop Relat Res 443: 320-32, 2006.
- 84-) Wang JH, Jia F, Yang G, Yang S, Campbell BH, Stone D, Woo SL. Cyclic mechanical stretching of human tendon fibroblasts increases the production of prostaglandin E2 and levels of cyclooxygenase expression: a novel in vitro model study. Connect Tissue Res 44: 128-33, 2003.
- 85-) Wang MX, Wei A, Yuan J, Clippe A, Bernard A, Knoop B, Murrell GA. Antioxidant enzyme peroxiredoxin 5 is upregulated in degenerative human tendon. Biochem Biophys Res Commun 284: 667-73, 2001
- 86-) Williams RJ III, Attia E, Wickiewicz TL, Hannafin JoA. The effects of ciprofloxacin on tendon, paratenon and capsular fibroblast metabolism. Am J Sports Med 28:364–369, 2000.
- 87-) Williams JG. Achilles tendon lesions in sport. Sports Med 3: 114-35, 1986.
- 88-) Woo S.L., Debski R.E., Zeminski J., Abramowitch S.D., Saw S.S., Fenwick J.A.: Injury and repair of ligaments and tendons. Annu Rev Biomed Eng 2: 83-118, 2000.
- 89-) Yoshimura T, Kurita C, Usami E, Nakao T, Watanabe S, Kobayashi J. Immunomodulatory action of levofloxacin on cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells. Chemotherapy 42: 459–64, 1996.
- 90-) Yuan J, Wang MX, Murrell GA. Cell death and tendinopathy. Clin Sports Med 22: 693-701, 2003.
- 91-) Zabraniecki L, Negrier I, Vergne P. Fluoroquinolone induced tendinopathy: report of 6 cases. J Rheumatol 23: 516–20, 1996.

92-) Ziche M, Morbidelli L, Masini E, Amerini S, Granger HJ, Maggi CA, Geppetti P, Ledda F. Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P. J Clin Invest 94: 2036-44, 1994.

